

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1. Jenis dan Desain Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan teknik pengumpulan data dengan observasi dan mencatat hasil-hasil data dari eksperimen yang dilakukan yang terdiri kadar glukosa darah sebelum dan sesudah perlakuan, berat badan mencit, serta kandungan fitokimia ekstrak daun miana. Desain dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang dapat dilakukan di lingkungan yang relatif homogen. Mencit dikelompokkan secara acak menjadi lima kelompok dengan 5 kali ulangan per kelompok:

1. Kelompok K0 : kelompok kontrol negatif yang tidak diinduksi aloksan 150 mg/kg BB dan tidak diberi perlakuan terdiri atas lima ekor mencit.
2. Kelompok K1 : kelompok kontrol positif yang diinduksi aloksan 150 mg/kg BB dan diberi glibenklamid 5 mg/kg BB terdiri atas lima ekor mencit.
3. Kelompok P1 : kelompok perlakuan yang diberi dosis ekstrak daun miana 50 mg/kg BB setelah diinduksi aloksan 150 mg/kg BB dan mengalami hiperglikemia terdiri atas lima ekor mencit.
4. Kelompok P2 : kelompok perlakuan yang diberi dosis ekstrak daun miana 100 mg/kg BB setelah diinduksi aloksan 150 mg/kg BB dan mengalami hiperglikemia terdiri atas lima ekor mencit.
5. Kelompok P3 : kelompok perlakuan yang diberi dosis ekstrak daun miana 200 mg/kg BB setelah diinduksi aloksan 150 mg/kg BB dan mengalami hiperglikemia terdiri atas lima ekor mencit.

### **3.2. Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh mencit jantan berumur 3 bulan dengan berat rata-rata 20 gram yang diberi aloksan sebagai bentuk model yang mengalami hiperglikemia. Sampel pada penelitian ini adalah ekstrak daun miana dan darah dari mencit hiperglikemia.

### **3.3. Waktu dan Lokasi Penelitian**

Pelaksanaan penelitian ini dilaksanakan dalam waktu kurang lebih 6 bulan (Maret 2021–Agustus 2022). Lokasi penelitian berada di Rumah Mencit Laboratorium Botani,

Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung. Kegiatan yang dilakukan diantaranya ekstraksi bahan (daun miana), perlakuan terhadap hewan uji, serta pengumpulan data dan sampel.

### **3.4. Alat dan Bahan**

Alat dan bahan yang digunakan pada saat melakukan penelitian ini adalah alat dan bahan yang terdapat di laboratorium struktur hewan Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (Lampiran 1).

### **3.5. Pengumpulan Data**

#### **3.5.1. Persiapan Alat dan Bahan**

Alat dan bahan disiapkan. Alat-alat yang akan digunakan lalu dibersihkan dan dibungkus dengan kertas untuk disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15-20 menit pada tekanan 1,5 atm dan suhu 120°C (Riza dkk, 2011).

#### **3.5.2. Ekstraksi Daun miana**

Ekstraksi daun miana dilakukan dengan cara maserasi. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi yang mudah dengan peralatan sederhana dan dapat mengekstrak bahan yang mengandung senyawa aktif tinggi. Dalam proses tersebut, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat kemudian zat akan larut dan larutan yang terpekat akan keluar dari sel karena adanya perbedaan konsentrasi antara zat di dalam sel dengan di luar sel.

Daun miana dicuci dengan air mengalir hingga bersih lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C selama 8 jam. Daun yang telah kering lalu di jadikan serbuk dengan menggunakan *blender* lalu disaring. Serbuk tersebut kemudian direndam dalam pelarut aquades selama 24 jam ditutup dengan aluminium foil. Larutan disaring setelah 24 jam dengan kertas saring untuk mengumpulkan filtratnya. Filtrat yang dihasilkan kemudian diuapkan pada *rotary evaporator* pada suhu 45°C dan tekanan 175 atm selama 4 jam untuk menguapkan pelarutnya dan didapatkan ekstrak kental (Mangindaan dkk, 2014).

Sediaan ekstrak daun miana yang akan diberikan kepada mencit dapat dilakukan dengan cara menimbang ekstrak kental daun miana sesuai dosis yang telah ditentukan,

kemudian diencerkan dengan menggunakan larutan NaCMC 1% disesuaikan dengan lambung mencit yaitu 0,5 ml. Perhitungan dosis ekstrak daun miana dapat dilihat pada Lampiran 2.

### 3.5.3 Skrining Fitokimia

#### 1. Uji Flavanoid

Sampel sebanyak 1 gram ditambahkan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, filtrat yang diperoleh kemudian diambil 5 ml lalu ditambahkan 0,1 gram serbuk Magnesium dan 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah dan diperhatikan warna yang terbentuk pada lapisan amil alkohol.

