BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium menggunakan rancangan *pre and post test control group design*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium bahan alam dan farmakologi di Universitas Buana Perjuangan Karawang pada bulan April – Juli tahun 2019.

3.3 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan uji, mencit, sonde lambung mencit, maserator, *rotary evaporator,* kertas saring, cawan penguap, *waterbath*, corong, batang pengaduk, mortar, *beaker glass* 100ml dan 50ml, timbangan, blender, glukometer (*Gluco Dr.),* strip uji glukosa, spuit 1cc, sarung tangan, jarum suntik.

3.4 Bahan Penelitian

3.4.1 Bahan Tanaman

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman bawang merah *(Allium cepa* L. *cv group Aggregatum*.) varietas bima brebes yang didapatkan dari daerah brebes jawa tengah untuk keperluan determinasi, dan diambil bawang merah.

3.4.2 Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan yaitu : Metformin 500mg, aquades, etanol 70%, aloksan.

3.4.3 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit *Swiss Webster* berjenis kelamin jantan dengan berat badan antara 20- 30 gram, berumur 2-3 bulan dalam kondisi sehat (aktif dan tidak cacat). Mencit diadaptasikan selama satu

minggu tujuannya agar mencit bisa beradaptasi dengan lingkungan percobaan. Sebanyak 15 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 3 mencit.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pengumpulan Bahan Tanaman

Pengumpulan bahan tanaman bawang merah dilakukan di daerah brebes Jawa tengah.

3.5.2 Determinasi Tanaman

Determinasi ini dilakukan di Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Hayati ITB Bandung. Determinasi dari suatu tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut, apakah tanaman tersebut benar-benar tanaman yang diinginkan. Dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti dapat dihindari.

3.5.3 Pembuatan Simplisia

Simplisia dipilih dari bawang merah bima brebes *(Allium cepa* L. *cv group Aggregatum*.) kemudian dicuci dengan air bersih yang mengalir lalu diangin-anginkan. Lalu bawang merah di rajang dan dilakukan proses pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 60ºC selama 2 minggu.

3.5.4 Ekstraksi Bawang Merah Bima Brebes

Sampel berupa bawang merah setelah itu diangin-anginkan sampai kering/ tidak panas dan dijadikan serbuk lalu ditimbang. ekstraksi menggunakan metode maserasi yang mana bawang merah di campur dengan etanol 70%, lalu disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan antara residu dan filtratnya. Kemudian hasil maserasi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental.

3.5.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Pelaksanaan percobaan dilakukan dengan membagi mencit menjadi 5 kelompok. Masing – masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit, Kelompok K1 sebagai kontrol negatif, kelompok K2 sebagai kontrol positif yang

diberikan metformin 500mg, dan kelompok K3, K4, K5 diberikan ekstrak kental bawang merah yang sebelumnya sudah dilarutkan.

Mencit dibuat menjadi diabetes dengan cara diinjeksikan aloksan, sebelumnya mencit dipuasakan selama 8 jam, kemudian dilakukan pengukuran kadar gula darah sebelum diinjeksi aloksan. Mencit diinjeksi aloksan sebanyak 150 mg/200g bb secara intraperitoneal pada kelompok K1, K2, K3, K4, dan K5. Tiga hari setelah dilakukan injeksi aloksan, kadar glukosa mencit dilakukan pengukuran dengan menggunakan glukometer. Kadar glukosa darah (KGD) normal mencit jantan adalah 62,8-176,0 mg/dl (Mitruka,1977). Apabila kadar glukosa masih normal, mencit kembali diijeksikan dengan aloksan dan diukur kembali 3 hari kemudian. Perlakuan ini dilakukan hingga mencit dalam keadaan DM.

Tiap kelompok diberi perlakuan selama 7 hari. Kelompok K1 sebagai kontrol negatif yang hanya diberi aquades, kelompok K2 di beri metformin, K3, K4, dan K5 diberikan ekstrak bawang merah masing- masing 75mg/200g bb, 150 mg/220g bb dan 225 mg/200g bb.

