

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Randomized Control Group Design*.

#### 3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

##### 3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan September - Desember 2022.

##### 3.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

#### 3.3 Subyek Penelitian

##### 3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tikus jantan galur *Wistar* dengan umur 2-4 bulan dan berat badan 200-300 gram.

##### 3.3.2 Sampel

Sampel penelitian ini dipilih secara acak tiap kelompok sebanyak 5 ekor, sesuai dengan rumus *Federer* didapatkan jumlah sampel ada 4 ekor. Untuk mengantisipasi adanya *drop out* maka jumlah sampel yang digunakan ditambahkan 10% sesuai ketentuan WHO sehingga jumlah sampel tiap kelompok adalah 5 ekor dan total sampel adalah 30 ekor.

##### 3.3.3 Teknik Sampling

Teknik sampling pada penelitian ini menggunakan teknik *simple random sampling*. Teknik ini mempunyai proses pengambilan sampel secara acak sederhana sehingga setiap sampel mendapatkan kesempatan menjadi sampel penelitian. Pada eksperimen ini, peneliti menggunakan sampel tikus jantan galur *Wistar*. Pemilihan tikus galur

*Wistar* dikarenakan tikus galur ini memiliki memiliki harga yang lebih terjangkau dibandingkan dengan galur *Sprague Dawley*.

### 3.3.4 Besaran Sampel

Pada penelitian ini pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan rumus *Federer* (1983), yaitu:

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$

Dengan; t: banyaknya kelompok perlakuan

r: jumlah replikasi

Sampel yang dibutuhkan di penelitian ini:

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(6-1) (r - 1) \geq 15$$

$$(5) (r - 1) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

Berdasarkan rumus *Federer* diatas, maka sampel yang digunakan setiap kelompok sebanyak minimal 4 tikus dan terdapat 6 kelompok sehingga penelitian ini menggunakan minimal 24 ekor tikus.

Dalam penelitian eksperimental dapat terjadi drop out pada hewan coba sebelum penelitian selesai dilakukan. Sehingga, diperlukan perhitungan kembali untuk menambahkan sampel cadangan  $(r-1) (t-1) \geq 15$ . Berdasarkan rumus sampel terkoreksi kemungkinan adanya sampel drop out sebanyak 10% (0,1), maka jumlah sampel yang direncanakan menurut:  $N = n/(1-f)$

#### **Keterangan:**

N = Besar sampel koreksi

n = Besar sampel awal

f = Perkiraan proporsi *drop out* 10%

Sehingga, perhitungannya menjadi:

$$N = n / (1-f)$$

$$N = 4 / (1-0,1)$$

$$N = 4 / 0,9$$

$$N = 4,4 \rightarrow 5$$

Jadi, sampel yang digunakan setiap kelompok sebanyak minimal 5 ekor. Oleh karena itu, dalam penelitian ini menggunakan minimal 30 ekor tikus yang terbagi dalam 6 kelompok.

### 3.3.5 Kriteria Inklusi

1. Tikus jantan galur *Wistar*
2. Berat badan 200-300 gram
3. Sehat (bergerak aktif, mata jernih, tidak cacat)
4. Berumur 2-4 bulan

### 3.3.6 Kriteria Eksklusi

1. Tikus terdapat kelainan atau cacat
2. Tikus yang sakit atau mati saat randomisasi, selama masa adaptasi atau sebelum dilakukan perlakuan dan selama proses penelitian berlangsung
3. Tikus tidak mengalami kenaikan gula darah setelah diinduksi aloksan
4. Serum lisis

## 3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

### 3.4.1 Variabel Terikat

Variabel dependent (terikat) penelitian ini adalah kadar SOD.

### 3.4.2 Variabel Bebas

Variabel independent (bebas) penelitian ini adalah ekstrak umbi bit.

