# BAB III

# METODE PENELITIAN

1. Jenis dan Desain Penelitian
2. Jenis Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental, subjek yang digunakan yaitu tikus putih jantan yang diuji efek dari pemberian ekstrak etanol rambut jagung dengan dosis yang berbeda dalam menurunan kadar glukosa darah.

1. Desain Penelitian

Ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) mempunyai sifat hipoglikemik pada tikus (*Rattus norvegicus*), dimana glukosa sebagai penginduksi dan pemberian dilakukan secara oral. Dilakukan pengelompokkan pada tikus yang terdiri dari enam kelompok, dimana tiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Selanjutnya selama 8 jam tikus dipuasakan. Tiap kelompok diberikan zat secara oral untuk diuji. 30 menit kemudian, tikus diberi larutan glukosa kecuali kelompok tikus kontrol lingkungan. Setiap 15 menit sekali kadar gula darah tikus diukur hingga menit 120.

Kelompok I yaitu suspensi CMC 1% yang diberikan sebagai kelompok kontrol lingkungan tanpa diberi penginduksi larutan glukosa. Kelompok ll suspensi CMC 1% yang diberikan sebagai kontrol negatif. Kelompok IIl yaitu suspensi glibenklamid sebagai kontrol positif dan obat penurun kadar gula darah. Ekstrak etanol rambut jagung terdiri dari kelompok IV, V dan VI yang diberikan kepada tikus secara oral. Dosis yang diberikan tidak sama untuk setiap kelompok.

1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan Jurusan Farmasi, yang terletak di Jalan Airlangga No. 20 Medan. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret - Juni 2024.

1. Populasi dan Sampel Penelitian
2. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah rambut jagung yang diperoleh dari daerah Kecamatan Galang, Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara.

1. Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel uji yaitu Rambut Jagung yang diperoleh dari daerah Kecamatan Galang, Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara. Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive*, dimana dilakukan tanpa mempertimbangkan lokasi geografis dan tempat tumbuhnya.

1. Alat dan Bahan
2. Alat

Penelitian ini menggunakan alat seperti labu takar, pipet tetes, batang pengaduk, kertas saring, corong, tabung reaksi, gelas ukur, blender, botol, alat *rotary evaporator* (Buchi), oral sonde, timbangan hewan, timbangan digital analitik, spuit 3 ml, lumpang dan stamper, *glucometer*, tisu, gunting, pisau, kandang tikus.

1. Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan seperti rambut jagung, glibenklamid, Na CMC 1%, glukosa, etanol 70% dan tikus putih.

1. Pembuatan Bahan Uji
2. Pembuatan Glukosa

Menurut WHO, dosis glukosa yang digunakan sebagai penginduksi pada uji toleransi glukosa manusia adalah 75 gram. Untuk tikus putih dengan berat 200 gram, perhitungan dosis yang sesuai berdasarkan konversi adalah 0,018.

Yaitu 75 g x 0,018 = 1,35 g

Sebanyak 15 ekor tikus digunakan dalam penelitian ini, masing-masing tikus diberikan 2 ml larutan glukosa (1,35/2 ml)

Disiapkan larutan sebanyak 15 x 2 ml = 30 ml

Volume larutan glukosa yang disiapkan adalah 50 ml, ini dilakukan untuk menghindari kekurangan volume larutan glukosa sehingga volume dari larutan glukosa dilebihkan, maka:

$$\frac{50 ml}{2 ml}×1,35 gr=33,75 gr$$

1. Pembuatan Suspensi CMC 1%

Untuk pembuatan suspensi CMC 1%:

$$\frac{1 gr}{100 ml } x 100 ml=1 gr$$

Masukan aquadest yang mendidih sebanyak 5 ml kedalam lumpang, kemudian taburkan 1 gr Na CMC kedalam lumpang. Gerus hingga terbentuk suspensi, diamkan selama 15 menit hingga massa menjadi transparan, kemudian encerkan dengan sedikit aquadest. Selanjutnya, tuangkan ke dalam wadah dan tambahkan aquadest hingga mencapai volume 100 ml. Volume suspensi CMC yang diberikan pada tikus sama dengan volume pemberian suspensi glibenklamid.

1. Perhitungan dan Pembuatan Dosis Glibenklamid

Untuk manusia dosis terapi yang diberikan adalah 5 mg

Konversi untuk tikus putih dengan bobot 200 gr pada manusia adalah = 0,018

Tikus dengan berat 200 gr = 5 mg x 0,018 = 0,09 mg

Masing-masing tikus diberikan suspensi glibenklamid adalah 0,09 mg dalam 2 ml, dimana kelompok tikus untuk glibenklamid adalah 3 ekor tikus

Suspensi glibenklamid dibuat dalam 10 ml (0,09 mg/2ml)

Glibenklamid yang ditimbang: $\frac{0,09 mg}{2 ml}$ $×$ 10 ml = 0,45 mg

Tablet glibenklamid ditimbang sebanyak 20 tablet, selanjutnya digerus hingga halus, hitung bobot rata-rata satu tablet.