3.5.6 Penentuan Dosis

a. Dosis Ekstrak Bawang Merah

Faktor konversi dosis tikus 200g ke mencit adalah 0,14

Ekstrak bawang merah yang diberikan adalah 75mg/200g bb, 150 mg/200g bb dan 225 mg/200g bb, maka;

Dosis kelompok K3 = 75 mg x 0,14 = 10,5 mg/20g

Dosis kelompok K4 = 150 mg x 0,14 = 21 mg/20g

Dosis Kelompok K5 = 225 mg x 0,14 = 31,5 mg/20g

Dan volume cairan per oral yang diberikan pada hewan mencit adalah 1ml/20g (M.Bouchard., dkk. 1981-1982).

b. Dosis Aloksan

Dosis aloksan pada tikus adalah 150mg/kgBB.

Pada tikus 200g = (200g/1000g) x 150 mg

= 30mg/Tikus 200g

Faktor konversi dari tikus 200g ke mencit 20g = 0,14

Pada mencit 20g = 30mg x 0,14

= 4,2 mg/mencit 20g

3.5.7 Pengukuran Kadar Glukosa Darah

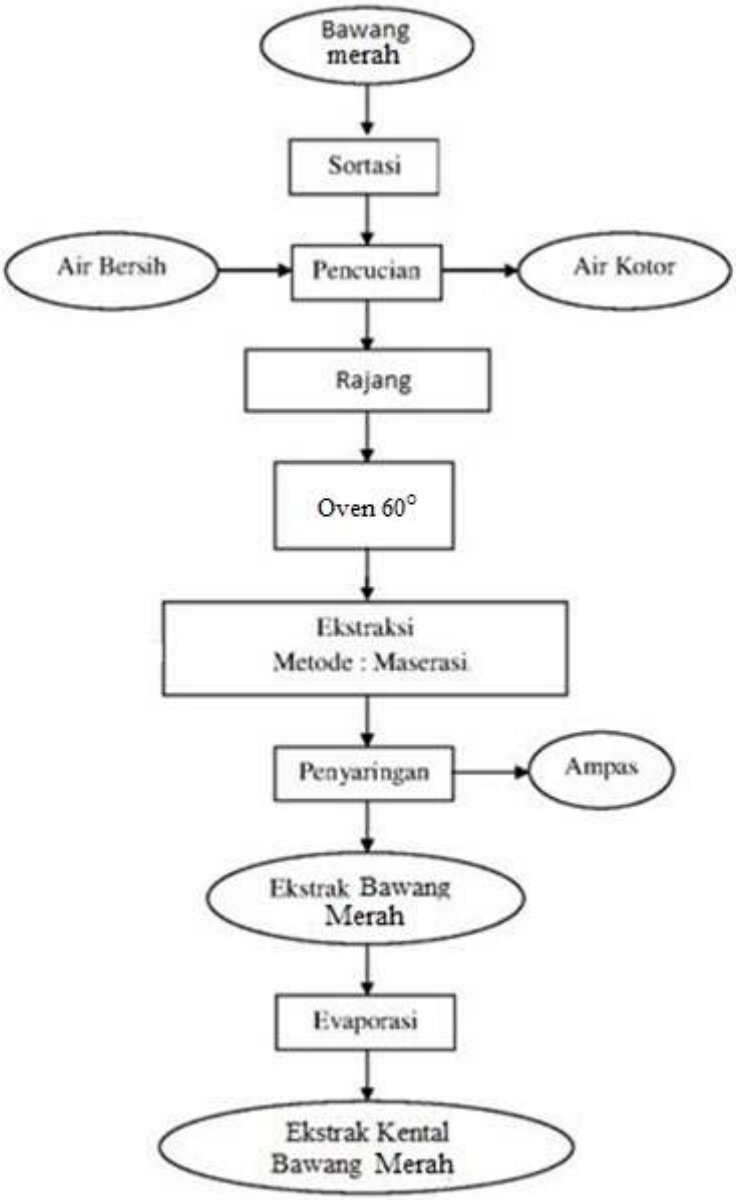
Sebelum digunakan, glukometer dihidupkan dan strip glukosa dimasukkan ke dalam glukometer. Darah diambil melalui ujung ekor hewan uji (mencit) kemudian diteteskan pada strip glukometer. Dalam waktu 10 detik kadar glukosa darah akan terukur secara otomatis dan hasilnya dapat dibaca pada monitor glukometer (Elfira, Yunesya. 2016). KGD mencit diukur pada hari ke-3 setelah pemberian ekstrak dan obat. Setelah itu, diukur kembali 6 hari setelah pemberian ekstrak dan obat sebagai KGD akhir.

