

BAB III METODE PENELITIAN

A. Metode dan Desain Penelitian

1. Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimen karena dalam penelitian ini menggunakan variabel yang akan diteliti (variabel terikat) semua ini sengaja ditimbulkan dengan menggunakan perlakuan yang sesuai dengan kebutuhan saat melakukan penelitian.

2. Desain Penelitian

Desain yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dimana terdapat 1 kelompok dengan perlakuan yang berbeda. Kelompok ini diberikan air perasan daun afrika dengan dosis yang berbeda-beda.

Tabel 3.1 Tata Letak Hewan Percobaan Mencit (*Mus musculus*)

Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3	Kelompok 4	Kelompok 5	Kelompok 6
4 ekor (control negative)	4 ekor (control positif)	4 ekor (perasanda unafrika)	4 ekor (perasanda nafrika)	4 ekor (perasanda unafrika)	4 ekor (perasanda un afrika)

Tabel. 3.2 Desain Penelitian dalam penomoran hewan percobaan (mencit)

1 F4	2 A1	3 B6	4 E2	5 C5	6 D3
7 E2	8 C5	9 D3	10 F6	11 A1	12 B4
13 D6	14 F1	15 A5	16 C3	17 B2	18 E4
19 B1	20 E4	21 F6	22 D2	23 A6	24 C3

Keterangan:

- A. Kontrol nol
- B. Kontrol Placebo
- C. Dosis 1 (0,30 ml/ekor)
- D. Dosis 2 (0,35 ml/ekor)
- E. Dosis 3 (0,40 ml/ekor)
- F. Dosis 4 (0,45 ml/ekor)

Rumus perlakuan dan pengulangan

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

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

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

$$5r-5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

(Suhaerah, 2014, h. 75).

keterangan

t = perlakuan

r = pengulangan

B. Subjek dan Objek Penelitian

Adapun subjek dan objek penelitian ini mencakup beberapa hal, yaitu:

1. Subjek penelitian

a. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah hewan uji mencit jantan (*Mus musculus*) sebanyak 25 ekor, didapatkan dari ibu Dewi yang beralamatkan di Jalan Pasar Baros, Kavling Cimahi.

b. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 24 ekor mencit jantan untuk 1 variabel bebas yaitu daun afrika, jumlah tersebut didapatkan berdasarkan perhitungan rumus pengulangan dengan 6 perlakuan dan 4 pengulangan.

2. Objek penelitian

Kadar glukosa darah mencit jantan (*Mus musculus*).

C. Rancangan Pengumpulan Data dan Instrument Penelitian

Data diperoleh setelah melakukan pengamatan dengan cara mengukur kadar glukosa darah mencit menggunakan Glukometer.

Tabel 3.3 Instrument Penelitian Mencit (*Mus musculus*) yang Diberi Perasan Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del)

NO	KELOMPOK	KADAR GLUKOSA DARAH																			
		SEBELUM PUASA (mg/dl)					SETELAH PUASA (mg/dl)					SETELAH DIBERI DEXTROSE MONOHIDRAT (mg/dl)					SETELAH DIBERI PERLAKUAN (mg/dl)				
		1	2	3	4	RATA - RATA	1	2	3	4	RATA - RATA	1	2	3	4	RATA - RATA	1	2	3	4	RATA - RATA
1	KONTROL NEGATIF																				
2	KONTROL POSITIF																				
3	DOSIS 1 0,30 ml/ekor																				
4	DOSIS 2 0,35 ml/ekor																				
5	DOSIS 3 0,40 ml/ekor																				
6	DOSIS 4 0,45 ml/ekor																				

D. Teknik Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian untuk menguji hipotesis lebih lanjut efektivitas perlakuan daun Afrika terhadap kadar glukosa dari semua kelompok berdasarkan perlakuan (pemberian kadar glukosa dan pemberian daun mengkudu) dianalisis menggunakan uji T, kemudian diolah dengan uji beda rata-rata menggunakan program *statistical and product service solution* (SPSS) 20.0 for windows dengan kriteria pengujiannya menurut Santoso (2007, h.229). Langkah –

langkah rancangan analisis data menggunakan *Statistical and Product Service Solution* (SPSS) diantaranya:

1. Menggunakan Uji T

- a. Hasil yang telah didapat dari penelitian dengan 6 perlakuan dan 4 perlakuan diolah menggunakan uji T.
- b. Pengujian ini dilakukan untuk menganalisis perbandingan sebelum dan sesudah.
- c. Buat file baru dan diberi nama efektivitas ekstrak air perasan daun afrika.
- d. Dari menu SPSS pilih menu *Analyze, Compare Means* kemudian pilih *Paired Samples T Test*
- e. Kemudian klik variabel sebelum dan sesudah kemudian pilih *Option*.
- f. Setelah itu akan muncul tampilan, lalu untuk *Confidence Interval* atau tingkat kepercayaan pilih nilai 95% sehingga taraf signifikansinya 5% kemudian klik OK untuk melihat outputnya.
- g. Kriteria keputusan jika statistik hitung (angka t output) > statistik tabel (tabel t) maka H_0 ditolak, jika sebaliknya statistik hitung < statistik tabel H_0 diterima.

