

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan yakni eksperimen dengan metode kuantitatif

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **1. Tempat penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Farmakognosi Prodi DIII Farmasi, Poltekkes Kemenkes Kupang.

##### **2. Waktu penelitian**

Penelitian akan dilakukan pada bulan Januari sampai bulan April tahun 2024.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi dalam penelitian ini adalah daun jambu biji yang tumbuh di sekitar Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur.

##### **2. Sampel dan teknik sampling**

Dilakukan pengambilan sampel secara *purposive* dengan kriteria daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) yang berwarna hijau dan segar dari Liliba, Kecamatan Oebobo, Nusa Tenggara Timur, yang akan dibuat dalam bentuk simplisia.

## D. Variabel Penelitian

### 1. Variabel bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah dosis infusa daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dengan dosis 20 % b/v, 40 % b/v, dan 60 % b/v.

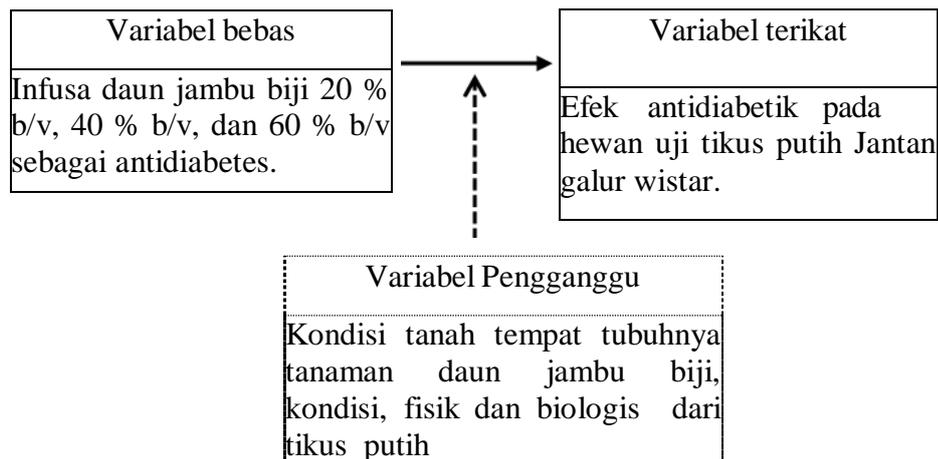
### 2. Variabel terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah efek antidiabetes infusa daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) terhadap tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar

### 3. Variabel pengganggu

Variabel pengganggu adalah kondisi tanah tempat tumbuhnya tanaman jambu biji, kondisi fisik dan kondisi biologis dari tikus putih Jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar.

## E. Kerangka Konsep



Keterangan :

————	Yang diteliti
-----	Tidak diteliti

## F. Definisi Operasional

**Tabel 1. Definisi Operasional**

No.	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala
1.	Infusa daun jambu biji	Hasil ekstraksi simplisia daun jambu biji ( <i>Psidium guajava L.</i> ) yang diperoleh menggunakan metode infusa dengan pelarut air pada suhu 90 <sup>0</sup> C, dan dipertahankan suhunya selama 15 menit.	–	Nominal
2.	Tikus putih jantan	Salah satu hewan uji yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antidiabetes infusa daun jambu biji. Tikus yang dipakai yakni tikus putih jantan galur wistar yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 100-250 gram dengan kondisi yang sehat.	Glukometer	Rasio
3.	Efek antidiabetes	Kemampuan infusa daun jambu biji ( <i>Psidium guajava L.</i> ) dalam menurunkan kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar setelah diberikan infusa daun jambu biji pada dosis yang berbeda lalu diukur menggunakan alat glukometer.	Glukometer	Rasio

## G. Alat dan Bahan

### 1. Alat

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, cawan porselin, kaca arloji, glukometer (*Gluko DR*) batang pengaduk, corong, beaker glass (*pyrex*), erlenmeyer (*pyrex*), gelas ukur (*pyrex*), pipet tetes (*pyrex*), tabung reaksi (*pyrex*), kertas perkamen, sendok tanduk, kain flanel, timbangan analitik (*pyrex 220-3 nm*), *hot plate*, blender, ayakan mesh 40, *stopwatch*, sonde oral, disppo 1 cc, tisu,

sarung tangan, panci infusa, termometer, kamera, aluminium foil, buku tulis dan pulpen.