Belrat 20 tablelt = 4,252 gr

Belrat 1 tablelt =$\frac{4,252 }{20}=0,2126 gr$

Jadi, glibenklamid yang digunakan adalah $\frac{0,45 mg }{5 mg}×0,2126 gr=0,019 gr$

Tambahkan sebanyak 10 ml sullspelnsi CMC 1%.

1. Pembuatan Ekstrak Rambut Jagung

Menurut Farmakope Herbal Edisi I Tahun 2013, pelarut yang digunakan dalam metode maserasi adalah pelarut etanol 70%.

Menurut FI edisi IV hal 1154 tertulis bobot jelnis etanol 70% adalah 0,884

Timbang serbuk simplisia sebanyak 10 bagian belrat adalah 200 gr.

Belrat ullntullk 100 bagian simplisia adalah:

$V=\frac{100}{10 } x 200 gr=2.000 gr$

Maka, etanol 70% yang digullnakan ullntullk 100 bagian simplisia adalah:

$$V= \frac{M}{BJ}=\frac{2000 gr}{0,884 gr/ml}=2.262,44 ml$$

Etanol 70% ullntullk 75 bagian:

$$=\frac{75}{100} x 2.262,44 ml=1.696,83 ml=1.697 ml$$

Etanol 70% ullntullk 25 bagian:

$$=\frac{25}{100}x 2.262,44 ml=565,61 ml=566 ml$$

Bersihkan rambut jagung di air yang mengalir, lalu tiriskan dan letakkan di atas nampan hingga kering tanpa pengaruh cahaya matahari langsung. Setelah rambut jagung menjadi kering, lalu haluskan dengan blender. Ayak rambut jagung yang sudah dihaluskan dengan blender dan hasil ayakan terdapat serbuk kasar dan serbuk halus. Serbuk kasar yang dihasilkan diblender kembali hingga menjadi serbuk halus. Timbang simplisia rambut jagung yang sudah dihaluskan sebanyak 200 gram.

Proses maserasi ini dilakukan pengadukan sesekali minimal 3 kali pengadukan selama 5 hari dengan menggunakan penyari 75 bagian sebanyak 1.697 ml, setelah itu disaring dan hasil saringan direndam dalam penyari 25 bagian sebanyak 566 ml selama 2 hari. Hasil saringan yang telah direndam selama 2 hari selanjutnya diuapkan dengan alat penguap *rotary evavorator* dengan suhu tidak lebih dari 50°C dan hasil ekstrak kental yang didapatkan sebanyak 36,597 gram.

1. Perhitungan Ekstrak Etanol Rambut Jagung

Penentuan dosis pada penelitian ini, dilakukan dengan cara pengambilan dosis percobaan berdasarkan dari penelitian Akiris (2014). Dikatakan bahwa Ekstrak Etanol Rambut Jagung yang diberikan dengan dosis 100 – 500 mg/kgBB memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah pada tikus. Sehingga Peneliti memilih untuk menggunakan dosis 250 mg/kgBB, 350 mg/kgBB dan 450 mg/kgBB.

Dosis ekstrak etanol rambut jagung yang diuji adalah:

a. Dosis I (Ekstrak Etanol Rambut Jagung 250 mg/kgBB)

 Ullntullk tikulls 200 gr $= \frac{250 mg}{1000 g} x 200 g=50 mg$

EERJ 50 mg disuspensikan dalam CMC sampai 2 ml

Sediaan EERJ Dosis I yang dbuat adalah 10 ml

Maka EERJ yang ditimbang = $\frac{10 ml}{2 ml }$ x 50 mg = 250 mg

Timbang Ekstrak Etanol Rambut Jagung 250 mg lalu ditambahkan suspensi CMC hingga 10 ml

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tikus | Berat Badan Tikus (gr) | Dosis (ml) |
| 1 | 207 | 2.07 |
| 2 | 180 | 1.80 |
| 3 | 196 | 1.96 |

b. . Dosis II Ekstrak Etanol Rambut Jagung 350 mg/kgBB)

Untuk tikus 200 gr = $\frac{350 mg}{1000 g}$ $× $200 g = 70 mg

EERJ 70 mg disuspensikan dalam CMC sampai 2 ml

Sediaan EERJ Dosis II yang dbuat adalah 10 ml

Maka EERJ yang ditimbang = $\frac{10 ml}{2 ml }$ x 70 mg = 350 mg

Timbang Ekstrak Etanol Rambut Jagung 350 mg lalu ditambahkan suspensi CMC hingga 10 ml

