

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental terkait uji efektivitas kombinasi tepung ikan sepat rawa (*Trichopodus trichopterus*) dan glibenklamid pada mencit putih jantan.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Borneo Lestari dari bulan Desember 2021-Maret 2022.

3.3. Variabel Penelitian

3.3.1. Variabel bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas (*Independent Variable*) merupakan variabel yang kemungkinan berpengaruh dan berdampak terhadap hasil tertentu. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu pemberian variasi dosis dari kombinasi tepung ikan sepat rawa dengan glibenklamid.

3.3.2. Variabel terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat (*Dependent Variable*) merupakan variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu terjadi penurunan kadar glukosa darah setelah pemberian variasi dosis dari kombinasi tepung ikan sepat rawa dengan glibenklamid.

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat

Alat yang digunakan yaitu alat cek gula darah glukometer (Gluco Dr AGM2100®), sendok tanduk, batang pengaduk, erlenmeyer (Iwaki®), gelas beker (Iwaki®), gelas ukur (Iwaki®), kandang hewan, blender (Philips®), kapas, oven, alumunium foil, labu ukur 10 ml (Pyrex®), panci *stainles stell*, pisau, pipet tetes, sonde oral, silet, spuit 1 ml, strip glukosa (Gluco Dr®), timbangan analitik (Ohaus®), timbangan hewan (WH-B05®).

3.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung ikan sepat rawa (*Trichopterus*), aloksan, *aquadest*, glibenklamid 5 mg, Na-CMC 0,5 %, infus NaCL.

3.5. Hewan Uji

Hewan uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan. Hewan percobaan berkisar antara umur 2-3 bulan dengan bobot 20-35 g sebanyak 25 ekor dengan kondisi sehat. Hal ini bertujuan untuk memperkecil perbedaan respon yang ditunjukkan oleh hewan uji (Muhammad dkk, 2012). Jumlah sampel dalam tiap kelompok pada penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus *Federer* (Kusuma dkk, 2016)

