

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni - Juli 2015 di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi dan pembuatan ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) yang dilakukan di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : kandang mencit yang terbuat dari kawat dan bak plastik sebanyak 24 kandang, tempat makanan dan minuman mencit, kertas label untuk memberikan nomor pada kandang mencit, spuit merupakan alat untuk mencekok mencit, pipet tetes, erlenmeyer untuk mengukur larutan, sonde lambung, test skrip, dan *glucometer* alat mengecek kadar gula darah. *Glucometer* yang digunakan yaitu *GlucoDR Blood Glucose Test Meter*, model AGM-2100, *test range* 20 ~ 600 mg/dl, dan dapat terbaca dalam waktu 11 detik.

Bahan yang digunakan yaitu : 24 ekor mencit jantan yang berumur 3-4 bulan dengan berat badan 40 gr, ekstrak rimpang rumput teki, obat amaryl, pelet ayam

sebagai pakan mencit, aquabides, aloksan adalah senyawa yang sering digunakan untuk membuat mencit diabetes, metanol.

C. Prosedur Penelitian

Hewan uji yang digunakan sebanyak 24 ekor mencit jantan yang berumur 3-4 bulan, dengan berat badan rata-rata 30- 40 gram yang diperoleh dari Palembang. Dilakukan aklimatisasi dengan tujuan untuk penyesuaian mencit dengan lingkungan selama satu minggu dalam kondisi laboratorium.

Mencit dipelihara pada kandang yang berbeda-beda. Masing-masing kandang berisi 1 ekor jantan. Kandang yang digunakan berukuran 15x15 cm. Makanan yang diberikan berupa pelet ayam, dan minum berupa air putih yang diletakkan di dalam botol plastik yang disumbat pipa alumunium. Setiap mencit diberi perlakuan secara oral (dicekok). Kemudian mencit dipuasakan selama 8 jam sebelum dilakukan perlakuan, dengan cara mengeluarkan sekam dan makanannya namun mencit tetap diberi air (Parveen, *et al.*, 2007).

Darah mencit diambil pada bagian ekor dengan cara dipotong sedikit pada ujung ekor, tetapi dibersihkan terlebih dahulu dengan kapas yang telah diberi alkohol 70%. Darah diletakkan pada *test strip*, kemudian *strip* dimasukkan ke dalam alat *glucometer* agar kadar gula darah dapat terbaca. Kadar gula darah langsung dapat terbaca dalam waktu \pm 11 detik, dengan satuan mg/dl. Strip hanya digunakan untuk sekali pakai. Pemeriksaan gula dilakukan setelah aklimatisasi yaitu pada hari ke-8, kemudian diberi aloksan agar mencit hiperglikemik selama 6

hari setiap 2 hari kemudian hari ke-14 dilakukan pemeriksaan darah diabetes, dan hari ke-28 yaitu setelah mencit diberikan perlakuan seperti diberikan ekstrak rumput teki serta obat amaryl sebagai kontrol. Hal ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan keadaan gula darah normal, saat diabetes, dan pada saat kadar gula darah diberikan perlakuan terhadap obat amaryl dan ekstrak rimpang rumput teki.

D. Pembuatan Ekstrak Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L)

Rumput teki diperoleh dari Politeknik Negeri Lampung. Rumput teki yang diperoleh dibersihkan dengan cara dicuci, kemudian dijemur hingga kering. Akar serabut yang ada pada rumput teki dipotong sehingga hanya tertinggal rimpangnya. Setelah itu dilakukan pembuatan ekstrak rumput teki dengan cara digiling sehingga menghasilkan serbuk rumput teki. Dari serbuk rumput teki tersebut kemudian dibuat ekstrak dengan menggunakan methanol sebagai pelarutnya, dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 35°C dengan kecepatan 60 rpm, dengan menggunakan waktu selama 1 jam. Sehingga menghasilkan ekstrak rumput teki.

E. Pemberian Perlakuan

1. Induksi Aloksan

Setiap hewan uji ditimbang terlebih dahulu untuk menentukan pemberian dosis aloksan. Dosis yang digunakan sekitar 150 mg/kg berat badan mencit.

Penginduksian aloksan lebih baik dilakukan pada suhu yang dingin begitu juga dengan penyimpanan aloksan, karena suhu yang dingin dapat menjaga aloksan agar tidak rusak. Setelah ditimbang aloksan dilarutkan pada 0,9% NaCl kemudian dikonversikan ke mencit berdasarkan berat badan masing-masing mencit.