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tikus | Berat Badan Tikus (gr) | Dosis (ml) |
| 1 | 180 | 1.80 |
| 2 | 217 | 2.17 |
| 3 | 210 | 2.10 |

c. EERJ Dosis II Ekstrak Etanol Rambut Jagung 450 mg/kgBB)

Ullntullk tikulls 200 gr $= \frac{450 mg}{1000 g} x 200 g=90 mg$

EERJ 90 mg disuspensikan dalam CMC sampai 2 ml

Sediaan EERJ Dosis III yang dbuat adalah 10 ml

Maka EERJ yang ditimbang = $\frac{10 ml}{2 ml }$ x 90 mg = 450 mg

Timbang Ekstrak Etanol Rambut Jagung 450 mg lalu ditambahkan suspensi CMC hinggai 10 ml

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tikus | Berat Badan Tikus (gr) | Dosis (ml) |
| 1 | 208 | 2.08 |
| 2 | 210 | 2.10 |
| 3 | 212 | 2.12 |

1. Prosedur Kerja
2. Persiapan Kelompok Perlakuan

Penelitian ini terbagi menjadi 6 kelompok hewan coba dengan perlakuan yang berbeda.

1. Kelompok I (Kontrol Lingkungan) : 3 ekor
2. Kelompok II (Kontrol Negatif) : 3 ekor
3. Kelompok III (Kontrol Positif) : 3 ekor
4. Kelompok IV (EERJ Dosis I) : 3 ekor
5. Kelompok V (EERJ Dosis II) : 3 ekor
6. Kelompok VI (EERJ Dosis III) : 3 ekor
7. Prosedur Kerja
	1. Hewan coba terdiri dari enam kelompok, setiap kelompok hewan terdiri dari tiga ekor tikus. Sebelum melakukan percobaan, setiap kelompok tikus ditimbang dan diukur kadar glukosa darah awal/sesaat.
	2. Sebelum melakukan percobaan, tikus dipuasakan selama 8 jam (hanya diberikan air minum) dan kadar glukosa darah puasa dari masing-masing tikus diukur.
	3. Kelompok tikus I diberikan Na-CMC 1% secara oral dan kadar glukosa darah diukur 30 menit kemudian. Selanjutnya pengukuran kadar glukosa darah dilakukan setiap 15 menit hingga menit ke 120.
	4. Kelompok tikus II diberikan Na-CMC 1% secara oral, kemudian 30 menit setelahnya diberikan larutan glukosa secara oral. Selanjutnya pengukuran kadar glukosa darah dilakukan setiap 15 menit hingga menit ke 120.
	5. Kelompok tikus IIl diberikan suspensi glibenklamid secara oral, kemudian 30 menit setelahnya diberikan larutan glukosa secara oral. Selanjutnya pengukuran kadar glukosa darah dilakukan setiap 15 menit hingga menit ke 120.
	6. Kelompok tikus IV diberikan ekstrak etanol rambut jagung dosis I secara oral, kemudian 30 menit setelahnya diberikan larutan glukosa secara oral. Selanjutnya pengukuran kadar glukosa darah dilakukan setiap 15 menit hingga menit ke 120.
	7. Kelompok tikus V diberikan ekstrak etanol rambut jagung dosis II secara oral, kemudian 30 menit setelahnya diberikan larutan glukosa secara oral. Selanjutnya pengukuran kadar glukosa darah dilakukan setiap 15 menit hingga menit ke 120.
	8. Kelompok tikus Vl diberikan ekstrak etanol rambut jagung dosis III secara oral, kemudian 30 menit setelahnya diberikan larutan glukosa melalui oral. Selanjutnya pengukuran kadar glukosa darah dilakukan setiap 15 menit hingga menit ke 120.
8. Pengambilan Darah Tikus

Sampel darah tikus diambil dari ujung ekornya. Tikus ditempatkan ke dalam tabung tikus dengan posisi kepala masuk terlebih dahulu, kemudian ditutup sehingga ekornya terjuntai keluar melalui lubang pada tutup tabung. Ekor tikus dibersihkan dengan alkohol swab, lalu dilukai sedikit di bagian ujung ekornya menggunakan bloodlancet agar darahnya keluar. Darah yang keluar disentuhkan pada strip pada alat pengukur yang telah terpasang di glukometer.

1. Penggunaan Alat Glukometer
2. Aktifkan glukometer dengan memasukkan strip ke dalam alat, sehingga alat akan menyala secara otomatis.
3. Darah yang keluar disentuhkan ke strip hingga berbunyi “TIT”, yang menandakan sampel darah sudah cukup, kemudian tunggu selama 10 detik, hasil kadar gula darah pada tikus akan muncul pada monitor.