

BAB III

MATERI DAN METODA

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian tentang pengaruh pemberian perasan bawang putih (*Allium sativum*) terhadap kadar kolesterol dan trigliserida serum darah tikus putih dengan diet tinggi lemak ini, dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya. Penelitian ini dilakukan selama sembilan minggu, dari tanggal 29 Nopember 1993 sampai 31 Januari 1994.

3.2. Materi Penelitian

HP √ Dalam penelitian ini digunakan 28 ekor tikus putih HP (*Rattus norvegicus*), betina, strain wistar umur 3-4 bulan dengan berat badan 200 g, yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Makanan yang diberikan adalah makanan standart yang berupa makanan ayam 511 selama masa adaptasi dan makanan tinggi lemak selama masa penelitian, sedangkan air, minum yang diberikan berasal dari PDAM Surabaya. Kandang yang digunakan berupa bak plastik berukuran 45 X 35 X 15 cm,

dengan lantai yang diberi alas skam padi dan bagian atas ditutup dengan anyaman kawat.

alat
Dalam penelitian ini alat-alat yang digunakan antara lain: Blender, erlenmeyer 250 cc, gelas ukur, pipet 1 cc dan 10 cc, rak dan tabung reaksi, pipet mikro 0.01 cc dan 1.00 cc, timbangan, kain dan kertas saring, spuit disposibel 3 cc dengan jarum pungsi lumbal 18 G yang dimodifikasi, sentrifuge, photometer Clinikon 4010 (dengan filter 546 nm) dan kotak kaca. Bahan-bahan yang dipakai adalah: bawang putih, tikus putih, reagen kolesterol dan trigliserida dari Boehringer Mannheim, eter anestetik, kapas, dan aquadest.

R
Cara pembuatan perasan bawang putih (*Allium sativum*) adalah sebagai berikut: Bawang putih segar dikupas kulitnya sampai bersih dan ditimbang sebanyak 150 g. Kemudian dimasukkan ke dalam blender, ditambah aquadest 150 ml, lalu diblender sampai terbentuk jus. Jus yang didapat disaring dengan kain, kemudian dilanjutkan dengan kertas saring, hingga diperoleh 252 ml filtrat dan 24 g sisa (ampas). Hasil saringan (filtrat) yang diperoleh kemudian diencerkan dengan aquadest sesuai dengan konsentrasi dosis yang diinginkan, dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\begin{aligned} - 252 \text{ ml filtrat} &= (150-24) \text{ g}/252 \text{ ml} \\ &= 250 \text{ mg}/0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Volume masing-masing dosis yang dibutuhkan selama perlakuan adalah 60 ml.

Dengan menggunakan rumus: $V_1 \times M_2 = V_2 \times M_1$.

dimana: V_1 : volume mula-mula

V_2 : volume akhir

M_1 : konsentrasi mula-mula

M_2 : konsentrasi akhir

maka pengencerannya adalah sebagai berikut:

- untuk dosis 125 mg/0,5 ml = 30 ml filtrat + aquadest
ad 60 ml.
- untuk dosis 187,5 mg/0,5ml = 45 ml filtrat + aquadest
ad 60 ml.
- untuk dosis 250 mg/0,5 ml = 60 ml filtrat + aquadest
0 ml.

3.3. Metoda Penelitian

Sebelum dilakukan penelitian, 28 ekor tikus putih yang digunakan sebagai hewan percobaan, diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu. Selama masa adaptasi ini diberikan makanan standart dan minuman secara *ad libitum* serta dilakukan pemeriksaan kesehatan.

Setelah masa adaptasi, kepada semua tikus putih tersebut diberikan diet tinggi lemak. Setelah enam minggu masa pemberian diet tinggi lemak, kemudian dilakukan

pengambilan sampel darah, untuk diadakan pemeriksaan awal terhadap kadar kolesterol dan trigliserida. Selanjutnya 28 ekor tikus putih tersebut dibagi menjadi empat kelompok secara acak dengan menggunakan tabel bilangan acak. Masing-masing kelompok yang terdiri atas 7 ekor tikus putih dimasukkan kedalam kandang bak plastik dan diberi kode P0, P1, P2, dan P3. P0 adalah kelompok kontrol, yang diberi aquadest 0,5 ml/200 g BB/hari, P1 adalah kelompok tikus yang diberikan perasan bawang putih dengan dosis 125 mg/200 g BB/hari, P2 adalah kelompok tikus yang diberikan perasan bawang putih dengan dosis 187,5 mg/200 g BB/hari dan P3 adalah kelompok tikus yang diberikan perasan bawang putih dengan dosis 250 mg/200 g BB/hari.

