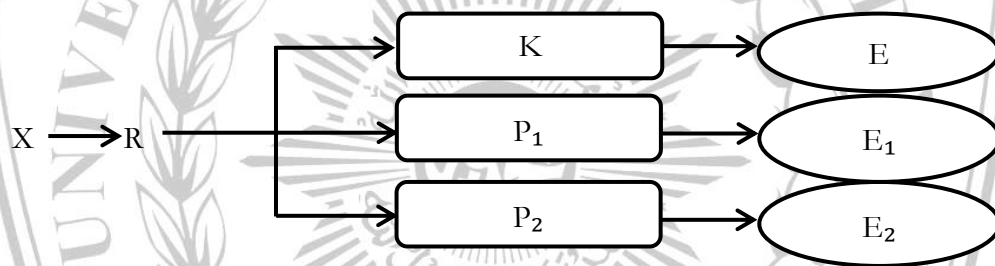


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental (*True Experiment Research*) dengan menggunakan rancangan *pre-post test control group design* yang menggunakan tikus putih jantan jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) sebagai objek penelitian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan efektifitas ekstrak daun seledri (*Apium Graveolens L.*) dan ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill*) terhadap perubahan tekanan darah pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) dengan hipertensi. Bentuk rancangan penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian: *Pre-Post Test Control Group Design*

Keterangan :

X : Masa Adaptasi

R : Randomisasi

K : Kelompok kontrol sebagai pembandingan perubahan tekanan darah

P₁ : Kelompok percobaan 1 menggunakan tikus putih jantan dengan hipertensi

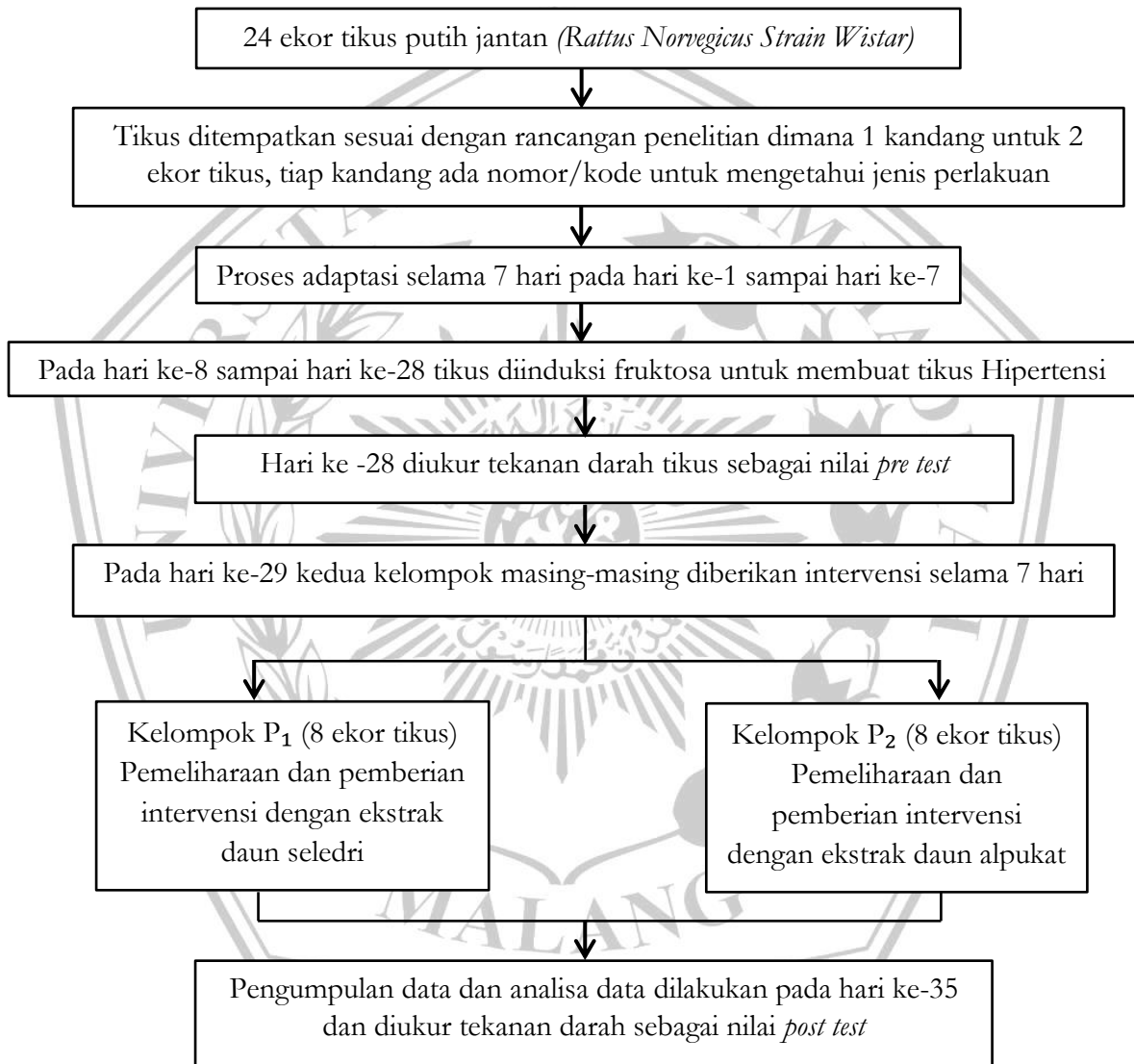
P₂ : Kelompok percobaan 2 menggunakan tikus putih jantan dengan hipertensi