### 3.4.3 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi operasional	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
1	Ekstrak umbi bit	Pemberian ekstrak umbi bit secara oral selama 14 hari sesuai dengan berat badan tikus dalam beberapa kelompok yaitu: a. Kelompok perlakuan I: 100 mg b. Kelompok perlakuan II: 200 mg c. Kelompok perlakuan III: 300 mg	Timbangan Tikus dan Mikropipet	Jumlah konsentrasi ekstrak umbi bit yang sesuai dengan berat badan tikus berdasarkan konversi dosis yang ada.	Nominal
2	Kadar SOD serum	<i>Superoxide dismutase</i> merupakan antioksidan endogen yang berasal dari dalam tubuh berfungsi untuk melindungi sel-sel tubuh dari radikal bebas. Pengukuran kadar SOD menggunakan metode ELISA.	ELISA	Kadar SOD normal: 165 - 240 units/ml. <sup>42</sup>	Rasio

## 3.5 Instrumen Penelitian

### 3.5.1 Alat

1. Tabung hematokrit
2. Yellow tip
3. Mikropipet
4. Blue tip
5. Eppendorf
6. Sonde
7. *Glucose easy touch*
8. Stick glukosa
9. Kertas saring
10. *Rotatory evaporator*
11. Pipet

12. Gunting
13. Penjepit
14. Tabung reaksi
15. Inkubator
16. ELISA kit

### 3.5.2 Bahan

1. Umbi bit
2. Tikus Putih *Wistar* jantan
3. Pelarut etanol 96%
4. Aloksan
5. Glibenklamid
6. Pakan tikus
7. Reagen SOD kit
8. Akuades

## 3.6 Prosedur Pengambilan Data

### 3.6.1 Pembuatan ekstrak umbi bit

Pembuatan ekstrak umbi bit dilakukan dengan metode remaserasi, kemudian di maserasi dengan etanol 96% selama 7 hari dalam suhu ruang. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring dan filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai tidak didapatkan tetesan pelarut dan menghasilkan ekstrak kental umbi bit.

### 3.6.2 Induksi aloksan

Penelitian ini menggunakan hewan coba sebagai model diabetes melitus dengan cara melakukan induksi aloksan monohidrat dengan diinjeksi intraperitoneal yang menyebabkan kondisi hiperglikemia pada tikus. Dosis aloksan adalah 90 mg/kgBB. Aloksan diberikan satu kali kemudian setelah 3 hari dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah.

### 3.6.3 Perlakuan pada tikus

Tikus diaklimatisasi selama 7 hari dan diberi pakan *standard*. Kemudian pada hari ke 8, mencit dipuasakan selama 60 menit sebelum penelitian dan dibagi dalam 6 kelompok yaitu:

- a. Kelompok I (*Baseline*): Diberi pakan diet normal dan aquades
- b. Kelompok II (Kontrol Negatif): Induksi aloksan
- c. Kelompok III (Kontrol Positif): Induksi aloksan + glibenklamid 0,18 mg/kgBB/hari
- d. Kelompok IV (Perlakuan I): Induksi aloksan + ekstrak umbi bit 100 mg/kgBB/hari
- e. Kelompok V (Perlakuan II): Induksi aloksan + ekstrak umbi bit 200 mg/kgBB/hari
- f. Kelompok VI (Perlakuan III): Induksi aloksan + ekstrak umbi bit 300 mg/kgBB/hari

