

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap kadar gula darah dan kadar transaminase pada tikus (*Rattus norvegicus*) diabetes yang diinduksi dengan aloksan ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah tikus P0 (diabetes tanpa pemberian ekstrak buah jambu biji) dan tikus diabetes yang diberi ekstrak buah jambu biji dengan 3 dosis yang berbeda.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini meliputi :

1. Variabel bebas : ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava*) dengan dosis yang berbeda.
2. Variabel terikat : variabel yang diukur adalah kadar glukosa darah dan kadar transaminase pada hepar dan serum tikus
3. Variabel kendali : jenis tikus yang digunakan adalah tikus jantan strain Wistar yang berumur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 150 gr dan dikondisikan menjadi diabetes dengan cara diinduksi dengan aloksan.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai Juni 2010, bertempat di Laboratorium Biosistem Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Populasi dan Sampel

Hewan uji yang digunakan yaitu tikus (*Ratus norvegicus*) strain Wistar jenis kelamin jantan, umur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 150 gr sebanyak 30 ekor didapat dari Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga (UNAIR) Surabaya.

3.5 Alat dan bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu kandang hewan coba (bak plastik), alat pencekok oral (sonde), beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, timbangan digital, spektrofotometer, spuit, seperangkat alat bedah, tabung ependorf.

3.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu buah jambu biji (*Psidium guajava*), aloksan dengan kadar 150 mg/kg bb, ALT/GPT reagen kit, NaCl fisiologis, Na CMC, aquadest, etanol 96 % dan eter.

3.6 Prosedur penelitian

3.6.1 Persiapan hewan coba

Sebelum penelitian dimulai, dipersiapkan tempat pemeliharaan hewan coba terlebih dahulu, yaitu kandang (bak plastik), sekam, tempat makan, tempat minum dan pakan tikus. Setelah itu dilakukan aklimasi di laboratorium selama 1 minggu. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol tikus normal (tidak diabetes) dan kelompok tikus diabetes. Untuk menjadi diabetes, tikus diinduksi dengan aloksan monohidrat secara intravena dengan dosis tunggal untuk membuat diabetes (150 mg/kg BB). Setelah 48 jam, tikus dipuaskan selama 18 jam, kemudian diperiksa kadar glukosa darahnya dan tikus yang telah menjadi diabetes, dibagi menjadi 4 kelompok.

Pembuatan larutan aloksan monohidrat dilakukan sesaat sebelum injeksi, yaitu dengan melarutkan 540 mg aloksan dalam 100 ml NaCl fisiologis sampai homogen. Kemudian masing-masing tikus diinjeksi sebanyak 1 ml aloksan secara intravena.

3.6.2 Pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava*) dilakukan melalui tahapan-tahapan sebagai berikut :

- a. Menyiapkan buah jambu biji
- b. Dilakukan pengirisan daging buah jambu biji sehingga memperoleh irisan yang tipis
- c. Dilakukan pengeringan dengan cara dimasukan ke dalam oven
- d. Buah jambu biji yang sudah kering kemudian diblender
- e. Buah jambu biji yang telah diblender (endapan) dimaserasi dengan pelarut ethanol 96 % sampai residu berubah menjadi bening, sambil sesekali diaduk
- f. Ekstrak yang dihasilkan disaring dengan corong bunchner
- g. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60 ° C sampai diperoleh ekstrak kental

3.6.3 Persiapan perlakuan

3.6.3.1 Pengukuran kadar glukosa darah

Sebelum perlakuan pemberian ekstrak buah jambu biji, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah untuk memastikan 25 tikus telah mengidap diabetes. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan cara mengambil darah tikus melalui ekor yang dibersihkan dengan alkohol terlebih dahulu. Kemudian darah ditetaskan pada strip glukometer dan dimasukan glukometer untuk dibaca kadar glukosanya.

3.6.3.2 Perhitungan dosis buah jambu biji

Menurut Burhan (2008), bahwa kebutuhan manusia akan buah jambu biji perhari adalah sebanyak 90 gram. Kusumawati (2004) menyatakan bahwa faktor konversi dari manusia ke tikus dengan berat badan untuk manusia 70 kg dan berat badan tikus 200 gram adalah 0,018. Jadi $90 \text{ gram} \times 0,018 = 1,62 \text{ gram}$.

Pada penelitian ini menggunakan tiga dosis yang berbeda yaitu :

- a. Dosis I : 0,81 gram/tikus/hari
- b. Dosis II : 1,62 gram/tikus/hari
- c. Dosis III : 3,24 gram/tikus/hari

3.6.3.3 Pembagian kelompok sampel

Setelah 24 tikus positif diabetes, tikus dibagi menjadi 4 kelompok, yang terdiri dari :

- a. Kelompok P0 : tikus diabetes dengan induksi aloksan tanpa diberi ekstrak buah jambu biji.
- b. Kelompok P1: tikus diabetes dan diberi ekstrak buah jambu biji dosis I.
- c. Kelompok P2 : tikus diabetes dan diberi ekstrak buah jambu biji dosis II.
- d. Kelompok P3 : tikus diabetes dan diberi ekstrak buah jambu biji dosis III.