E : Kelompok kontrol yang menggunakan tikus putih jantan dengan hipertensi tanpa pemberian ekstrak daun seledri dan ekstrak daun alpukat

E₁ : Kelompok percobaan 1 dengan pemberian ekstrak daun seledri 2 ml per hari melalui oral

E₂ : Kelompok percobaan 2 dengan pemberian ekstrak daun alpukat 2 ml per hari melalui oral

4.2 Skema Penelitian



Gambar 4.2 Skema penelitian: Perbedaan efektifitas ekstrak daun seledri (*Apium Graveolens L.*) dan ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill*) terhadap perubahan tekanan darah pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) dengan hipertensi.

4.3 Populasi, Sampel dan Sampling

4.3.1 Populasi

Menurut Sugiyono (2011:215) populasi dalam penelitian adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas obyek/subjek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya. Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) karena mempunyai kriteria (organ) yang sama dengan manusia dan mempunyai kemiripan DNA dengan manusia (Alexandru, 2011:65).

4.3.2 Sampel

Sampel adalah sebagian dari populasi itu (Sugiyono, 2011:215). Sedangkan definisi sampel menurut Nursalam (2014: 171) adalah beberapa orang yang terdiri pada populasi yang terjangkau dan digunakan sebagai subjek dalam penelitian melalui sampling. Penelitian ini menggunakan sampel tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

A. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi adalah karakteristik umum subyek penelitian dari suatu populasi target yang terjangkau dan akan diteliti (Nursalam, 2008:92). Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah:

- a) Jantan (perilaku agresif relative lebih terlambat karena tidak mengalami menstruasi yang berpengaruh pada kecepatan masa adaptasi).
- b) Berat badan 100-200 gram.
- c) Berumur 2-3 bulan (usia dewasa dan sistem metabolisme tubuh sudah sempurna).

d) Sehat (gerakan aktif, mata jernih, bulu tebal dan berwarna putih).

B. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi adalah menghilangkan/mengeluarkan subjek yang memenuhi kriteria inklusi dari studi karena berbagai sebab (Nursalam, 2008:92). Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah:

- a) Tikus putih jantan yang mengalami kematian disaat proses penelitian berlangsung.
- b) Pergerakan tikus yang terlalu aktif sehingga beresiko mencederai tikus lainnya.

4.3.3 Besar Sampel

Pada penelitian ini terdapat 3 kelompok perlakuan yaitu satu kelompok kontrol (tikus putih jantan dengan hipertensi tanpa pemberian ekstrak daun seledri dan daun alpukat), dua kelompok eksperimen menggunakan tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) dengan hipertensi satu kelompok diberikan ekstrak daun seledri (*Apium Graveolens L.*) dan satu kelompok diberikan ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill*). Menurut Gay jumlah sampel untuk penelitian eksperimen minimal 15 sampel (Sani, 2016: 52-53). Besar sampel dalam setiap kelompok penelitian ini menggunakan rumus seperti dibawah ini:

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

$$(3-1)(r-1) \geq 15$$

$$2(r-1) \geq 15$$

$$2r-2 \geq 15$$

$$2r \geq 17$$

$$r \geq 17 : 2$$

$$r \geq 8,5$$

Keterangan :

t : Banyak kelompok perlakuan

r : Jumlah replikasi

Dari rumus tersebut diperoleh jumlah untuk masing-masing kelompok sebanyak 8 ekor tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) dalam kelompok kontrol dan dua kelompok perlakuan. Jadi jumlah sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah sebesar 24 ekor tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*).