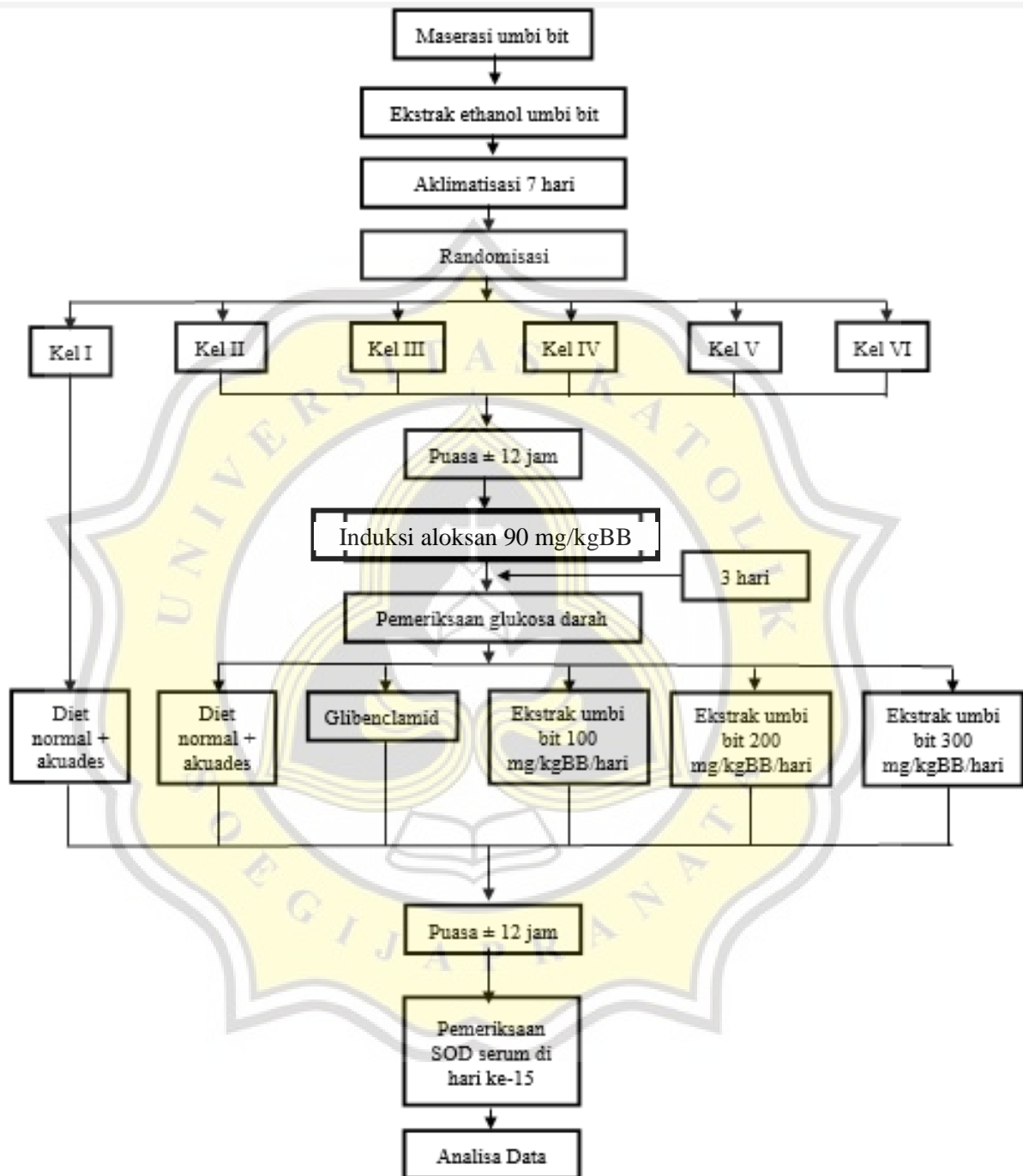
### 3.6.4 Pengukuran kadar glukosa darah

Pengukuran kadar glukosa darah menggunakan spesimen *whole blood*. Pengukuran menggunakan POCT. Hasil dinyatakan dalam satuan mg/dl.

### 3.6.5 Pengukuran kadar SOD serum

Pengukuran kadar SOD menggunakan ELISA kit. Hasilnya dibaca dengan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450nm kemudian diukur menggunakan kurva standard dan dinyatakan dalam satuan U/g.

### 3.7 Alur Penelitian



### 3.8 Pengolahan dan Analisis Data

Data dari parameter yang diamati dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas dan homogenitas yang akan digunakan adalah uji *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah sampel yang ada adalah 30. Jika hasil didapatkan distribusi normal dan homogen maka untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan uji statistik parametrik yaitu uji One Way ANOVA. Namun jika data menunjukkan distribusi tidak normal dan homogen maka analisis dilanjutkan dengan uji nonparametrik yaitu Uji Kruskal Wallis.

