

BAB III

METODELOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sari buah Plum Jepang (*Prunus salicina*) terhadap kenaikan kadar kolesterol pada mencit. Penelitian ini bersifat eksperimental.

Pada penelitian ini dibedakan menjadi 3 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol normal, perlakuan 1 (asupan tinggi kolesterol), perlakuan 2 (asupan tinggi kolesterol ditambah sari buah Plum Jepang). Hewan uji diadaptasi selama 1 minggu sebelum dilakukan uji.

Rancangan penelitian meliputi tiga tahap kerja. Pertama adalah tahap persiapan atau perencanaan meliputi penyiapan alat dan bahan, pemilihan metode pemberian bahan alam pada hewan uji, perancangan prosedur, perancangan kebutuhan alat dan bahan. Kemudian yang kedua yaitu tahap pelaksanaan meliputi pelaksanaan pemberian pakan tinggi kolesterol dan pemberian sari buah serta dilakukan pengujian pengaruh terhadap kadar kolesterol mencit. Ketiga adalah tahap pengumpulan data yaitu menganalisis data penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian sari buah terhadap kenaikan kadar kolesterol total pada mencit.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah buah Plum Jepang. Kemudian sampel dalam penelitian ini adalah sari buah Plum Jepang.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Farmakognosi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Untuk jadwal pelaksanaan penelitian dari bulan Januari sampai dengan Juni.

3.4 Definisi Oprasional Variabel

Variabel dalam penelitian terdiri atas variable bebas dan terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian sari buah Plum Jepang. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar kolesterol darah pada mencit.

Tabel 3.1 Definisi Oprasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Alat ukur	Hasil ukur	Skala ukur
Variabel bebas : Sari buah Plum Jepang	Sari buah yang didapat dari proses penghancuran tanpa tambahan bahan apapun	Visual	Bentuk sari cair berwarna merah	Visual
Variabel terikat: Kadar kolesterol darah	Jumlah kolesterol total dalam darah	Alat ukur kolesterol	Nilai kolesterol total Normal (26,0 – 82,4 mg/dl) (Kusumawati, 2004)	Ordinal

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

Dalam pengumpulan data yang harus dilakukan meliputi penyiapan alat dan bahan. Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi pemeliharaan hewan uji antara lain kandang mencit, skat kawat, kawul, tempat air minum mencit, wadah pakan mencit, sonde dan spuit 1 cc. Perlakuan sari Plum Jepang yaitu *juicer*, pisau, timbangan, dan wadah sari. Pengambilan darah dan pengukuran kadar kolesterol yaitu alkohol, betadin, kapas, GCU *easy touch*, strip kolesterol

easy touch dan gunting. Pembuktian antosianin yaitu alat gelas, *juicer*, kawat kassa, dan spiritus.

Kemudian bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini meliputi pakan mencit berupa, dedak dan pur serta minum air kran. Bahan perlakuan yaitu kuning telur puyuh mentah yang dipisahkan dari putih telornya sebagai diet tinggi kolesterol dan sari buah Plum Jepang sebagai penurun kadar kolesterol. Bahan uji menggunakan darah mencit. Bahan pembuktian antosianin yaitu sari buah Plum Jepang NaOH 2M, dan perasan jeruk lemon.

3.6 Prosedur Kerja

Prosedur kerja penelitian ini dibagi menjadi beberapa bagian antara lain:

3.6.1 Uji Antosianin secara kualitatif

Adapun prosedur pembuktian antosianin secara kualitatif adalah sebagai berikut:

Cara Pertama:

1. Sampel ditambahkan jeruk lemon (10 mL)
2. Diamati perubahan warna (tetap berwarna merah)

Cara Kedua:

1. Sampel ditambahkan NaOH 2M (tetes demi tetes)
2. Diamati perubahan warna (warna merah berubah menjadi hijau biru dan memudar perlahan-lahan) (Lestario, dkk., 2011).