#### 2. Uji Tanin

Sampel sebanyak 5 gram disari dengan 10 ml air suling, disaring lalu filtratnya diencerkan dengan air suling sampai tidak berwarna. Dua ml larutan ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$ .

#### 3. Uji Alkaloid

Filtrat ekstrak dipakai untuk tes alkaloid. Dalam tabung reaksi masing-masing dimasukkan 0,5 ml filtrat. Pada masing-masing tabung ditambahkan 5 tetes pereaksi Mayer dan diamati hasilnya.

#### 4. Uji Terpenoid

Sampel sebanyak 0,5 gr dilarutkan dengan etanol dimasukkan ke dalam cawan kemudian ditambah eter dan diuapkan hingga kering. Kemudian ditambahkan 5 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  + 3 tetes asam asetat.

5. Uji Saponin Sampel sebanyak 0,5 gram dicampur dengan 10 ml air panas kemudian didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik hingga muncul buih. Lalu ditambahkan 1 tetes HCl, untuk mengamati ketahanan buih. adanya buih yang konstan menunjukkan saponin (Marjoni, 2016).

### 3.5.4. Penentuan Dosis

Mencit diberi ekstrak daun miana dengan dosis 50, 100, dan 200 mg/kg BB. Dosis yang digunakan didukung oleh penelitian dari Illiyani dkk., (2021) dimana dosis tersebut

tidak menyebabkan morbiditas pada mencit. Volume ekstrak daun miana yang diberikan disesuaikan dengan kapasitas maksimal volume lambung mencit yaitu 0,5 mL. Perhitungan ekstrak daun miana dapat dilihat di Lampiran 2. Perhitungan dosis ekstrak terhadap mencit dilakukan dengan menggunakan rumus:

**Dosis untuk mencit = dosis manusia x Nilai faktor konversi mencit-manusia**

#### 3.5.5. *Pre-treatment* Hewan Uji

Sebelum dilakukan perlakuan terhadap mencit, 25 ekor mencit diadaptasikan terlebih dahulu dengan lingkungan barunya selama 14 hari di kandang dan ditempatkan berkelompok berdasarkan perlakuan yang diberikan. Mencit diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Mencit diukur kadar glukosa darahnya serta ditimbang berat badannya secara keseluruhan lalu dicatat, data tersebut digunakan untuk dibandingkan dengan mencit yang sudah diberi perlakuan.

#### 3.5.6. Pembuatan Sediaan Aloksan

Dosis aloksan yang digunakan berdasarkan penelitian sebelumnya 150 mg/kgBB. Aloksan kemudian dilarutkan menggunakan larutan NaCl 0,9% dalam vial steril kemudian larutan dihomogenkan. Aloksan kemudian diinjeksikan ke mencit via intraperitoneal. Pemberian dilakukan satu kali sebelum perlakuan hewan uji. Perhitungan dosis aloksan dapat dilihat di Lampiran 2.

#### 3.5.7. Pembuatan Sediaan Glibenklamid

Pada manusia dosis glibenklamid yang dipakai adalah 5 mg, untuk mencit harus dikonversikan terlebih dahulu sehingga untuk 20 gr BB mencit dosis glibenklamid yang diberikan adalah 0,013 mg. Glibenklamid yang telah ditimbang kemudian dilarutkan menggunakan NaCMC 1% kemudian dihomogenkan. Pemberian glibenklamid dilakukan secara oral dengan menggunakan jarum *gavage*, dan dilakukan satu kali sehari. Perhitungan dosis glibenklamid dapat dilihat di Lampiran 2.

#### 3.5.8. Perlakuan Hewan

Kelompok K0 sebagai kontrol negatif tidak diinduksi aloksan dan tidak diberi ekstrak daun miana. Kelompok K1 sebagai kontrol positif diinduksi dengan aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB sekali injeksi secara intraperitoneal dan diberi suspensi

glibenklamide 5 mg/kgBB. Kelompok P1, P2, dan P3 sebagai kelompok perlakuan dengan memberikan ekstrak daun miana sesuai dengan dosis yang ditentukan secara oral menggunakan jarum *gavage*, satu kali sehari selama 14 hari. Setelah 14 hari perlakuan, mencit diukur glukosa darahnya dengan mengambil darah yang diambil dari ekor yang dilukai.