## **2. Bahan**

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian adalah daun jambu biji, gula pasir, etanol 70 %, metformin 500 mg dan Na CMC.

## **H. Prosedur Penelitian**

### **1. Persiapan bahan uji**

Sampel daun jambu biji diambil di Liliba, Kecamatan Oebobo, Kota Kupang. Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari. Diambil daun jambu biji yang masih segar, berwarna hijau, tidak berlubang dan tidak kotor. Lalu disortasi basah dengan dicuci pada air yang mengalir, dirajang, dikeringkan, dilakukan sortasi kering, dan dihaluskan menjadi serbuk simplisia (Haerani *et al.*, 2023)

### **2. Pembuatan simplisia daun jambu biji**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yakni tanaman jambu biji (*Psidium guajava L.*) dengan mengambil bagian daunnya. Sampel diambil yang diambil berupa daun jambu biji yang masih hijau, segar dan tidak berlubang. Sampel diambil sebanyak 1 kg lalu disortasi dengan dicuci pada air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. Kemudian dirajang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sehingga terhindar dari sinar matahari langsung. Setelah kering, disortasi kembali dan dihaluskan yang bertujuan untuk memperbesar luas

permukaan kontak dengan pelarut. Serbuk simplisia yang didapat sebanyak 503 gram (Haerani *et al.*, 2023)

### **3. Pembuatan infusa daun jambu biji**

#### **a. Infusa daun jambu biji 20 % b/v**

Ditimbang daun jambu biji sebanyak 20 gram, kemudian dimasukkan ke dalam panci infus bagian atas, selanjutnya tambahkan aquades sebanyak 100 ml dan dipanaskan selama 15 menit terhitung saat suhu mencapai 90°C, sambil sesekali diaduk. Kemudian disaring selagi panas menggunakan kain flanel bersih dan ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas sampai mencapai volume 100 ml. Kemudian dimasukkan dalam botol kaca yang sudah diberi label (Nadifah *et al.*, 2015).

#### **b. Infusa daun jambu biji 40 % b/v**

Ditimbang daun jambu biji sebanyak 40 gram, kemudian dimasukkan ke dalam panci infus bagian atas, selanjutnya tambahkan aquades sebanyak 100 ml dan dipanaskan selama 15 menit terhitung saat suhu mencapai 90°C, sambil sesekali diaduk. Kemudian disaring selagi panas menggunakan kain flanel bersih dan ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas sampai mencapai volume 100 ml. Kemudian dimasukkan dalam botol kaca yang sudah diberi label (Nadifah *et al.*, 2015)

- c. Infusa daun jambu biji 60% b/v

Ditimbang daun jambu biji sebanyak 60 gram, kemudian dimasukkan ke dalam panci infus bagian atas, selanjutnya tambahkan aquades sebanyak 100 ml dan dipanaskan selama 15 menit terhitung saat suhu mencapai 90°C, sambil sesekali diaduk. Kemudian disaring selagi panas menggunakan kain flanel bersih dan ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas sampai mencapai volume 100 ml. Kemudian dimasukkan dalam botol kaca yang sudah diberi label (Nadifah *et al.*, 2015).

#### 4. Penentuan dosis infusa daun jambu biji

- a. Infusa daun jambu biji 20 %. Sebanyak 20 gram serbuk simplisia dalam 100 ml.

$$\frac{100 \text{ ml} \times 0,018}{200 \text{ g BB}} = 1,8 \text{ ml} / 200 \text{ g BB}$$

Volume pemberian terhadap tikus yakni 1,8 ml.

