

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan penelitian randomized pretest-posttest control group design. Prosedur penelitian meliputi tahap pembuatan ekstrak etanol daun Suji, tahap pengumpulan sampel, pengolahan sampel, skrining fitokimia daun suji (*Dracaena angustifolia*), pembuatan fraksi n- heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia*), dan pengujian fraksi ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia*). Pada penurunan kadar gula darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus federer dengan perhitungan sebagai berikut :

$$(n - 1) (t - 1) > 15$$

Keterangan:

n - besar sampel

t = jumlah perlakuan

$$(n - 1) (1 - 1) > 15$$

$$(n - 1) (6 - 1) > 15$$

$$(n - 1) 5 > 15$$

$$5n - 5 > 15$$

$$5n > 20$$

$$n > 4$$

Penelitian ini terdiri dari 6 kelompok yang tiap kelompok perlakuan terdapat 4 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) wistar jantan, sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah 24 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) wistar jantan.

3.2 Cara pengambilan sampel

Pada penelitian ini sampel yang diperoleh dengan metode simple random sampling.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Sampel penelitian ini meliputi tikus putih (*Rattus norvegicus*) wistar jantan yang memenuhi kriteria inklusi

3.4 Variabel penelitian

3.4.1 Variabel Dependen

Variabel dependent pada penelitian ini kadar gula darah postprandial tikus (*Rattus norvegicus*) wistar jantan

3.4.2 Variabel independent

Variabel independen dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia*), glibenklamid dan aquadest.

3.5 Definisi variabel

3.5.1 Fraksi Ekstrak daun suji dengan dosis 100 mg dan 200 mg, 400 mg

3.5.2 Kadar gula darah postprandial adalah kadar gula dalam plasma darah 2 jam setelah pemberian glukosa yang diukur dengan glukometer.

3.5.3 Tikus yang diinduksi aloksan adalah tikus yang diinduksi secara intraperitoneal dengan dosis 150 mg/kgBB sehingga tikus menjadi diabetes melitus atau GDP > 132 mg/dl.

3.5.4 Glibenklamid adalah obat antidibetes oral. Dosis yang digunakan adalah 5 mg/kgBB.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu meliputi, alat maserasi, kandang tikus, spuit 1 cc, kapas, lancet, strip glukosa, sonde lambung, tabung reaksi, timbangan, glukometer, soxhlet.

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi, ekstrak daun suji (*Dracaena angustifolia*), 24 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar, etanol 70%, aquadest, Obat glibenklamid, Aloksan, tween 80, Alkohol.

3.7 Lokasi penelitian dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Determinasi

Determinasi dilakukan di Unit Universitas Padjadjaran Bandung untuk mengetahui identitas dari tanaman suji (*Dracaena angustifolia*).

3.8.2 Pengumpulan tanaman

Tanaman yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun suji (*Dracaena angustifolia*). Yang didapatkan dari Kecamatan Cikarang Timur, Kabupaten Bekasi, Provinsi Jawa Barat.

3.8.3 Pembuatan simplisia

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun suji (*Dracaena angustifolia*) yang masih segar sebanyak 4 kg kemudian dilakukan pembuatan simplisia. Dengan cara daun yang masih segar dengan kondisi utuh dan baik dibersihkan dari kotoran yang melekat dan dicuci dengan air mengalir. Kemudian daun dijemur dengan cara diangin-anginkan selama beberapa hari. Daun yang sudah kering dihaluskan dengan blender hingga halus sehingga diperoleh 2,5 kg serbuk kering.

3.8.4 Pembuatan ekstrak daun suji

Ambil sebanyak 500 gram sampel berupa serbuk halus daun suji (*Dracaena angustifolia*) dimaserasi dengan etanol 70% selama 1×24 jam dan diulangi hingga terekstraksi dengan sempurna hingga filtrat tidak berwarna. Filtrat disaring dan diuapkan di water bath dengan suhu 60–70°C sambil diaduk kemudian dianginkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Hitung rendemen dari ekstrak kental daun suji (*Dracaena angustifolia*). Rendemen dihitung dengan menggunakan satuan persen (%). Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Berikut adalah rumus untuk menghitung rendemen:

$$\% \text{Rendeman ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

3.8.5 Fraksi daun Suji

Ekstrak dilarutkan dalam campuran etanol dan air dengan perbandingan (1:3), setelah itu difraksinasi dengan praktisi cair-cairmenggunakan etil asetat dan n- heksana masing-masing dilakukan 3 kali pengulangan sebanyak 450 mL (3 x 450 mL) dengan menggunakan alat corong pisah dengan cara dikocok kuatberkali-kali secara searah kemudian didapatkan hasil fraksi yaitu fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n- heksana. Fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat dipekatkan dengan ratory evaporator pada suhu 50oC sedangkan fraksi air dengan cara freeze dryer (pengeringan beku) untuk mengeluarkan atau memisahkan hampir sebagianbesar air dalam ekstrak. Rendemen fraksi dihitung dengan perhitungan :

$$\% \text{Rendeman ekstrak} = \frac{\text{berat fraksi yang diperoleh}}{\text{berat ekstrak kental awal yang ditimban}} \times 100\%$$