3.6.2 Persiapan Hewan Percobaan

Hewan percobaan menggunakan 15 ekor mencit putih (*Mus musculus*) jantan kemudian dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan. Mencit dipelihara di bak plastik yang diberi alas kawul dan dilengkapi tempat air minum. Mencit yang

digunakan berumur 2-3 bulan dengan berat 20–40 gram yang diperoleh dari peternak mencit di Surabaya dan diadaptasi selama 1 minggu. Selama masa adaptasi berat badan ditimbang dan prilakunya diperhatikan. Mencit dianggap sehat apabila memperlihatkan perilaku normal.

Pembagian mencit menjadi 3 kelompok perlakuan antara lain kontrol normal, pemberian asupan tinggi kolesterol, pemberian asupan tinggi kolesterol ditambah pemberian sari buah Plum Jepang. Masing- masing kelompok perlakuan terdiri 5 ekor mencit.

3.6.3 Pemberian Diet Tinggi Lemak

Pembuatan asupan tinggi kolesterol menggunakan kuning telur puyuh yang dilarutkan dengan aquadest ad 50 mL. Sebelum diberi diet tinggi kolesterol, masing – masing mencit ditimbang berat badannya dan diukur kadar kolesterol. Pemberian pakan diet tinggi kolesterol ini dilakukan selama 14 hari kepada kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2 diberikan 1 mL per oral.

3.6.4 Perhitungan Takaran Pemberian

Takaran buah plum yang diberikan minimal 100 g per hari, tetapi peneliti menggunakan takaran 200 g per hari. Didalam 200 g buah terdapat sari buah sebanyak 100 mL Jumlah tersebut dikonversikan dari 70 kg BB manusia untuk mencit dengan berat badan 20 g, maka takaran yang diberikan:

$$\text{BB } 20 \text{ g} = 0,0026 \times 100 \text{ mL} = 0,26 \text{ mL} \sim 0,3 \text{ mL}$$

3.6.5 Prosedur Penyiapan dan Pemberian Sari Buah Plum Jepang

Penyiapan sari buah Plum Jepang sebagai berikut:

1. Diambil buah plum, kemudian dicuci
2. Dihilangkan biji dari buah kemudian buah dipotong

3. Potongan buah di jus menggunakan *juicer* sehingga diperoleh sari buah berbentuk cair
4. Sari hasil *juicer* disaring (agar mendapatkan hasil yang cair tanpa ada serat)
5. Diberikan sari buah plum pada mencit sekali sehari dengan takaran 0,3 mL

3.6.6 Prosedur Pengukuran Kadar Kolesterol

Prosedur pengukuran kadar kolesterol pada mencit sebagai berikut:

1. Disiapkan alat dan bahan
2. Diambil mencit yang ingin diperiksa kadar kolesterolnya (Dipuasakan selama 12 jam)
3. Digosok ekor mencit dengan alkohol 70%
4. Diambil sampel darah mencit dengan cara memotong ekor tikus menggunakan gunting tajam yang disterilkan menggunakan alkohol 70%
5. Ditetaskan sampel darah pada chip strip cek kolesterol sampai merata pada chip, tunggu hingga 150 detik.
6. Ekor mencit dicelupkan alkohol kemudian beri betadin
7. Dibaca dan dicatat hasil kadar kolesterol yang sudah terdeteksi alat *easy touch*
8. Hasil dicatat kemudian dimasukkan dalam data

3.7 Analisis Data

Data awal adalah data selisih kenaikan hari ke 14 dengan hari ke 7 yang diperoleh dari pengumpulan saat pengukuran kadar kolesterol total pada mencit. Pengujian data dilakukan menggunakan metode uji beda rata-rata yaitu uji *Oneway Anova* (untuk lebih dari 2 perlakuan). Sebelum dilakukan pengujian tersebut, harus ada asumsi yang mendasari yaitu normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk*, dan uji homogenitas ragam antar kelompok

dengan *Levene's test*. Jika data yang digunakan tidak homogen, maka dilakukan pengujian pengganti, yaitu uji *kruskal wallis* dengan kepercayaan 95%.