E. Langkah-langkah Penelitian

1. Tahap Persiapan

- a. Mempersiapkan alat serta bahan yang diperlukan dalam penelitian.

Tablel 3.4 Daftar Alat Penelitian

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1.	Glukometer	Gluco Dr	1 buah
2.	Kandang mencit	Plastik 30cm x 16cm x 16cm	48 buah
3.	Blender	Elektrik	1 buah
4.	Neraca Hewan	Neraca ohaus manual	1 buah
5.	Sonde	Ukuran 1 ml	4 buah

6.	Beker glass	Ukuran 10 ml	10 buah
7.	Masker	Kain	1 buah
8.	Sarung tangan	Karet ukuran M	6 pasang
9.	Blood lanset	Jarum kecil	1 buah
10.	Pipet tetes	Ukuran kecil	3 buah
11.	Spoit	Ukuran 1ml	4 buah
12.	Batang pengaduk	Kecil	2 buah
13.	Saringan	Kain kerudung	1 buah
14.	Gunting	Stainless kecil	1 buah
15.	Alumunium foil	Tebal ukuran 30cm x 30cm	1 lembar
16.	Spatula	Kecil	2 buah
17.	Timbangan	Elektrik	1 buah
18.	Kertas label	Ukuran 1cm x 2cm	60 buah
19.	Kapas	Kapas lemak	1 bungkus
20.	Ram kawat	Kecil	12 meter
21.	Meja	Ukuran 35cm x 35cm	1 buah
22.	Spidol	Besar	4 buah
23.	Pensil	2B	1 buah
24.	Stripmeter	Gluko Dr	96 buah

Tabel 5. Daftar Bahan Penelitian

No	Nama Bahan	Spesifikasi	Jumlah
1.	Daun afrika	Daun ke 5-7 dari pucuk	0.5 kg
2.	Mencit jantan	Jantan dengan bobot 20- 30 g	25 ekor
3.	Pakan pur	B 551	3 kg
4.	Alkohol	70%	100 ml
5.	Glukosa	Dextrose monohidrat	1 kg
6.	Serbuk gergaji	Kayu	10 kg

7.	Aquadest	Air	500ml
8.	Air jernih	Air	5 liter

b. Persiapan kandang

Kandang yang dipersiapkan berupa bak plastik berukuran 30cm x 16cm x 16cm yang dilengkapi dengan penutup kandang berupa kawat. Kandang diberi alas berupa serbuk gergaji sebagai penghangat bagi mencit (*Mus musculus*). Didalam kandang disediakan botol minum berupa air jernih untuk mencit (*Mus musculus*).

c. Persiapan Hewan Coba (*Mus musculus*)

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat 20-30 gram. Sebelum masuk ke tahap perlakuan, seluruh hewan percobaan terlebih dahulu di aklimatisasi selama 7 hari. Setiap mencit ditempatkan dalam kandang yang berbeda. Penimbangan berat badan mencit (*Mus musculus*) dilakukan setelah aklimatisasi. Keadaan selama aklimatisasi dan perlakuan dikontrol pada kisaran lingkungan yang tetap dengan tujuan agar hewan uji mampu beradaptasi dengan kondisi yang akan ditempati selama percobaan. Selama percobaan suhu ruangan berkisar antara 23⁰C -27⁰C. Makanan yang diberikan berupa B 551 sebanyak 5 gram/ ekor mencit (*Mus musculus*) dan minum berupa air jernih yang diberikan secara *ad libitum*.

d. Persiapan Glukosa

Dosis glukosa yang dipakai menurut Nugrahani (2012, h. 53) pada uji toleransi glukosa oral pada manusia X dewasa (70kg) adalah 75 gram. Dengan faktor konversi 0,0026 maka perhitungan dosis glukosa untuk mencit (20 gram) adalah sebagai berikut:

$$\text{Dosis mencit} = 75 \times 0,0026$$

$$= 0,195 \text{ gram/20gr BB}$$

2. Tahap Pelaksanaan

a. Pembuatan air perasan daun afrika

1. Daun afrika disiapkan sebanyak 0.5 kg
2. Daun afrika kemudian dicuci bersih lalu dipotong kecil – kecil, setelah itu ditiriskan.
3. Daun afrika kemudian dibuat ekstrak murni berupa air perasan dengan menghaluskan daun afrika menggunakan blender.
4. Setelah halus kemudian diperas untuk mengambil saripati (air perasan) daun afrika tersebut.
5. Air perasan tersebut kemudian dibagi menjadi 4 kelompok dosis:
 - a) Dosis 1 sebanyak 0,30 ml.
 - b) Dosis 2 sebanyak 0,35 ml.
 - c) Dosis 3 sebanyak 0,40 ml.
 - d) Dosis 4 sebanyak 0,45 ml.