- b. Infusa daun jambu biji 40 %. Sebanyak 40 gram serbuk simplisia dalam 100 ml.

$$\frac{100 \text{ ml} \times 0,018}{200 \text{ g BB}} = 1,8 \text{ ml} / 200 \text{ g BB}$$

Volume pemberian terhadap tikus yakni 1,8 ml.

- c. Infusa daun jambu biji 60 %. Sebanyak 60 gram serbuk simplisia dalam 100 ml.

$$\frac{100 \text{ ml} \times 0,018}{200 \text{ g BB}} = 1,8 \text{ ml} / 200 \text{ g BB}$$

Volume pemberian terhadap tikus yakni 1,8 ml.

## 5. Identifikasi kandungan senyawa

### a. Uji alkaloid

Diambil infusa sebanyak 4 ml, ditambahkan 4 mL HCl 2 N, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan, dan disaring. Filtrat ditambah 3 tetes reagen mayer, jika terbentuk endapan putih atau keruh menandakan adanya alkaloid pada infusa tersebut. Selanjutnya untuk uji dengan reagen dragendroff, 4 ml infusa diuapkan di atas penangas air sampai pekat, ditambahkan 4 ml HCl 2 N, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring, ditambahkan 3 tetes dragendroff. Jika terjadi endapan merah sampai jingga maka infusa mengandung alkaloid. Demikian juga uji dengan reagen wagner, 4 ml infusa diuapkan di atas penangas air sampai pekat, ditambahkan 4 ml HCl 2 N, dipanaskan di atas tangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring, ditambahkan 3 tetes wagner dan jika terbentuk endapan coklat sampai kuning maka infusa positif mengandung alkaloid (Farah, *et al.*, 2019)

### b. Uji flavonoid

Diambil infusa sebanyak 5 mL, ditambahkan serbuk magnesium 0,5 gram kemudian dipanaskan kurang lebih selama 2 menit lalu disaring. Kemudian filtrat ditambahkan 3 tetes HCl pekat dan ditambah 2 mL etanol 70% kemudian diaduk. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna jingga sampai merah (Farah *et al.*, 2019)

c. Uji tanin

Diambil infusa sebanyak 4 mL, ditambahkan dengan 1-2 tetes pereaksi FeCl<sub>3</sub>. Diamati perubahan warna yang terjadi, apabila warna berubah menjadi biru atau hijau kehitaman maka sampel mengandung tannin (Simbolon *et al.*, 2021)

d. Uji saponin

Sampel sebanyak 5 ml ditambahkan dengan 10 ml akuades. Kemudian dikocok kuat selama kurang lebih 1 menit dan didiamkan selama 10 menit. Keberadaan senyawa saponin dalam sampel ditandai buih stabil selama 10 menit dengan tinggi 1-10 cm (Simbolon *et al.*, 2021)

e. Uji terpenoid

Sebanyak 5 mL sampel dimasukkan dalam gelas kimia, kemudian ditambah 2 mL kloroform, dan diaduk. Selanjutnya ditambahkan pereaksi Salkowsky (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat). Apabila terbentuk cincin berwarna merah menunjukkan adanya terpenoid (Simbolon *et al.*, 2021)

## 6. Pembuatan Na CMC 1%

Panaskan kurang lebih 100 ml air mendidih, timbang Na CMC sebanyak 1 gram kemudian masukkan Na CMC lalu tambahkan 50 ml air panas, aduk hingga campuran homogen, ditandai dengan campuran seperti gel dan nampak serbuk berwarna putih. Tambahkan kembali air panas sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume larutan menjadi 100 ml dan didinginkan (Djuwarno & Abdulkadir, 2019).