4.3.4 Sampling

Sampling adalah proses menyeleksi porsi dari populasi untuk dapat mewakili populasi. Teknik sampling merupakan cara yang digunakan agar memiliki sampel yang sesuai dengan keseluruhan subjek penelitian (Nursalam, 2014: 173). Teknik sampling yang digunakan untuk penelitian ini adalah teknik *Random Sampling*. Pengambilan sampel dilakukan secara random pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) yang secara genetik memiliki sifat yang sama (homogen). Pengelompokan sampel dilakukan secara acak, setiap tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) diberikan label berupa nomer 1-24 dan dilakukan pengundian pada kotak yang telah berisi gulungan kertas bertuliskan nomer label yang telah diacak sebelumnya kemudian ditempelkan pada kandang yang berisikan 1 ekor tikus.

Tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) sebanyak 24 ekor sebelum dan sesudah penelitian dilakukan penimbangan berat badan pada hari pertama serta diadaptasi selama 7 hari dengan pemberian makan dan minum secara teratur. Tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) yang sudah diadaptasi dibagi menjadi 3 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri

dari 8 ekor tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*). Gambaran penelitian eksperimen pada rancangan ini adalah untuk menempatkan hewan coba pada area penelitian, hewan coba diletakkan secara acak seperti berikut ini :

1	2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23	24

Sebelum diacak



Setelah diacak

K	8	5	17	23	15	10	24	7
P ₁	11	14	4	16	13	18	19	1
P ₂	12	3	22	21	20	6	2	9

Gambar 4.3 Teknik Sampling (random sampling)

Keterangan :

1,2,3,4,5....24 : Replikasi/ Pengulangan

P₁ dan P₂ : Perlakuan

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Independen

Menurut Sugiyono (2014: 39) variabel independen atau variabel eksogen sering disebut sebagai variabel stimulus, predictor, dan *antecedent* yang

mempengaruhi atau menjadi penyebab timbulnya variabel terikat. Ada beberapa buku yang menyebutnya variabel bebas. Dalam penelitian ini, variabel bebasnya adalah ekstrak daun seledri (*Apium Graveolens L.*), ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill*) dan fruktosa 10%.

4.4.2 Variabel Dependen

Variabel dependen biasanya disebut variabel output, kriteria, konsekuen, dalam bahasa Indonesia terikat. Variabel terikat yang dipengaruhi atau menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Sugiyono, 2014: 39). Dalam penelitian ini variabel dependennya adalah perubahan tekanan darah pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) dengan hipertensi.

4.4.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang mengendalikan atau dibuat agar tidak ada faktor dari luar yang mempengaruhi variabel independen dan dependen atau dapat membatasi penelitian (Sugiyono, 2014 : 39). Dalam penelitian ini yang menjadi variabel kendali adalah:

Jenis tikus	: Tikus putih (<i>Rattus Norvegicus Strain Wistar</i>)
Jenis kelamin	: Jantan
Umur	: 2-3 bulan
Berat badan	: 100-200 gram
Tekanan darah	: Adanya perubahan tekanan darah
Ukuran kandang	: 23 cm x 17 cm untuk dua tikus
Alas	: Scam Kayu
Pakan tikus	: BR1
Minum	: Air putih matang atau Aquades

4.5 Definisi Operasional

Menurut Hidayat (2007:79) definisi operasional adalah mendefinisikan variabel secara operasional berdasarkan karakteristik yang diamati, sehingga memungkinkan peneliti untuk melakukan observasi atau pengukuran secara cermat terhadap suatu objek atau fenomena. Definisi operasional ditentukan berdasarkan parameter yang dijadikan ukuran dalam penelitian. Definisi operasional dari penelitian ini adalah:

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Parameter	Hasil Ukur
1	Tekanan darah	Kekuatan atau jumlah darah yang menekan dinding arteri saat jantung memompa.	Tekanan sistolik atau tekanan darah saat jantung memompa dan tekanan diastolik atau tekanan darah saat jantung beristirahat.	Sistolik : <120 Diastolik : <80
2	Ekstrak daun seledri (<i>Apium Graveolens L.</i>)	Sedian sari pekat daun seledri (<i>Apium Graveolens L.</i>) yang telah dikeringkan kemudian diproses dengan suatu cairan pengekstraksi pada	Sedian cair dari ekstrak daun seledri (<i>Apium Graveolens L.</i>) yang diekstraksi etanol 70%.	Pemberian ekstrak daun seledri (<i>Apium Graveolens L.</i>) 2 ml/200 g BB per hari selama 7 hari