### 3.6. Analisis Data

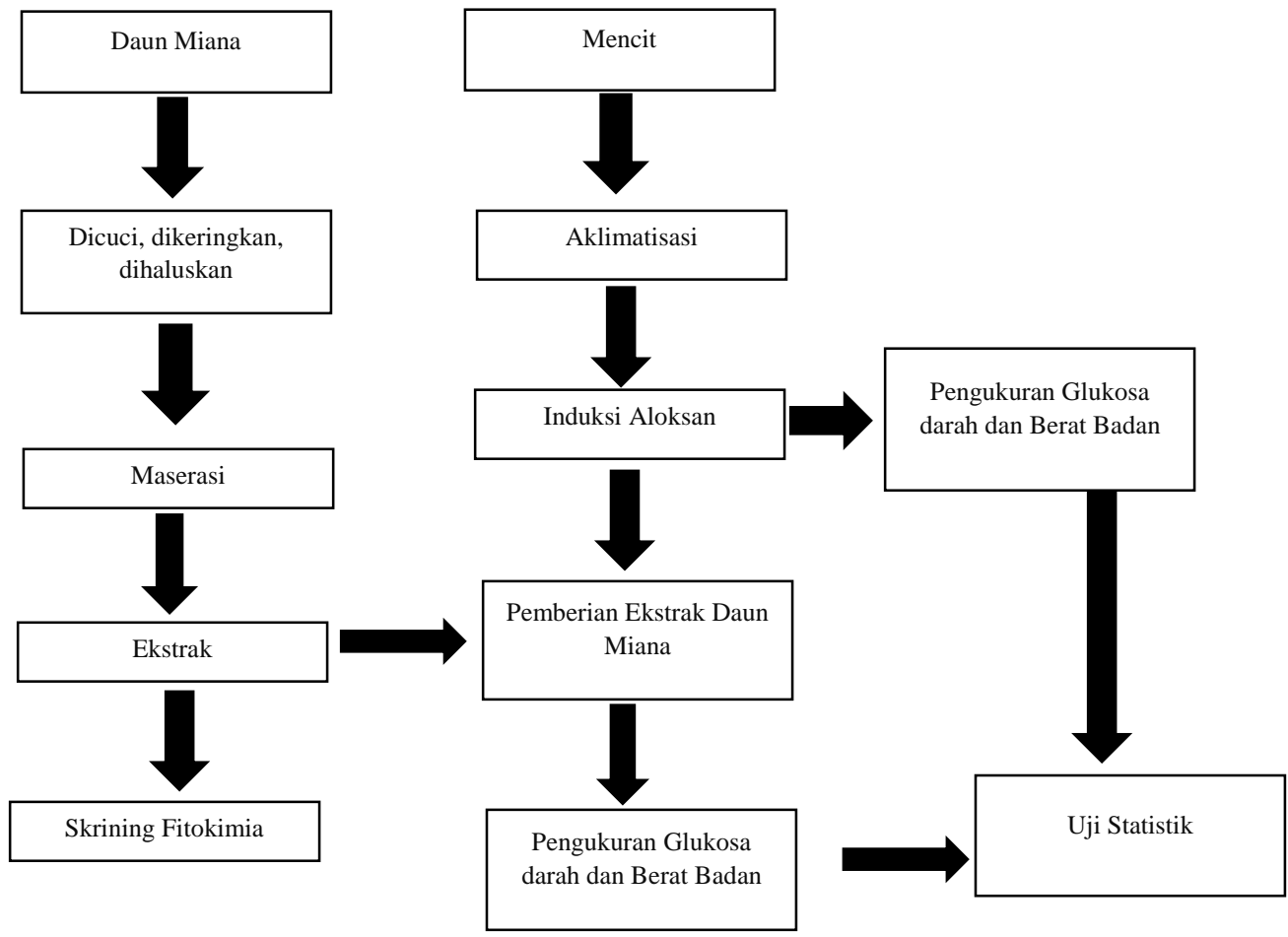
Hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak SPSS. Langkah pertama dari analisis data ini adalah uji normalitas *Shapiro Wilk* yang bertujuan mengetahui apakah data yang didapat terdistribusi normal atau tidak. Setelah uji normalitas langkah selanjutnya dilakukan uji variasi homogenitas *Levene*. Data yang terdistribusi normal dan homogen kemudian dianalisis menggunakan uji *One-Way Analysis of Variance (One-Way Anova)* untuk mengetahui nilai signifikansi dari masing-masing perlakuan data. Apabila hasil signifikansi kurang dari taraf nyata yaitu 0,05 maka dilakukan uji lanjut Duncan untuk mengetahui kelompok mana sajakah yang paling berpengaruh. Langkah selanjutnya untuk mengetahui secara pasti penurunan kadar glukosa darah pada mencit digunakan rumus penurunan kadar glukosa darah:

%PKGD=

$$\frac{\text{kadar glukosa darah sebelum perlakuan} - \text{kadar glukosa darah sesudah perlakuan}}{\text{kadar glukosa darah sebelum perlakuan}} \times 100\%$$

### 3.7. Alur Penelitian

Awal mula penelitian ini dimulai dengan tahap persiapan alat dan bahan, lalu pengambilan dan ekstraksi tanaman, selanjutnya pemeliharaan hewan uji, perlakuan hewan uji, pengambilan sampel uji, dan analisis data yang dilanjutkan dengan pengolahan serta penyusunan skripsi. Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.7. di bawah ini.



Gambar 3.7.  
Alur penelitian