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

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

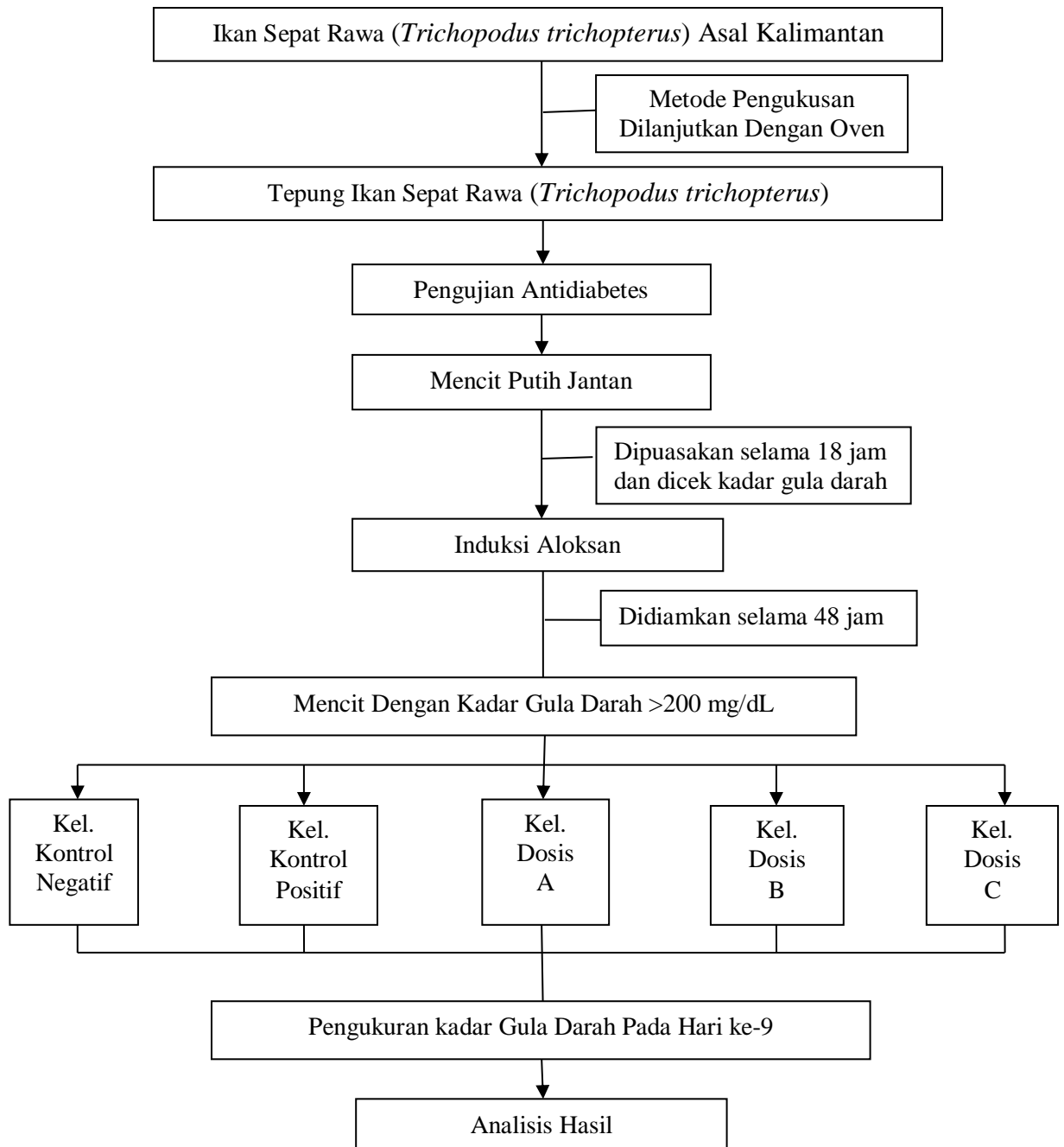
$$n \geq 5$$

Keterangan :

n : Jumlah Sampel

t : Jumlah Kelompok

3.6. Kerangka Penelitian



Gambar 3. Konsep Penelitian

Keterangan :

Kelompok kontrol negatif : Na-CMC 0,5%

Kelompok kontrol positif : Glibenklamid 0,013 mg/20g BB mencit

Kelompok dosis A : Tepung Ikan Sepat Rawa 300 mg/KgBB Kombinasi Glibenklamid

Kelompok dosis B : Tepung Ikan Sepat Rawa 400 mg/KgBB Kombinasi Glibenklamid

Kelompok dosis C : Tepung Ikan Sepat Rawa 500 mg/KgBB Kombinasi Glibenklamid

3.7. Prosedur Penelitian

3.7.1. Pengumpulan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan sepat rawa (*Trichopodus trichopterus*) dengan kriteria ikan segar yang diperoleh didaerah Amuntai Kalimantan Selatan.

3.7.2. Determinasi Ikan Sepat Rawa (*Trichopodus trichopterus*)

Determinasi ikan sepat rawa (*Trichopodus trichopterus*) dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas dari ikan sepat rawa asal Kalimantan Selatan di Laboratorium Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor.

3.7.3. Pembuatan *Ethical Clearance*

Pengajuan surat permohonan kepada komite etik penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat (ULM).

3.7.4. Pengumpulan Sampel Ikan Sepat Rawa (*Trichopodus trichopterus*)

Pengambilan sampel ikan sepat rawa (*Trichopodus trichopterus*) dilakukan di kota Amuntai Kalimantan Selatan, kriteria pengambilan sampel yaitu ikan segar.

3.7.5. Pembuatan Tepung Ikan Sepat Rawa (*Trichopodus trichopterus*)

Ikan sepat rawa (*Trichopterus*) diambil dari daerah Amuntai Kalimantan Selatan. Tahap pertama ikan sepat rawa (*Trichopterus*) dicuci hingga bersih dengan air mengalir kemudian dibersihkan dan dibuang isi perutnya, mata, sirip dan diambil bagian badannya. lalu dikukus dengan suhu $\pm 90^{\circ}\text{C}$ selama 20 menit. Setelah selesai dikukus

lalu dibangkit dan dioven sampai kering dengan suhu $\pm 70^{\circ}\text{C}$. Setelah kering ikan sepat rawa (*Trichopterus*) kemudian dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk halus (Putra dkk, 2017).

3.7.6. Pembuatan Kontrol Negatif Na-CMC 0,5%

Pembuatan suspensi Na-CMC 0,5% sebanyak 1 g, Na-CMC dileburkan dalam mortir yang berisi 10 ml *aquadest* panas, dikembangkan selama kurang lebih 15 menit lalu dihomogenkan hingga diperoleh massa yang transparan. Setelah itu ditambahkan *aquadest* hingga volumenya dicukupkan dengan *aquadest* hingga 200 ml (Wunu dkk, 2019).