b. Cara pengambilan darah mencit

Ekor mencit (*Mus musculus*) dipegang menggunakan tangan kanan dan mencit (*Mus musculus*) dibiarkan mencengkeram lantai dengan kaki depannya. Setelah itu, tengkuk mencit dijepit dengan menggunakan tangan kiri yaitu diantara jari telunjuk dan jari tengah (bisa juga dengan jari telunjuk dan ibu jari). Ekor mencit kemudian dipindahkan dari tangan kanan ke jari kelingking tangan kiri sehingga kulit abdomennya menjadi tegang. Ujung ekor mencit kemudian ditusuk dengan menggunakan *blood lancet*, lalu darah diambil dengan menggunakan strip meter.

c. Pemeriksaan Glukosa Darah Metode Test Strip

Pada penelitian ini, peneliti melakukan pemeriksaan glukosa darah dengan menggunakan glukometer. Pemeriksaan kadar glukosa darah melalui pengambilan cuplikan darah dari vena di ekor mencit dengan menusuk sedikit ujung ekor. Tetesan darah pertama dibuang, tetesan darah berikutnya diperiksa dengan menggunakan glukometer. Reagen strip yang telah ditetesi darah vena dimasukkan ke alat pemeriksa, kemudian hasilnya dibaca pada layar dalam

waktu 11 detik. Nilai yang tertera adalah nilai konsentrasi kolesterol darah dalam mg/dl.

3. Tahap Perlakuan

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah mencit jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat 20-30 gram. Tahap perlakuan pada mencit (*Mus musculus*) dimulai dengan aklimatisasi hewan uji mencit selama 7 hari. Setelah itu dilakukan penimbangan berat badan dengan menggunakan neraca hewan. Kemudian untuk mengetahui kadar glukosa darah awal sebelum mencit diberikan beban glukosa diukur dahulu menggunakan glukometer. Lalu mencit dipuasakan (tidak makan tetapi tetap diberi minum) selama 12 jam. Setelah puasa, berat badan mencit ditimbang kembali dan diukur kadar glukosanya menggunakan glukometer. Selanjutnya mencit diberikan *glukosa* monohidrat secara oral dengan dosis 0,195g per 20g bb, lalu glukosa darah mencit kembali diukur menggunakan glukometer setelah 30 menit pemberian *glukosa* monohidrat. Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 1 ekor mencit. Dimana 5 kelompok perlakuan tersebut adalah sebagai berikut :

a. Kelompok mencit (*Mus musculus*) yang diberi perlakuan perasan daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del)

- Kelompok1 :kontrolnegatif (diberikanpakan normal dan air minum).
- Kelompok2 :kontrolpositif (diberikanpakan normal B 551danglukosa monohidrat).
- Kelompok3 :diberikanpakan normal B 551, *glukosa monohidrat*danair perasandaunafrikadengandosis30mlsecara oral).
- Kelompok4 :diberikanpakan normal B 551, *glukosa monohidrat*danair perasandaunafrikadengandosis35mlsecara oral).
- Kelompok5 :diberikanpakan normal B 551, *glukosa monohidrat*danair perasandaunafrikadengandosis40mlsecara oral).
- Kelompok6 :diberikanpakan normal B 551, *glukosa monohidrat*danair perasandaunafrikadengandosis45ml secara oral).

Setelah diberi perlakuan dosis yang berbeda-beda sesuai dengan kelompoknya masing-masing, mencit diukur kembali kadar glukosa darahnya pada menit ke 120.

b. Perhitungan Dosis

Dosis pada tikus adalah 100 mg daun/100 gBB. Dosis pada tikus 200 gram adalah 200 mg daun. Faktor konversi tikus ke mencit dengan berat ± 20 gram adalah 0,14. Mencit yang digunakan dalam penelitian beratnya ± 20 -25 gram. Volume lambung mencit $\pm 0,5$ ml.

Perhitungan :

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk mencit 25} &= 25/20 \times (0.14 \times 200 \text{ g}) \\ &= 35 \text{ gram} \end{aligned}$$

Jadi dosis 1 DM adalah 35/0,5 ml.