3.8.6 Skrining Fitokimia

1. Uji identifikasi alkaloid

Ambil ekstrak etanol daun suji sebanyak 4 mL kemudian diletakkanke dalam cawan porselen, tambahkan 5 mL HCL 2M dan bagi menjadi 3 bagian A, B, dan C. Filtrat A digunakan sebagai blanko, filtrat B ditambahkan pereaksi Mayer, untuk menghasilkan reaksi positif jika terbentuk endapan mengumpal yang berwarna putih atau kuning. Sebaliknyajika filtrat C ditambahkan pereaksi wagner untukmenghasilkan reaksi positifditandai dengan terbentuknya endapan yang berwarna coklat (Damai, R. 2021).

2. Uji Identifikasi Saponin

Ambil ekstrak etanol daun suji sebanyak 4 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, kemudiaan didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk

busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 M menunjukkan adanya saponin (Damai, R. 2021).

3. Uji Identifikasi Tanin

Ambil ekstrak etanol daun suji cair kemudian ditambahkan dengan 2 tetes larutan Fe(III) klorida 1%. Jika terbentuk larutan yang berwarna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan yang menunjukkan adanya senyawa polifenol (Damai, R. 2021).

4. Uji Identifikasi Flavonoid

Ambil ekstrak etanol daun suji sebanyak 4 mL kemudian dipanaskan, tambahkan etanol ke dalam larutan, kemudian 19 ditambahkan serbuk magnesium dan ditambahkan HCL. Jika terbentuk larutan yang berwarna merah menunjukkan adanya flavonoid (Damai, R. 2021)

5. Uji Identifikasi Steroid dan Terpenoid

Ambil ekstrak etanol daun suji cair sebanyak 4 mL dimasukkan ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan 2 mL kloroform dan di aduk, kemudian ditambahkan pereaksi Salkowsky (H_2SO_4 pekat). Jika terbentuk larutan yang berwarna merah menunjukkan adanya steroid atau terpenoid (Damai, R. 2021)

3.8.7 Perhitungan Besar Dosis

a. Besaran Dosis Aloksan

Dosis aloksan yang digunakan pada penelitian ini, adalah 150 mg/kgb diinjeksikan intraperitoneal.

$$\text{Dosis Aloksan} = \frac{200}{1000} \times 150 \text{ mg} = 30 \text{ mg}/200 \text{ gr tikus}$$

b. Besaran Dosis Glibenklamid

Untuk menghitung besar dosis obat pada hewan coba, diperlukan konversi perhitungan dosis berdasarkan tabel Laurance & Bacharach (2013) untuk tikus dengan berat badan 200 g sebagai berikut:

$$\text{Dosis Glibenklamid} = 5 \text{ mg} \times 0,018$$

= 0,09 mg/200 gr tikus

c. Besaran Dosis Ekstrak daun suji

Variasi dosis ekstrak daun suji diperoleh dari orientasi.