3.5.8 Analisis Data Penelitian

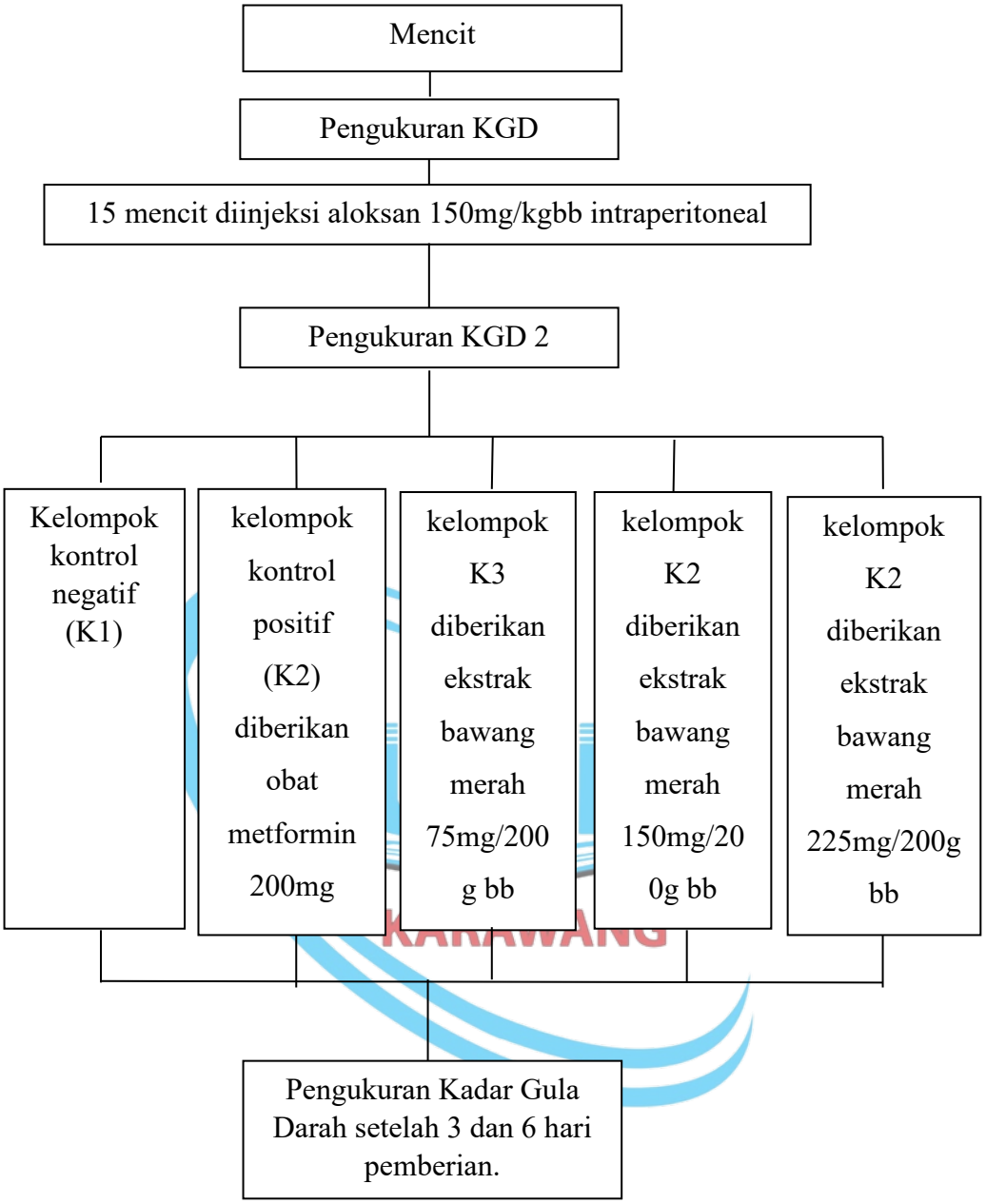
Setelah didapatkan data kadar gula darah pada mencit pada tiap kelompok, maka data dianalisa statistik dengan metode Anova (analisis variansi)

UBP KARAWANG

3.6 Diagram Alir



Gambar 3.1 Bagan Ekstraksi Bawang Merah



Gambar 1.2 Bagan Pengujian Hewan Uji