

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Studi ini ialah studi eksperimental bersama memanfaatkan hewan percobaan mencit Swiss Webster putih jantan. Pada studi ini digunakan 6 kelompok perlakuan yakni kelompok normal, kelompok positif, kelompok negatif, kelompok ekstrak 50 mg/kg BB mencit, kelompok ekstrak 100 mg/kg BB mencit, dan kelompok ekstrak 200 mg/kg BB mencit.

#### 3.2 Populasi dan Sampel

Sampel pada penelitian ini yaitu tikus putih jantan galur wistar kemudian dirandomisasi menggunakan Microsoft Excel dan hewan uji dikelompokkan dengan menggunakan rumus federer.

$$\text{Rumus Federer} = (n-1)(t-1) \geq 15$$

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

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

$$(n-1) = 15 \div 5 = 3$$

$$n = 1 + 3$$

$$= 4 \text{ kelompok}$$

#### 3.3 Bahan dan Alat yang Digunakan

##### 3.3.1 Bahan

Bahan yang dimanfaatkan pada studi ini yaitu daun kering cep-cep, mencit putih jantan *swiss webster* bersama berat badan 20-30 gr, obat standar glibenklamid 5mg (PT. Indofarma Tbk, Indonesia), etanol 70%, penginduksi aloksan.

##### 3.3.2 Alat

Alat pada studi ini yakni mortir serta stamper (Onemed®), Pompa Vakum (DOA P504.BN®), corong bushner (Herma®), rotary evaporator (Eyela®), tabung reaksi (Pyrex®), beaker glass

(Herma®), batang pengaduk (Rofa®), sonde (Onemed®), handscoon (Sensi latex®), spuit 5 cc (Onemed®), mikropipet (Thermo Scientific®), tabung EDTA (IVEN®), pipa hematocrit (Marienfeld®), kuvet (Germany®).

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas studi ini yaitu ekstrak etanol daun cep-cepan bersama beberapa variasi dosis yang berbeda.

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada studi ini kadar gula, serta efek ekstrak Cep-cepan terhadap pankreas.

#### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada studi ini bersama memanfaatkan mencit putih jantan swiss webster bersama berat badan 20-30 mg yang diberi pakan pur/konsentrat, ialah volume bantuan.

### 3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
1	Variabel bebas Dosis ekstrak etanol daun Cep-cepan	6 kelompok perlakuan bersama memanfaatkan obat silymarin, obat kurkumin, penginduksi dan 3	-	Nominal	1. K = Kontrol normal diberi aquadest 2. Kontrol Positif = glibenklamid 5 mg/kg 3. Kontrol negatif = suspensi PGA 1%

kelompok terapi ekstrak etanol bersama dosis yang bervariasi.

4. C5 = kelompok terapi dosis 50 mg/KgBB  
 5. C10 = kelompok terapi dosis 100 mg/KgBB  
 6. C15 = kelompok terapi dosis 200 mg/KgBB  
 7. C15 = anggota terapi dosis 400 mg/KgBB

Variabel	Mengukur	Laboratorium		
2 terikat	kadar gula dan efek pada organ pankreas menggunakan uji histopatologi	Makroskopis	Interval	1. Normal 2. Rendah

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Preparasi Sampel

##### 3.6.1.1 Pembuatan ekstrak etanol menggunakan metode maserasi

Daun Cep-cepan serbuk (5 kg) dimaserasi secara menyeluruh dalam etanol 70% selama 72 jam. Ekstrak cair yang mampu selanjutnya dikentalkan memanfaatkan *rotary evaporator* pada suhu 50°C agar menghasilkan konsentrat sekitar 9,87% (bobot tetap ekstrak dibagi bobot simplisia dikalikan 100%). Ekstrak disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan untuk percobaan. Ekstrak etanol kering dilarutkan dalam air suling untuk membuat berbagai dosis (Alkandahri, 2019).

Determinan tumbuhan dengan pengumpulan bahan baku dan persiapan simplisia di determinasi di herbsarium jatinangor departemen biologi Fmipa Unpad

### 3.6.1.2 Pembuatan induksi aloksan

Ditimbang bobot mencit, setelah didapat disesuaikan dengan dosis induksi aloksan 150 mg/kg. Setelah itu ditimbang bobot obat aloksan sesuai dengan perhitungan dosis yang telah disesuaikan. Serbuk obat aloksan dilarutkan dalam *aqua for injection*. Kemudian diberikan secara intraperitoneal.

### 3.6.1.3 Pengelompokan Perlakuan Pada Mencit

Studi memanfaatkan mencit jantan selaku hewan uji bersama berat 25-30 gr yang berumur 2-3 bulan dengan total mencit 24 ekor diambil selaku acak (randomisasi) dibagi menjadi 6 anggota percobaan tiap-tiap anggota 4 ekor mencit. Dimana anggota 1 menjadi kontrol normal disampaikan larutan PGA, anggota 2 diberikan obat glibenklamid 5 mg/kg, anggota 3 menjadi kontrol negatif diberikan larutan PGA, anggota 4,5,6 diberikan ekstrak etanol daun cep-cepan bersama dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, serta 200 mg/kg BB. Pengujian dijalankan selama 15 hari, ekstrak tumbuhan diberikan setelah 3 hari induksi aloksan. Pengambilan sampel darah masing-masing anggota diambil pada hari 0, 4, 8, 12, dan 16 untuk mengecek kadar gula darah.

### 3.6.1.4 Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji

Pengambilan sampel darah diambil pada hari 0,4, 8, dan 16 pada masing-masing hewan uji menggunakan alat *easytouch* stik gula darah.

### 3.6.1.5 Pengujian Histopatologi

Setelah dilakukan perlakuan, di hari ke-16 tikus putih galur wistar di beri anestesi di korbakan menggunakan anestesi eter untuk di ambil organ pankreas setelah itu dilakukan analisis histopatologi. Dengan cara difiksasi dengan menggunakan larutan bouhing selama 1 hari kemudian dipotong dan dimasukkan ke dalam wajan specimen yang terbuat dari plastik. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi pada alkohol konsentrasi bertingkat yaitu alkohol 70%, 80%, 90% alkohol absolute I, absolute II masing-masing 2 jam. Lalu dilakukan penjernihan dengan xylol kemudian dicetak menggunakan paraffin sehingga sediaan tercetak di dalam blok- blok paraffin dan disimpan dalam lemari es. Blok-blok paraffin tersebut kemudian dipotong tipis setebal 5-6  $\mu\text{m}$  menggunakan mikrotom. Hasil potongan diapungkan dalam air hangat bersuhu 60°C selama 24 jam untuk meregangkan agar jaringan tidak berlipat. Sediaan kemudian diangkat dan diletakkan dalam gelas objek untuk dilakukan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin (HE). Selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Setelah itu dilakukan pengamatan. Pengujian histopatologi dilakukan di laboratorium Gendral Universitas Ahmad Yani Bandung.

### **3.7 Analisis Data**

Data yang telah diperoleh kemudian dianalisis memanfaatkan ANOVA selanjutnya bersama uji *Tukey HSD* agar diyakini perbedaan antar anggota perlakuan dimana,  $p < 0,05$  dianggap signifikan

### **3.8 Lokasi dan Tempat Penelitian**

Studi dijalankan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana perjuangan Karawang serta Laboratorium Universitas Jenderal Achmad Yani Bandung, pertengahan pada bulan Juni 2023.

### 3.9 Skema Penelitian

Gambar 3.1 Skema Penelitian