3.6.4 Kegiatan penelitian

3.6.4.1 Perlakuan pemberian ekstrak buah jambu biji

Pemberian ekstrak buah jambu biji untuk perlakuan, ditimbang 500 mg CMC Na kemudian ditaburkan pada akuades panas, diaduk sampai CMC Na homogen. Kemudian, ditambah dengan aquadest sampai volumenya 100 ml. Setelah itu diambil 6 ml CMC Na dan dicampur dengan ekstrak yang akan digunakan pada masing-masing dosis. sedangkan untuk sediaan kelompok P0 dan tikus kontrol hanya diberi suspensi CMC Na 0,5 % tanpa ekstrak buah jambu biji. Ekstrak buah jambu biji diberikan pada tikus perlakuan setiap hari sesuai dengan dosis I, II dan III selama 30 hari. Kadar glukosa darah sesudah perlakuan diukur pada

hari ke-1 dan 30. Dasar pemberian 30 hari dikarenakan pada jangka waktu tersebut sel-sel yang mengalami kerusakan sudah mulai melakukan regenerasi meskipun belum pada tahap penyembuhan atau pengembalian struktur sel pada keadaan normal.

3.6.4.2 Pengukuran GPT dan SGPT

3.6.4.2.1 Pengukuran GPT

Mengambil reagen 1 dan reagen 2 dengan perbandingan (4 : 1) kemudian mencampurkan kedua reagen tersebut hingga homogen. Selanjutnya larutan monoreagen tersebut dimasukkan dalam botol dan ditutup dengan aluminium foil. Larutan monoreagen ini dapat disimpan sebagai stok pada suhu 2-8 °C. Mengambil supernatant hepar sebanyak 100 µl dan ditambahkan dengan 1000 µl larutan monoreagen kemudian dihomogenkan. Selanjutnya mengukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm. Pembacaan absorbansi dilakukan setiap menit selama 3 menit.

3.6.4.2.2 Pengukuran SGPT

Pada pengukuran kadar SGPT, didahului dengan pengambilan serum melalui jantung (intra cardial) dengan alat suntik sebanyak ± 1 ml. Darah yang telah diambil dimasukkan dalam tabung venoject yang bersih dan kering, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum yang terpisah diambil dan dimasukkan dalam tabung lainnya yang bersih dan kering dan ditutup. Jika serum tidak langsung diperiksa, maka harus disimpan pada lemari es suhu 2° C-8 °C selama maksimal 4 hari, karena jika lebih dari 4 hari akan mengalami degradasi aktifitas sebesar 10 %.

Pengukuran aktivitas SGPT dilakukan pada masing-masing kelompok perlakuan setelah pemberian ekstrak buah jambu biji selama 30 hari. Pembuatan larutan pereaksi dengan melarutkan tablet reagen dalam larutan buffer dengan perbandingan 1 : 10. Pengukuran aktifitas enzim SGPT dilakukan dengan mengambil serum sebanyak 50 µl dan ditambahkan 500 µl larutan pereaksi. Kemudian dihomogenkan dan ditunggu selama 1 menit sebelum

diukur. Setelah 1 menit, diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm, dan dicatat penurunan absorbansinya setiap menitnya selama 3 menit.

3.7 Data dan teknik pengambilan data

3.7.1 Teknik pengambilan data kadar GPT dan SGPT

Data dalam penelitian ini berupa kadar transaminase (GPT dan SGPT) pada hepar tikus. Data yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabel berikut :

Tabel 3.7.1.1 Kadar GPT hepar tikus

Perlakuan	Kadar GPT (U/l)				
	1	2	3	4	5
P0					
PI					
P2					
P3					
K					

Tabel 3.7.1.3 Kadar SGPT pada tikus

Perlakuan	Kadar SGPT (U/l)				
	1	2	3	4	5
P0					
P1					
P2					
P3					
K					

Keterangan :

P0 : Kelompok tikus diabetes dengan diinduksi aloksan tanpa diberi ekstrak buah jambu biji.

PI : Kelompok tikus diabetes dan diberi ekstrak buah jambu biji dosis I

P2: Kelompok tikus diabetes dan diberi ekstrak buah jambu biji dosis II

P3 : Kelompok tikus diabetes dan diberi ekstrak buah jambu biji dosis III

K : Kelompok tikus normal (tanpa perlakuan)

3.8 Analisa data

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah jambu biji terhadap kadar gula darah tikus diabetes mellitus yang diinduksi aloksan, data hasil pengamatan yang sudah ditabulasi diuji statistik dengan ANKOVA (*Analysis Of Covariance*). Apabila terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan pengujian BNT dengan parameter $\alpha = 1\%$.

Sedangkan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah jambu biji terhadap kadar transaminase hepar tikus diabetes mellitus yang diinduksi aloksan, data hasil pengamatan yang sudah ditabulasi diuji statistik dengan uji ANOVA (*Analysis Of variance*). Jika hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan signifikan maka dilanjutkan dengan uji lanjut BNT dengan parameter $\alpha = 1\%$