2. Hiperglikemik Pada Mencit

Mencit diinduksi aloksan pada hari ke-8, mencit dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu 1, 2, 3, dan 4 yang setiap kelompok terdiri dari 6 ekor mencit. Pemberian aloksan dilakukan 2 hari sekali selama 6 hari. Setiap mencit diberi aloksan sebanyak 0,15 mg/g BB menggunakan NaCl sebagai pelarut sebanyak 0,9% dan *syringe* 1 ml secara ip (intraperitoneal) pada bagian rongga perut. Penginduksian aloksan harus steril, pada bagian intraperitoneal dibersihkan dengan cara diusap menggunakan kapas yang telah diberi alkohol 70%. Kemudian larutan aloksan yang terdapat pada *syringe* dapat diinjeksikan pada mencit.

3. Pemberian Ekstrak Rimpang Rumput Teki

Menurut Sa'roni dan Wahjoedi (2002), perlakuan yang diberikan pada tikus yaitu:

- a) Kelompok kontrol diberi 1 ml/100 grBB aquades (A)
- b) Kelompok dosis 11,25 mg/ 100 gr BB dalam 1 ml/100 grBB aquabides (B)
- c) Kelompok dosen 112,5 mg/100 grBB dalam 1 ml/100 grBB aquades (C)

d) Kelompok dosis 337,5 mg/100 grBB dalam 1 ml/100 grBB aquades (D)

Dosis yang diberikan pada mencit dengan berat rata-rata 30 - 40 gram ($\pm 2,5$ x BB tikus), menggunakan perbandingan 1, 10, dan 30 untuk setiap perlakuan.

Dosis ekstrak rumput teki yang diberikan pada mencit adalah :

Perhitungan dosis pergram berat badan tikus yang dikalikan berat badan

mencit. Dosis tikus 11,25 mg/100gr BB dalam 1ml/100grBB

$$= \frac{11,25 \text{ mg}}{100 \text{ g}} : \frac{100 \text{ g}}{100 \text{ g}}$$

Dosis per gram berat badan = 0,0001125 g

Konversi ke mencit = per gram berat badan x berat badan mencit

$$= 0,0001125 \text{ g} \times 40 \text{ g} = 0,0045 \text{ g}$$

$$= 4,5 \text{ mg}$$

Perbandingan 1 : P1 = 4,5 g : 1 = 4,5 mg

Perbandingan 10 : P2 = 4,5 g : 10 = 45 mg

Perbandingan 30 : P3 = 4,5 g : 30 = 135 mg

Persen pemberian ekstrak ditentukan berdasarkan rute pemberian obat yang akan digunakan, untuk rute oral sebanyak 1%. Menurut Yorijuly (2012) rumus

perhitungan dosis penggunaan ekstrak rimpang rumput teki untuk mencit yaitu :

Volume pemberian = berat x persen pemberian

$$= 40 \text{ gram} \times 1 \%$$

$$= 40 \text{ gram} \times (1 \text{ ml}/100 \text{ gram})$$

$$= 0,4 \text{ ml}$$

F. Perhitungan Dosis Obat Amaryl

Dosis yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan pemakaian yang dikonsumsi oleh manusia. Berat badan pada manusia dewasa 50 kg yang mengkonsumsi obat dengan dosis 1500 mg yang biasanya diminum 3 kali sehari (Katzung, 1998).

Kemudian dari berat badan manusia dikonversi ke mencit 40 g.

$$\begin{aligned} \text{Berat badan manusia } 50 \text{ kg} &= 50000 \text{ g} \\ &= \frac{0,5 \text{ g}}{50000 \text{ g}} = 0,00001 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis per gram berat badan} &= 0,00001 \text{ g} \times 40 \text{ g} = 0,0004 \text{ g} \\ &= 0,4 \text{ mg} \end{aligned}$$

Untuk membuat larutan amaryl diperlukan dosis 0,4 mg yang dilarutkan dalam 100 ml aquabides.