3.7.7. Pembuatan Kontrol Positif Glibenklamid 5 mg

Glibenklamid dihaluskan didalam mortir, kemudian ditimbang 20,96 mg. Dimasukkan ke dalam gelas beker ditambahkan Na-CMC 0,5% sebanyak 10 ml dengan labu ukur sedikit demi sedikit aduk hingga homogen (Wunu dkk, 2019).

3.7.8. Persiapan Hewan Uji

Sebelum penelitian dimulai hewan uji diadaptasikan selama tujuh hari kemudian mencit putih jantan dipuasakan selama 18 jam dengan dan ditimbang bobot masing masing. Hari ke 0 kadar glukosa darah nya diukur menggunakan glukometer dan dijadikan sebagai kadar glukosa awal kemudian dilakukan induksi diabetes menggunakan aloksan secara intraperitoneal. Setelah 48 jam diukur lagi kadar gula darahnya menggunakan glukometer. Mencit yang

menunjukkan kadar glukosa darah >200 mg/dL diberikan sediaan peroral sesuai dengan pembagian kelompok dan sediaan secara berturut-turut selama enam hari. Masing-masing terdiri dari lima ekor yaitu diberi kontrol positif, kontrol negatif, dosis uji 1, dosis uji 2, dan dosis uji 3 (Susilawati dkk, 2016).

Hari ke 9 dilakukan pengukuran kadar gula darah menggunakan glukometer. Dari data kadar gula darah yang diperoleh, dihitung persentase penurunan kadar gula darah dari masing-masing kelompok uji (Susilawati dkk, 2016). Rumus untuk menghitung persentase penurunan kadar gula darah adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ penurunan KGD} = \frac{\text{Data KGD hari ke-2} - \text{Data KGD hari ke-9}}{\text{Data KGD hari ke-2}} \times 100 \%$$

Keterangan :

KGD = Kadar gula darah

3.7.9. Uji Antidiabetes

Dikelompokkan menjadi lima kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dosis uji A, dosis uji B, dan dosis uji C. Masing masing kelompok diberi sediaan berikut yaitu :

- (1) Kelompok kontrol negatif, diberikan suspensi Na-CMC 0,5%.
- (2) Kelompok kontrol positif, diberikan glibenklamid dalam dosis 5 mg dalam suspensi Na-CMC 0,5%.
- (3) Kelompok uji hewan A, diberikan tepung ikan sepat rawa dengan dosis 300 mg/kgBB kombinasi glibenklamid dalam suspensi Na-CMC 0,5%.

- (4) Kelompok uji hewan B, diberikan tepung ikan sepat rawa dengan dosis 400 mg/kgBB kombinasi glibenklamid dalam suspensi Na-CMC 0,5%.
- (5) Kelompok uji hewan C, diberikan tepung ikan sepat rawa dengan dosis 500 mg/kgBB kombinasi glibenklamid dalam suspensi Na-CMC 0,5%.

Pada hari ke 9 setelah diberi perlakuan. Setelah didapat kadar gula darah lalu dihitung persentase penurunan kadar gula dari masing masing kelompok uji. Data hasil % penurunan Kadar Gula Darah (KGD) dianalisis menggunakan SPSS (Susilawati dkk, 2016).

3.8. Pengolahan Data dan Analisis

3.8.1. Pengolahan Data

Teknik pengumpulan data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah observasi eksperimental. Observasi merupakan teknik pengumpulan data dengan melakukan pengamatan proses yang sedang berlangsung. Observasi dilakukan dengan dua cara yaitu mengamati dan melakukan pencatatan hasil secara teliti.

3.8.2. Analisis Data

Data hasil % penurunan kadar gula darah yang didapat dianalisis menggunakan SPSS. Uji awal berupa uji normalitas dan homogenitas, apabila data yang didapat normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu *One Way ANOVA*. Apabila data data didapat tidak normal dan homogen maka dilanjutkan dengan

uji nonparametrik berupa *Kruskal-Wallis* Test untuk melihat ada tidaknya perbedaan antar kelompok perlakuan. Apabila terdapat perbedaan dilanjutkan Uji *Mann-Whitney* untuk melihat kelompok mana yang berbeda secara signifikan (Susilawati dkk, 2018).