## 7. Penentuan dosis metformin

Dosis metformin yang biasa dikonsumsi orang dewasa adalah 500 mg, dan faktor konversi untuk manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus putih jantan dengan berat 200 gram adalah 0,018. Jadi dosis metformin yang diberikan pada tikus putih jantan dengan berat badan 200 gram adalah

$$\frac{500 \text{ mg} \times 0,018}{200 \text{ g}} = 9 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$$

Dibuat larutan stok 100 ml dengan konsentrasi = 9 mg/ml

$$\begin{aligned} \text{Jumlah metformin} &= \frac{100 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 9 \text{ mg} \\ &= 450 \text{ mg} \end{aligned}$$

Karena menggunakan tablet maka :

$$\text{Berat 20 tablet metformin} = 11,88 \text{ g} = 11.880 \text{ mg}$$

$$\text{Berat rata-rata} = \frac{11.880 \text{ mg}}{20} = 594 \text{ mg}$$

$$\text{Berat metformin yang ditimbang} = \frac{594 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 450 \text{ mg} = 534,6 \text{ mg}$$

## 8. Pembuatan suspensi metformin

Ditimbang obat metformin 500 mg sebanyak 20 tablet, kemudian dihitung bobot rata-rata lalu digerus sampai halus. Serbuk metformin ditimbang sebanyak 534,6 mg lalu disuspensikan ke dalam larutan Na CMC 1% sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga homogen. Lalu

dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 ml kemudian volumenya dicukupkan sampai 100 ml (Djuwarno & Abdulkadir, 2019).

### **9. Pemeliharaan hewan uji**

Hewan uji yang akan digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar dengan berat badan berkisar antara 100-250 gram sebanyak 15 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Sebelumnya, hewan uji dipelihara selama 10 hari dan kandangnya selalu dibersihkan.

### **10. Pengelompokan hewan uji**

Pada pengelompokan hewan uji ini digunakan rumus Frederer untuk menghitung berapa hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini. Rumus yang digunakan yaitu  $(n-1)(t-1) \geq 15$ , dengan n adalah jumlah hewan yang diperlukan dan t adalah jumlah kelompok perlakuan. Perhitungan jumlah tikus putih jantan yang digunakan dengan rumus Frederer adalah

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

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

$$(n-1)(4) = 15$$

$$n-1 = 15 : 4$$

$$n = 3,75 + 1 = 4,75 = 5 \text{ ekor}$$

(Rosa Yunilda, 2018)

## 11. Uji aktivitas antidiabetes

- a. Tikus putih jantan dipuaskan 10 jam setelah aklimatisasi selama  $\pm 2$  minggu di tempat penelitian. Kemudian ditimbang berat badan setiap tikus dan diukur kadar glukosa darah awal sebelum dilakukan pengujian. Kemudian 15 ekor tikus putih jantan dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yaitu K1, K2, K3, K4, dan K5. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus putih jantan.
- b. Setiap tikus diberi perlakuan dengan diinduksi glukosa 50% sebanyak 2 ml untuk menaikkan kadar gula darah pada tikus di atas batas normal. Setelah 30 menit diukur kadar gula darah tikus. Apabila kadar gula darah tikus  $> 109$  mg/dL maka tikus dianggap diabetes.
- c. Selanjutnya tikus diberikan perlakuan. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor tikus. K1 merupakan kelompok kontrol negatif, K2 sebagai kelompok kontrol positif, K3 diberikan infusa daun jambu biji (IDJB) 20 % b/v, K4 diberikan infusa daun jambu biji (IDJB) 40 % b/v, dan K5 diberi infusa daun jambu biji (IDJB) 60 % b/v. Kemudian setelah 30 menit, kadar gula darah diukur setiap 30 menit selama 2 jam.

### I. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji t berpasangan (*Paired T Test*) untuk mengetahui perbedaan kadar gula darah sebelum dan sesudah induksi glukosa. Uji *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas penurunan kadar gula darah dari setiap perlakuan dan dilanjutkan uji LSD

*(Least Significant Difference)* untuk mengetahui kelompok-kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan nyata dalam menurunkan kadar gula darah.