		kelompok P ₁ (Ekstrak Daun Seledri).		diberikan secara oral pada tikus hipertensi.
3	Ekstrak daun alpukat (<i>Persea Americana Mill</i>)	Sedian sari pekat daun alpukat (<i>Persea Americana Mill</i>) yang telah dikeringkan kemudian diproses dengan suatu cairan pengekstraksi pada kelompok P ₂ (Ekstrak daun alpukat).	Sedian cair dari ekstrak daun alpukat (<i>Persea Americana Mill</i>) yang diekstraksi etanol 70%.	Pemberian ekstrak daun alpukat (<i>Persea Americana Mill</i>) 2 ml/200 g BB per hari selama 7 hari diberikan secara oral pada tikus hipertensi.
4	Fruktosa	Senyawa penting yang diperlukan tubuh dan dikenal sebagai gula alami.	Fruktosa sebanyak 10% diinduksi ke tikus putih jantan (<i>Rattus Norvegicus Strain Wistar</i>).	Fruktosa sebanyak 10% diberikan 1 ml per hari selama 3 minggu secara oral ke tikus putih jantan di 3 kelompok.

5	Tikus putih jantan jantan (<i>Rattus Norvegicus Strain Wistar</i>)	Hewan percobaan sebanyak 24 ekor yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu satu kelompok kontrol dan dua kelompok perlakuan dengan setiap kelompok berjumlah 8 ekor tikus.	Tikus wistar jantan, usia 2-3 bulan, berat 100-200 gram dan sehat.	Tikus wistar jantan, usia 2-3 bulan, berat 100-200 gram dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kontrol dan dua kelompok perlakuan.
6	Penelitian atau pengamatan tekanan darah	Pengamatan dilakukan dengan cara melihat secara langsung perubahan tekanan darah pada tiap kelompok. Penelitian ini dilakukan dari pembuatan tikus putih jantan hipertensi sampai tekanan darah tikus normal kembali.	Pengamatan perubahan tekanan darah dicatat dalam lembar observasi. Tekanan sistolik dan diastolik yang diamati dalam penelitian ini.	Mengukur TD dengan blood pressure analyzer. Kadar tekanan darah normal tikus 100/80 mmHg.

4.6 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran dan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang

4.7 Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan sekitar bulan September 2016 sampai Mei 2017.

4.8 Bahan dan Instrument Penelitian

4.8.1 Pemeliharaan Tikus

Tikus dipelihara selama 35 hari dengan masa adaptasi 7 hari dan 28 hari masa penelitian tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) yang dipelihara didalam kandang berukuran 23 cm x 17 cm setiap kandang digunakan untuk dua ekor tikus saja. Kandang tikus dilengkapi dengan kawat penutup, sekam kayu, air minum dan pakan tikus. Sekam kayu diganti setiap hari sekali agar tetap kering dan lembab. Semua tikus pada kelompok kontrol dan kedua kelompok percobaan (ekstrak daun seledri) dan (ekstrak daun alpukat) mendapatkan perlakuan yang sama dengan pemberian makan dan minum sesuai kebutuhan harian tikus dewasa. Hewan coba tetap dibiarkan hidup dalam keadaan sehat setelah dilakukannya penelitian. Alat dan bahan yang digunakan dalam pemeliharaan tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) diantaranya:

- | | | |
|----|-------------------------------------|------------|
| A. | Kandang tikus plastic 23 cm x 17 cm | : 12 buah |
| B. | Penutup kandang | : 12 buah |
| C. | Pembatas kandang | : 12 buah |
| D. | Sekam kayu | : 10 pack |
| E. | <i>Pet drinking bottle</i> 100 ml | : 24 buah |
| F. | Air minuman | : 24 liter |
| G. | Pakan tikus (BR1) | : 12 kg |

H. Batu (penyangga penutup tikus) : 24 buah

4.8.2 Pembuatan Tikus Hipertensi

Tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) di induksi larutan fruktosa 10% sebagai penginduksi hipertensi. Di induksi fruktosa 10% atau 1 ml per hari dalam 3 minggu sudah secara signifikan membuat tikus putih hipertensi. Dosis tersebut sesuai dengan sumber yang sudah didapatkan pada penelitian (Dianat, et al. 2015).