G. Perlakuan Untuk Mencit Hiperglikemik

Pemberian obat dan ekstrak rumput teki terhadap mencit dengan cara dicekok menggunakan alat berupa sonde lambung. Terdapat 4 (empat) kelompok perlakuan, sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol diberi amaryl dengan dosis 0,4 mg dalam 0,4 ml/100 gr BB aquabides (A)
2. Kelompok dosis ekstrak rumput teki 4,5 mg/ 40 gr BB dalam 0,4 ml/100 gr BB aquabides (B)
3. Kelompok dosis ekstrak rumput teki 45 mg/40 grBB dalam 0,4 ml/100 gr BB aquabides (C)

4. Kelompok dosis ekstrak rumput teki 135 mg/40 grBB dalam 0,4 ml/100 gr BB aquabides (D)

H. Analisis Kadar Gula Darah

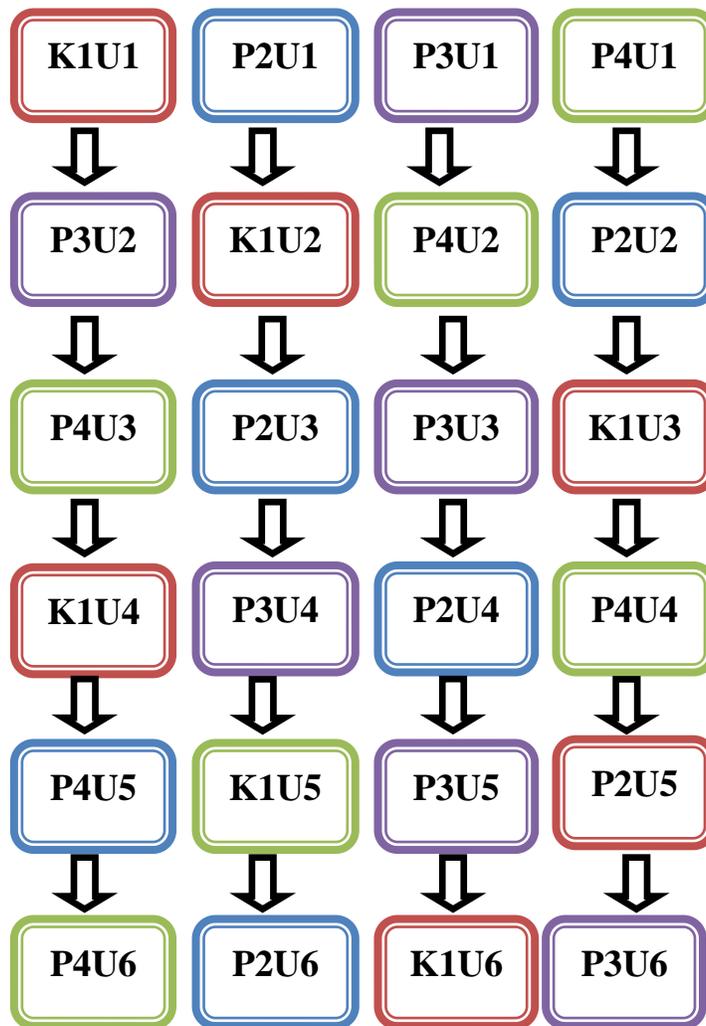
Mencit didiabeteskan terlebih dahulu menggunakan aloksan sebanyak 150 mg/kg berat badan yang diberikan setiap 2 hari sekali selama 6 hari. Aloksan berfungsi untuk menaikkan kadar glukosa darah. Pemeriksaan glukosa darah dilakukan pada hari ke 8, 14, dan 28. Mencit memiliki kadar gula darah normal antara 71 – 124 mg/dl. Mencit dipuaskan terlebih dahulu sebelum dilakukan pengukuran glukosa darah, pada saat mencit dipuaskan, sekam yang ada di kandang dikeluarkan agar tidak dimakan oleh mencit. Darah diambil dari bagian ekor yang terdapat banyak pembuluh darah vena. Sebelum dipotong, ekor terlebih dahulu direndam pada air hangat \pm 1 menit. Darah yang keluar pertama dibersihkan dengan kapas/tisu, kemudian darah yang keluar selanjutnya diletakkan pada *strip*. Pemeriksaan kadar gula darah dilakukan dengan alat *glucometer*, dan kadar glukosa darah dapat terbaca dalam waktu \pm 11 detik.