3.8.8 Teknik Pengambilan sampel

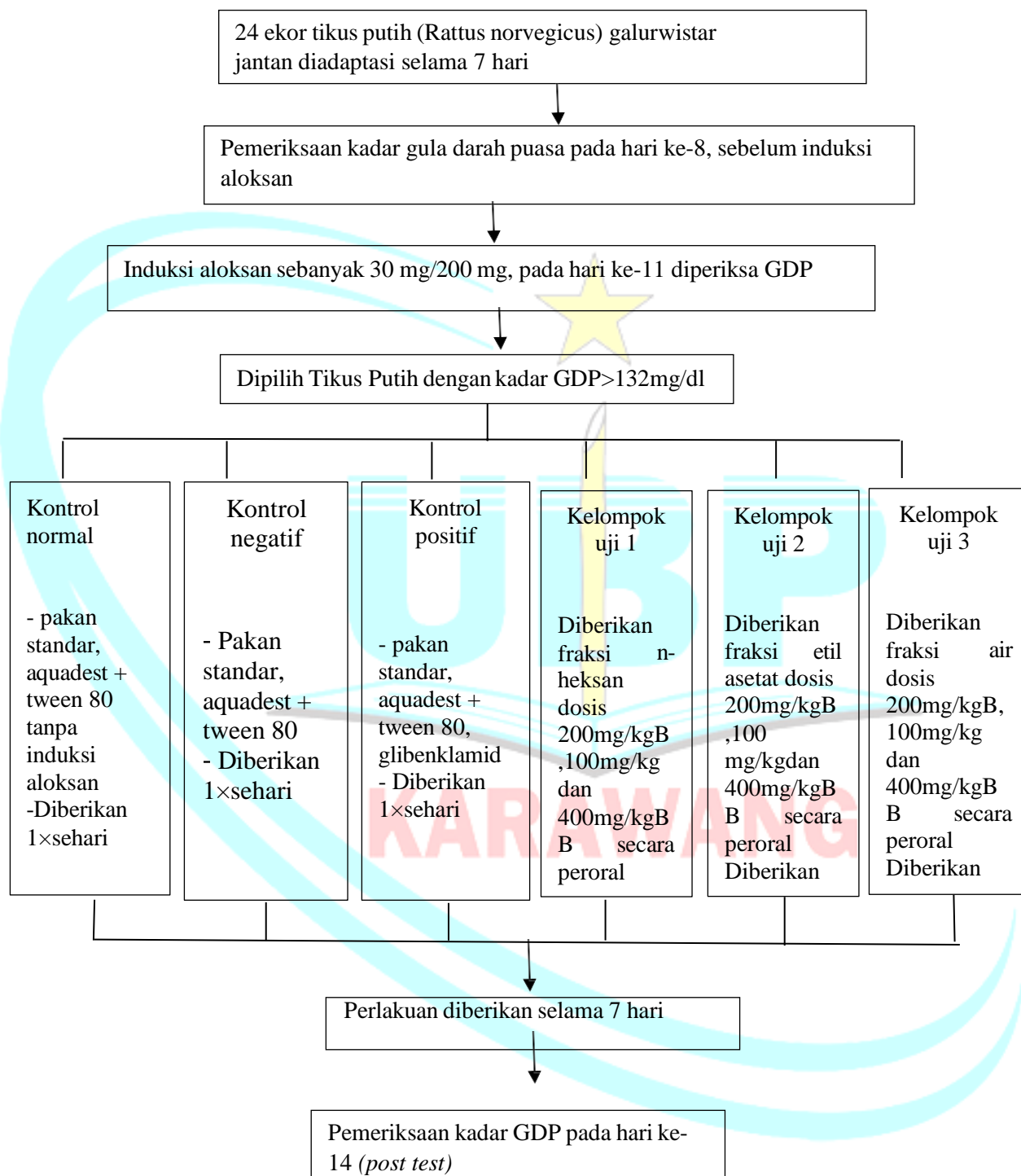
Prosedur pengambilan darah pada tikus melalui vena ekor (V. Lateralis ekor) dengancara tikus dipegang, lalu ekor tikus dijulurkan dan Vena lateralispada ekor di incis (dipotong) 0,2 cm dari pangkal ekor dengan gunting yang steril. Kemudian dilakukanpengecekan kadar gula darah menggunakan glukometer (Permatasari, 2013).

3.8.9 Proses Perlakuan Hewan Percobaan

Proses perlakuan pada hewan coba berupa tikus (*Rattus norvegicus*) dilakukan dengan langkah-langkah berikut :

1. Mempersiapkan sampel sebanyak 24 ekor tikus (*Rattusnorvegicus*) wistar jantan.
2. Tikus diadaptasikan selama 1 minggu di laboratorium dan diberi pakanstandar
3. Dilakukan pemeriksaan awal kadar glukosa darah tikus (*Rattusnorvegicus*) wistar jantan.
4. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) wistar Jantan diinduksi aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 30 mg/200 g
5. Tiga hari setelah proses induksi dilakukan pemeriksaan glukosa
6. Tikus yang digunakan sebagai hewan percobaan adalah tikus dengan kadar glukosa darah diatas 132 mg/dl (pretest).
7. Setelah dilakukan pengukuran kadar glukosa darah (pretest) kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) wistar diberi intervensi, berupa :
 - Kelompok kontrol normal : aquadest + tween 80 tanpa induksi aoksan
 - Kelompok kontrol negatif aquadest + tween 80
 - Kelompok kontrol positif (+) : obat glibenklamid + tween 80
 - Kelompok uji 1 fraksi n-heksan dosis , kelompok uji 2 Fraksi etil asetat,dan Fraksi air. Perlakuan pada setiap kelompok diberikan melalui sonde dandiberikan denganfrekuensi 1× sehari
8. Tikus diberikan makan pelet dan minum secukupnya Setelah perlakuan selama 7 hari, di lakukan pemeriksaan kadar glukosa darah pada tikus (*Rattus norvegicus*) wistar jantan (posttes).

3.9 Alur penelitian



Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian

3.10 Analisis data

Data yang didapatkan dari penelitian di nilai normalitas dan homogenitasnya dengan menggunakan *tes Shapiro-wilk* karena jumlah $n < 50$. Untuk melihat perubahan kadar glukosa darah sebelum dan setelah diberikan perlakuan selama 7 hari maka dilakukan uji *pair T- test*. Untuk menguji efektivitas dari keempat kelompok secara bersamaan maka dilakukan uji *One way Anova*. Uji kesesuaian antara fraksi dan obat dilakukan dengan *post Hoc Test*.