4.8.3 Ekstraksi Daun Seledri (*Apium Graveolens L.*)

A. Alat dan Bahan

- a) Daun seledri : 125 gram
- b) Ethanol 70% : 2-3 liter
- c) Kasa steril : 1 pack
- d) Toples tertutup : 1 pack
- e) Corong gelas : 1 pack
- f) Timbangan analitik : 1 pack
- g) Gelas ukur : 1 pack
- h) Botol : 1 pack
- i) Alkoholmeter : 1 pack
- j) Erlenmeyer : 1 pack
- k) Alat penumbuk : 1 pack
- l) *Rotary evaporator* : 1 pack
- m) *Beaker glas* : 1 pack
- n) *Shaker digital* : 1 pack
- o) *Water bath* : 1 pack

- p) Dosis per hari : 2 ml per hari diberikan secara oral sampai 7 hari pada kelompok perlakuan pertama

4.8.4 Ekstraksi Daun Alpukat (*Persea Americana Mill*)

A. Alat dan Bahan

- a) Daun alpukat : 125 gram
- b) Ethanol 70% : 2-3 liter
- c) Kasa steril : 1 pack
- d) Toples tertutup : 1 pack
- e) Corong gelas : 1 pack
- f) Timbangan analitik : 1 pack
- g) Gelas ukur : 1 pack
- h) Botol : 1 pack
- i) Alkoholmeter : 1 pack
- j) Erlenmeyer : 1 pack
- k) Alat penumbuk : 1 pack
- l) *Rotary evaporator* : 1 pack
- m) *Beaker glas* : 1 pack
- n) *Shaker digital* : 1 pack
- o) *Water bath* : 1 pack
- q) Dosis per hari : 2 ml per hari diberikan secara oral sampai 7 hari pada kelompok perlakuan kedua

4.8.5 Observasi Perubahan Tekanan Darah

Lembar observasi perubahan tekanan darah dibuat untuk mempermudah peneliti dalam mengetahui proses perubahan tekanan darah dengan beberapa indikator yaitu penurunan darah pada tikus yang mengalami hipertensi dengan

menggunakan alat ukur *sphygmomanometer* (BP Recorder series 5800). Serta mengamati perbedaan perubahan tekanan darah pada percobaan 1 (ekstrak daun seledri) dan percobaan 2 (ekstrak daun alpukat). Lembar observasi perubahan tekanan darah pada tikus dapat dilihat pada lampiran 12 dan 13. Alat dan bahan yang digunakan dalam observasi perubahan tekanan darah antara lain:

- A. Kamera : 1 buah
- B. Alat ukur tekanan darah : 1 buah (BP Recorder series 5800)
- C. Handscoon : 1 pcs
- D. Lembar observasi : 2 buah (*Pre-Post Test*)

4.9 Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan berumur 2-3 bulan, berat badan 100-200 gram. Tikus dipilih berdasarkan kriteria inklusi yang telah memenuhi syarat, tikus diperoleh dari peternak tikus di kota Malang dan dipelihara di Laboratorium Biomedik Fakultas Ilmu Kedokteran dan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang dengan persyaratan sesuai dengan penelitian. Dalam penelitian ini peran peneliti di prioritaskan untuk menjalankan semua penelitian mulai awal hingga akhir, sedangkan peran pembantu di penelitian ini hanya bertugas sebagai dokumentasi penelitian (fotografer) dan membantu menyiapkan alat penelitian.

4.9.1 Pembagian Kelompok Tikus

Tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor tikus putih jantan, yang dibagi menjadi tiga kelompok pada hari ke-1 yang masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor tikus putih jantan jantan.

Kelompok K : Kelompok kontrol sebagai pembanding perubahan tekanan darah yang menggunakan tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*)

Strain Wistar) dengan hipertensi yang diberikan makanan dan minuman secara umum setiap hari dengan takaran yang sama dengan kelompok perlakuan tanpa pemberian ekstrak daun seledri (*Apium Graveolens L.*) maupun ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill*).

Kelompok P₁ : Kelompok percobaan 1, kelompok intervensi yang menggunakan tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) dengan hipertensi yang diberikan ekstrak daun seledri (*Apium Graveolens L.*).

Kelompok P₂ : Kelompok percobaan 2, kelompok intervensi yang menggunakan tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) dengan hipertensi yang diberikan ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill*).

4.9.2 Proses Adaptasi

Tikus diadaptasi selama 7 hari di tempat penelitian (Laboratorium Universitas Muhammadiyah Malang) yaitu hari ke-1 hingga hari ke-7. Proses adaptasi selama 7 hari, tikus ditempatkan didalam suatu kandang dengan satu kandang dua tikus, diberikan pembatas antara tikus satu dengan tikus lainnya dan diletakkan di Laboratorium. Selama proses adaptasi selama 7 hari tikus diberikan diet standar berupa makanan merk BR1 yang dicampurkan dengan air dan diberikan air minum selama satu kali sehari.