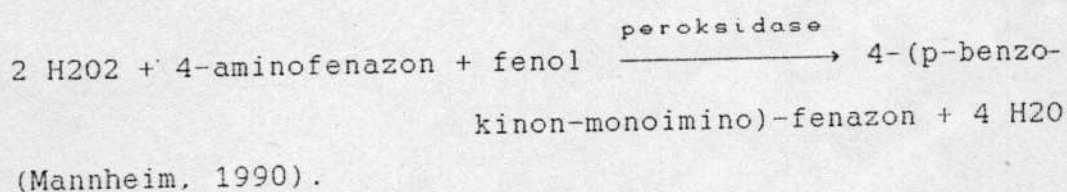
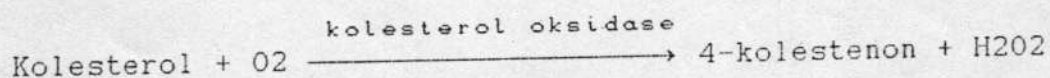
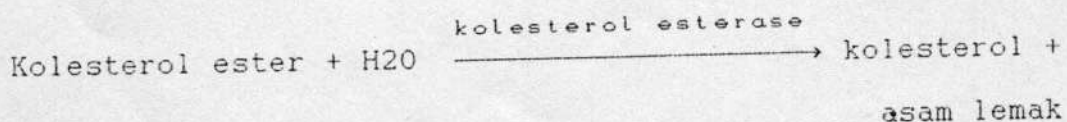
Pemberian perasan bawang putih, dilakukan selama dua minggu, menggunakan spuit disposibel 3 ml dengan jarum pungsi lumbal ukuran 18 G yang telah dimodifikasi, langsung ke lambung (melalui mulut) sebanyak 0,5 ml/ekor/hari. Selama perlakuan ini semua kelompok tikus putih masih tetap diberikan diet tinggi lemak secara *ad libitum*. Setelah perlakuan berakhir, dilakukan pengambilan sampel darah untuk diadakan pemeriksaan akhir terhadap kadar kolesterol dan trigliserida.

Pengambilan sampel darah dilakukan melalui ekor dengan langkah-langkah sebagai berikut: Sebelumnya tikus

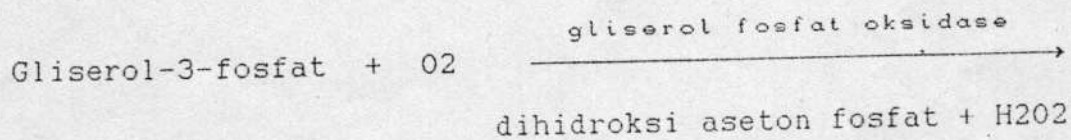
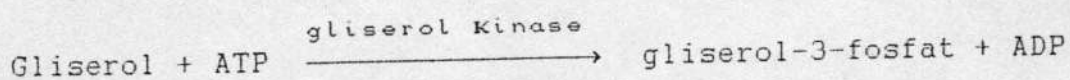
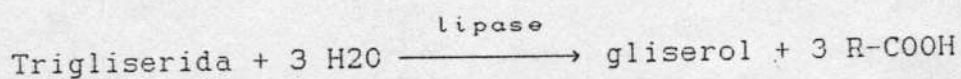
dipuaskan selama 12 jam. Dalam hal ini tikus-tikus tersebut hanya diberi air minum saja secara *ad libitum*. Kemudian tikus putih tersebut dimasukkan kedalam kotak kaca berisi kapas yang telah dibasahi dengan eter anestetik sampai pingsan. Setelah pingsan, tikus tersebut dikeluarkan dan dipotong ekornya. Darah yang keluar ditampung dalam tabung reaksi hingga \pm 1,5 ml. Sampel darah yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam tabung sentrifus untuk disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm, guna mendapatkan serumnya.

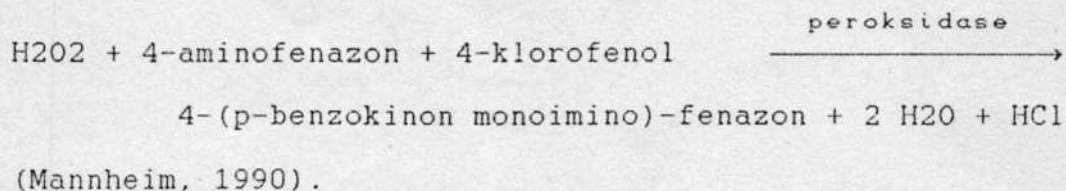
Pemeriksaan kadar kolesterol serum darah dilakukan sebagai berikut: Dibuat Blangko Reagen (BR) yang berupa larutan reagen kolesterol dari Boehringer Mannheim sebanyak 1 ml. Kemudian membuat larutan tes dengan memasukkan 0,01 ml serum darah kedalam tabung reaksi dan ditambah reagen kolesterol dari Boehringer Mannheim sebanyak 1 ml. Dicampurkan dengan baik dan diinkubasi selama lima menit pada suhu 37 derajat celsius. Kemudian dilakukan pembacaan kadar kolesterol serum darah. Dalam penelitian ini, pembacaan dilakukan dengan menggunakan photometer Clinicon 4010 (dengan filter 546 nm). Blanko Reagen yang telah dibuat dimasukkan ke dalam photometer melalui kuvet untuk menunjukkan angka nol. Kemudian Blangko Reagen dikeluarkan dan diganti dengan larutan tes untuk mendapatkan kadar kolesterolnya. Untuk setiap seri

untuk mendapatkan kadar kolesterolnya. Untuk setiap seri pemeriksaan hanya dibutuhkan satu Blangko Reagen saja. Prinsip pemeriksaan kadar kolesterol adalah:



Pemeriksaan kadar trigliserida dilakukan dengan cara seperti pada pemeriksaan kolesterol dengan menggunakan reagen trigliserida dari Boehringer Mannheim. Prinsip pemeriksaan kadar trigliserida adalah:





3.4. Peubah yang Diamati

Dalam penelitian ini peubah yang diamati atau diukur adalah kadar kolesterol dan trigliserida serum darah tikus putih dengan diet tinggi lemak. Pengukurannya dilakukan dua kali, yaitu pada pemeriksaan awal, setelah tikus putih diberi diet tinggi lemak selama enam minggu dan pada pemeriksaan akhir, setelah tikus putih diberi perlakuan pemberian perasan bawang putih selama dua minggu.

3.5. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) (Kusriningrum, 1989).

3.6. Analisis Hasil

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan analisis sidik ragam dan bila terdapat perbedaan yang nyata, dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%).