I. Pengumpulan Data

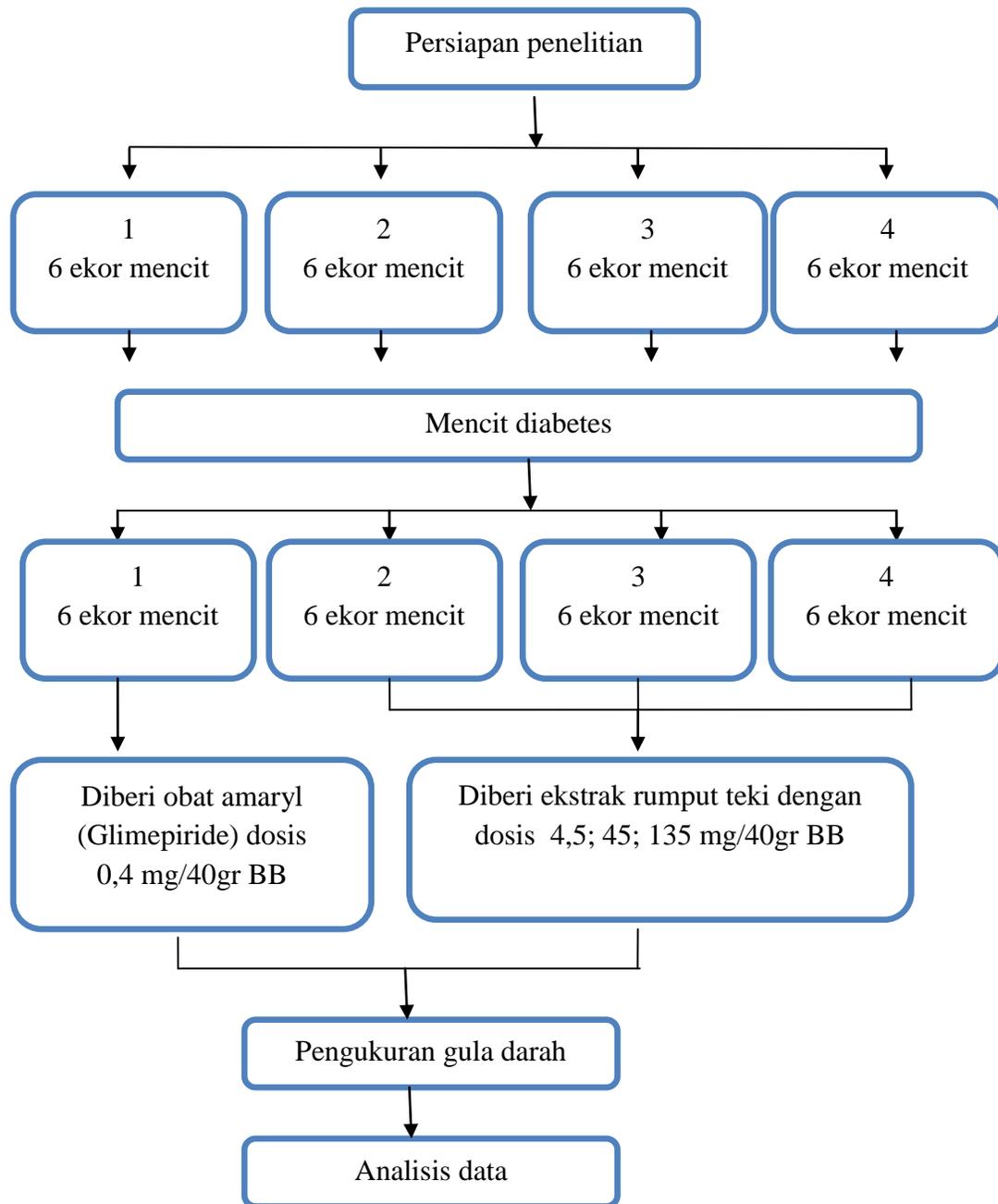
Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar gula darah pada mencit (*Mus musculus* L.) jantan.

J. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan, yang masing – masing perlakuan dilakukan enam kali pengulangan. Data yang telah diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila ada perbedaan nyata akan dilanjutkan menggunakan uji BNT (beda nyata terkecil) pada taraf 5% sebagai perbandingan dari masing-masing perlakuan. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat bagan di bawah ini :



Keterangan : K = Kontrol (K1), P = Perlakuan yang digunakan (P2, P3, P4), dan
U = Ulangan yang digunakan (U1, U2, U3, U4, U5, U6)

K. Diagram Alir

Gambar 3. Diagram alir penelitian