4.9.3 Pembuatan Ekstrak Daun Seledri (*Apium Graveolens L.*)

Pembuatan ekstrak daun seledri (*Apium Graveolens L.*) dilakukan di Laboratorium Farmasi Materia Medika Malang. Daun seledri yang segar diambil dari daerah Kota Batu. Daun seledri yang segar diambil dan dicuci bersih

menggunakan air mengalir sampai bersih kemudian dipotong kecil dan dihaluskan. Setelah dihaluskan daun seledri direndam dalam larutan pengencer berupa ethanol dengan konsentrasi 70% sekitar 3 sampai 4 hari dan ditempatkan pada botol atau toples yang tertutup rapat. Sediaan cairan daun seledri yang sudah direndam 3 sampai 4 hari dilakukan *shaker* menggunakan *shaker digital* dan disaring menggunakan penyaring kain.

Sediaan cair dari daun seledri diletakkan dalam *Erlenmeyer* dan diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan tekanan rendah dalam waktu 10 jam untuk proses evaporasi. Ekstrak cair dari daun seledri yang dihasilkan diuapkan kembali diatas *water bath* selama 2 jam sehingga dihasilkan ekstrak daun seledri dengan pengencer ethanol 70% yang berwarna coklat kehijauan dengan dosis pemakain 100 mg/kg BB atau 200 mg/kg BB. Menurut Rahardjo (2008), perhitungan sediaan dapat dilakukan sebagai berikut:

- A. Rute oral/ oral *gavage/gastric intubation* : biasanya diberikan 1%
- B. Rute intraperitoneal : biasa diberikan 0,1%
- C. Rute intravena : biasa diberikan 0,1%

a) Konsentrasi sediaan ekstrak daun seledri

$$\text{Konsentrasi (\%)} = \text{Dosis : (100 x persen pemberian)}$$

$$= 100 \text{ mg/kg BB : (100 x 1\%)}$$

$$= 1 \%$$

b) Berat ekstrak yang di timbang

$$\text{Berat ekstrak (mg)} = \text{Dosis yang diberikan x } \frac{\text{BB tikus (mean)}}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 100 \text{ mg} \times \frac{150 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 15 \text{ mg}$$

c) Volume sediaan yang dibuat

$$\text{Volume sediaan (ml)} = \text{Berat ekstrak} : \text{konsentrasi}$$

$$= 15 \text{ mg} : 1\%$$

$$= 15 \text{ mg} \times \frac{100}{1}$$

$$= 15 \text{ mg} \times \frac{100 \text{ ml}}{1000 \text{ mg}}$$

$$= 1,5 \text{ ml}$$

d) Volume pemberian

$$\text{Volume pemberian (ml)} = \text{dosis pemberian} \times \text{persen pemberian}$$

$$= 200 \text{ mg/kg BB} \times 1\%$$

$$= 2 \text{ ml}$$

Jadi pemberian ekstrak daun seledri pada tikus sebesar 2 ml terdiri dari 1,5 ekstrak daun seledri dan 0,5 pelarut (aquades) yang diberikan per oral selama masa percobaan.

4.9.4 Pembuatan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana Mill*)

Pembuatan ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill*) dilakukan di Laboratorium Farmasi Materia Medika Malang. Daun alpukat (*Persea Americana Mill*) yang segar diambil dari daerah Kota Batu. Daun alpukat yang segar diambil sebanyak 125 gram dicuci bersih menggunakan air mengalir sampai bersih kemudian dipotong kecil dan dihaluskan. Setelah dihaluskan daun alpukat direndam dalam larutan pengencer erupa ethanol dengan konsentrasi 70% sekitar 3 sampai 4 hari dan ditempatkan pada botol atau toples yang tertutup rapat.

Sediaan cairan daun alpukat yang sudah direndam 3 sampai 4 hari dilakukan *shaker* menggunakan *shaker digital* dan disaring menggunakan penyaring kain.

Sediaan cair dari daun alpukat diletakkan dalam *Erlenmeyer* dan diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan tekanan rendah dalam waktu 10 jam untuk proses evaporasi. Ekstrak cair dari daun alpukat yang dihasilkan diuapkan kembali diatas *water bath* selama 2 jam sehingga dihasilkan ekstrak daun alpukat dengan pengencer ethanol 70% yang berwarna coklat kehijauan. Menurut Rahardjo (2008), perhitungan sediaan dapat dilakukan sebagai berikut:

- A. Rute oral/ oral *gavage*/ *gastric intubation* : biasanya diberikan 1%
- B. Rute intraperitoneal : biasa diberikan 0,1%
- C. Rute intravena : biasa diberikan 0,1%

a) Konsentrasi sediaan ekstrak daun seledri

$$\text{Konsentrasi (\%)} = \text{Dosis} : (100 \times \text{persen pemberian})$$

$$= 100 \text{ mg/kg BB} : (100 \times 1\%)$$

$$= 1\%$$

b) Berat ekstrak yang di timbang

$$\text{Berat ekstrak (mg)} = \text{Dosis yang diberikan} \times \frac{\text{BB tikus (mean)}}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 100 \text{ mg} \times \frac{150 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 15 \text{ mg}$$

c) Volume sediaan yang dibuat

$$\text{Volume sediaan (ml)} = \text{Berat ekstrak} : \text{konsentrasi}$$

$$= 15 \text{ mg} : 1\%$$

$$\begin{aligned}
 &= 15 \text{ mg} \times \frac{100}{1} \\
 &= 15 \text{ mg} \times \frac{100 \text{ ml}}{1000 \text{ mg}} \\
 &= 1,5 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

d) Volume pemberian

$$\begin{aligned}
 \text{Volume pemberian (ml)} &= \text{dosis pemberian} \times \text{persen pemberian} \\
 &= 200 \text{ mg/kg BB} \times 1\% \\
 &= 2 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Jadi pemberian ekstrak daun alpukat pada tikus sebesar 2 ml terdiri dari 1,5 ekstrak daun seledri dan 0,5 pelarut (aquades) yang diberikan per oral selama masa percobaan.

4.9.5 Proses Perawatan Dan Pengamatan Perubahan Tekanan Darah

Proses perawatan dan pengamatan perubahan tekanan darah tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) dengan hipertensi dilakukan pada hari ke-1 sampai ke-35 penelitian, perawatan dan pengamatan perubahan tekanan darah pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) dilakukan 28 hari sesuai studi literature yang didapatkan.

4.9.6 Alur kerja

Pada penelitian ini, hari ke-1 sampai ke-35 tikus putih jantan dilakukan pengelompokan menjadi 3 kelompok dengan masing-masing kelompok 8 ekor tikus putih jantan diantaranya:

A. Kelompok I sebagai kelompok kontrol (+) yang terdiri dari 8 ekor tikus putih jantan yang diinduksi fruktosa 10% (1 ml per hari) selama 21 hari dengan pemberian makan dan minum secara teratur dan tidak diberikan

intervensi menggunakan ekstrak daun seledri (*Apium Graveolens L.*) maupun ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill.*)

- B. Kelompok II sebagai kelompok perlakuan 1 dengan menggunakan tikus yang sudah diinduksi fruktosa 10% (1 ml per hari) selama 21 hari dengan pemberian makan dan minum secara teratur dan diberikan intervensi menggunakan ekstrak daun seledri (*Apium Graveolens L.*) selama 7 hari dengan dosis 2 ml/200 g BB per hari diberikan secara oral pada tikus putih.
- C. Kelompok III sebagai kelompok perlakuan 2 dengan menggunakan tikus yang sudah diinduksi fruktosa 10% (1 ml per hari) selama 21 hari dengan pemberian makan dan minum secara teratur dan diberikan intervensi menggunakan ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill.*) selama 7 hari dengan dosis 2 ml/200 g BB per hari diberikan secara oral pada tikus putih.

Pada hari ke-1 sampai ke-7 tikus putih jantan diadaptasi di Laboratorium agar tidak stress saat dilakukan penelitian dengan diberikan makan dan minum. Setelah 7 hari, tikus dibedakan menjadi 3 kelompok. Pada hari ke-8 sampai ke-28 tikus diinduksi fruktosa 10% (1 ml per hari) untuk membuat tikus menjadi hipertensi. Setelah 3 minggu masa induksi dengan fruktosa 10% (1 ml per hari), hari ke-28 diukur tekanan darah tikus menggunakan *sphygmomanometer* (BP Recorder series 5800) sebagai nilai pre test. Pada hari ke-29 sampai ke-35 kedua kelompok masing-masing diberikan ekstrak daun seledri dan ekstrak daun alpukat sebanyak 2 ml/200 g BB secara oral setiap hari selama 7 hari. Pada hari ke-35 diukur tekanan darah sebagai nilai *post test*.

4.10 Analisis data

Pada penelitian ini, data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji sebagai berikut:

- A. Uji normalitas digunakan untuk mengetahui bahwa data sampel dari populasi atau data setiap variable yang dianalisis memiliki berdistribusi normal, sehingga memenuhi persyaratan untuk dilakukannya statistik parametik.
- B. Uji *homogeneity of variance* digunakan untuk mengetahui sifat *homogeneity* dari data yang diperoleh. Uji *homogeneity* yang dilakukan dalam penelitian ini adalah uji levene untuk mengetahui keragaman varians dari dua kelompok data perlakuan. Kriteria varians bersifat *homogeneity* jika nilai levene statistic $>0,01$ dan nilai signifikan $>0,01$.
- C. Uji Independen T-Test digunakan untuk mengetahui perbedaan dua kelompok yang anggotanya berbeda satu dengan yang lainnya setelah diberikan intervensi. Jika nilai probabilitas $>0,01$ maka terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok yang diujikan.
- D. Uji *Paired Sample T-Test* digunakan untuk membandingkan rata-rata dua sampel yang berpasangan atau berhubungan sebelum diberikan intervensi dan sesudah diberikan intervensi. Jika nilai probabilitas $<0,01$ maka terdapat perbedaan yang signifikan sebelum dan sesudah diberikan intervensi. Selain untuk melihat perbedaan, uji ini bisa digunakan untuk membaca berapa persen pengaruh dalam setiap kelompok yang diberikan perlakuan berbeda.

Uji analisis tersebut diolah menggunakan program SPSS IBM (*Statistical Product and Service Solution*) dengan nilai probabilitas kesalahan yang baik digunakan adalah 0,01 dan angka kepercayaan 99% (Juliandi, et al. 2014).

4.11 Etika penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experiment reseach* yaitu penelitian murni dengan memberikan manipulasi berupa intervensi pada tikus putih jantan. Penggunaan sampel berupa tikus putih jantan karena tikus putih jantan merupakan tikus besar yang lebih banyak kelebihanya dibandingkan dengan tikus kecil. Kelebihan dari tikus putih jantan ini seperti memiliki perilaku yang kurang agresif sehingga lebih mudah diobservasi, memiliki ukuran tubuh yang proporsional dan secara biologis memiliki respon yang hampir sama dengan manusia. Tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) cocok digunakan untuk percobaan masalah kesehatan yang sama pada manusia.

Penggunaan tikus sebagai hewan coba juga mempermudah peneliti dalam pemeliharaan dan pengontrolan lingkungan sehingga hasil penelitian akan lebih akurat dan hal tersebut sangat sulit jika dilakukan pada manusia. Struktur dari tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) mempunyai kriteria (organ) yang sama dengan manusia dan mempunyai kemiripan DNA dengan manusia sehingga peneliti menggunakan tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) sebagai bahan uji dibandingkan dengan hewan coba lainnya (Alexandru, 2011:65). Penelitian dengan hewan coba harus memperhatikan aspek perlakuan yang manusiawi terhadap hewan-hewan coba sesuai dengan prinsip 5F (freedom) yaitu : (1) Bebas dari rasa lapar dan haus, (2) Bebas dari rasa tidak nyaman, (3) Bebas dari rasa nyeri, trauma, dan penyakit, (4) Bebas dari ketakutan dan stress jangka panjang, (5) Bebas mengekspresikan tingkah laku alami, diberikan ruang dan fasilitas yang sesuai.

Ilmuwan penelitian kesehatan yang menggunakan model hewan percobaan menyepakati hewan coba yang menderita dan mati untuk kepentingan manusia perlu

dijamin kesejahteraannya dan diperlakukan secara manusiawi (dibunuh/dibakar). Cara yang paling baik membunuh hewan adalah dengan overdosis suatu anestetik, atau dengan injeksi barbiturate (*pentobarbital natrium* 300 mg/ml) secara intra vena untuk anjing dan kelinci, secara intraperitoneal atau intratorakal untuk marmut, tikus, dan mencit atau dengan inhalasi kloroform, karbondioksida, nitrogen di dalam tempat tertutup. Hewan-hewan yang dibunuh atau dikorbankan pada akhir percobaan dibungkus dengan plastik, tutup rapat dan disimpan dalam pendingin sebelum dimusnakan dengan pembakaran atau dikubur (Indon, 2013:115).

