

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah suatu keseluruhan unit atau individu yang digunakan sebagai ruang lingkup yang akan diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu obat golongan Sulfonilurea Glibenclamide (generasi 2) dan Glimepiride (generasi 3) dan Gliclazide (Generasi 2) yang diperoleh dari Apotek Ghani Farma yang terletak di Kelurahan Gilingan, Kecamatan Banjarsari, Kota Surakarta, Provinsi Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel merupakan sebagian kecil dari populasi yang akan digunakan untuk penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan obat tablet glibenclamide, glimepiride, dan gliclazide yang telah diambil dari populasi tersebut.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama yang pertama dalam penelitian ini adalah obat golongan sulfonilurea glibenclamide, glimepiride dan gliclazide

Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas penurunan antidiabetic dengan menggunakan obat golongan sulfonilurea glibenclamide, glimepiride, dan gliclazide.

Variabel utama yang ketiga dalam penelitian ini adalah metode tes toleransi glukosa pada hewan uji.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel yang diteliti terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

2.1. Variabel bebas. Variabel bebas pada penelitian ini adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah obat tablet golongan sulfonilurea yang diujiakan pada hewan uji mencit (*Mus musculus*).

2.2. Variabel tergantung. Variabel yang dimaksud pada penelitian ini adalah titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam penelitian dan merupakan akibat dari variabel bebas penelitian. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah aktivitas antidiabetik dari golongan obat sulfonilurea dengan metode tes toleransi glukosa.

2.3. Variabel terkendali. Merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung selain variabel bebas. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kondisi laboratorium, kondisi fisik hewan uji yang meliputi, berat badan, usia, dan jenis kelamin.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, obat golongan sulfonilurea glibenclamid, gliclazide, dan glimepiride adalah suatu obat yang digunakan untuk membantu menurunkan kadar gula darah, diperoleh dari Apotek Ghani Farma, kelurahan Gilingan, Kecamatan Banjarsari, Kota Surakarta, Jawa Tengah .

Kedua, hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan (*Mus musculus*).

Ketiga, aktivitas antidiabetik adalah kemampuan obat golongan sulfonilurea glibenclamide, gliclazide, dan glimepiride dalam mengurangi kadar gula darah dengan respon penurunan kadar gula darah pada mencit setelah diberi perlakuan dengan metode tes toleransi glukosa.

Keempat, dosis efektif adalah dosis terkecil yang dapat memberikan efek antidiabetik dengan kadar gula darah terkendali ≥ 126 mg/dl (kondisi puasa), dan ≥ 200 mg/dl (sewaktu).

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang dilakukan untuk penelitian antara lain alat timbang digital, mortir dan stemfer, gelas ukur, jarum oral (sonde oral), spuit, spidol permanen, sarung tangan, masker, alcohol swab, kandang hewan (pemeliharaan), alat pengamatan glucometer (Easy Touch) dan stip test glucose.

2. Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian antara lain tablet glimepirid 1mg (PT Dexa Medica), tablet glibenclamid 5mg (PT. OGB Dexa), tablet gliclazide 80mg (PT. OBG Dexa) sukrosa, Mencit Putih Jantan, Na. CMC (kontrol negatif).

D. Jalannya Penelitian

1. Persiapan hewan uji

Pada penelitian ini membutuhkan 20 mencit putih jantan dengan berat badan masing-masing berkisar antara 20 gram. Membagi masing-masing kelompok dengan satu kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Hal yang pertama perlu dilakukan sebelum memberi perlakuan mencit harus diaklimatisasi (penyesuaian lingkungan) selama 1 minggu, dalam masa penyesuaian mencit diberi makan berupa pellet dan juga air minum. Hal kedua yang harus dilakukan sebelum perlakuan adalah memuasakan mencit selama 16 jam sehari sebelum dilakukan untuk pengujian.

2. Pereparasi sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah obat antidiabetes golongan sulfonilurea yaitu tablet glimepiride, gliclazide, dan glibenclamid. Ketiga obat tersebut digerus terpisah dengan menggunakan mortar dan stemfer.

3. Penetapan Dosis glimepiride, gliclazide, dan glibenclamide

3.1 Dosis glimepiride. Dosis glimepiride ditentukan berdasarkan factor konversi manusia. Dosis lazim glimepiride 1mg sekali pakai. Konversi manusia dengan berat 70 kg ke mencit dengan berat 20 gr adalah 0,0026, maka dosis glimepiride yang diberikan adalah $1\text{mg} \times 0,0026 = 0,0026 \text{ mg/Kg BB}$.

3.2 Dosis glibenclamide. Dosis glibenclamide ditentukan berdasarkan faktor konversi manusia. Dosis lazim glibenclamid 5mg sekali pakai. Konversi manusia dengan berat 70 kg ke mencit dengan berat 20 gr adalah 0,0026, maka dosis glimepiride yang diberikan adalah $5\text{mg} \times 0,0026 = 0,013 \text{ mg/ Kg BB mencit}$.

3.3 Dosis gliclazide. Dosis Gliclazide ditentukan berdasarkan faktor konversi manusia. Dosis lazim gliclazide 80mg sekali pakai. Konversi manusia dengan berat 70 kg ke mencit dengan berat 20 gr adalah 0,0026, maka dosis gliclazide yang diberikan adalah $80\text{mg} \times 0,0026 = 0,208 \text{ mg /Kg BB}$

4. Pembuatan larutan

4.1. Larutan sukrosa. Dosis yang digunakan untuk tikus adalah 2,5 g/Kg BB. Berdasarkan faktor konversi untuk mencit maka dosis sukrosa yang digunakan pada mencit adalah 70 mg/20gr BB mencit. Banyaknya suatu sukrosa yang akan digunakan dihitung berdasarkan berat badan masing- masing mencit. Kemudian sukrosa dilarutkan

dengan menggunakan aquadest sebanyak 25 ml dan diinduksikan kepada masing-masing kelompok mencit.

4.2. Pembuatan larutan Na. CMC. Menimbang Na.CMC sebanyak 0,25 gr dengan konsentrasi 1% v/v. kemudian menambahkan aquadest sedikit demi sedikit aduk ad homogen dan di ad samapi 25 ml. larutan Na.CMC diambil sebanyak 0,2 ml untuk diberikan kepada mencit dengan berat standar 20 gr.

4.3. Pembuatan stok obat glimepiride. Mengambil tablet glimepiride dengan dosis terkecil yaitu 1mg. Kemudian membuat stok obat dengan konsentrasi 0,001gr/50ml b/v. Kemudian ditambahkan Na.CMC dengan konsentrasi 1%. Lalu ditambahkan dengan aquadest sedikit demi sedikit, gerus halus aduk ad homogen dan di ad kan 50 ml dengan menggunakan aquadest. Untuk pemberian mencit dengan berat standar 20 gr adalah 0,2 ml secara peroral.

4.4. Pembuatan stok obat glibenclamid. Mengambil tablet glibenclamide dengan dosis 5mg. Kemudian membuat stok obat dengan konsentrasi 0,005 gr/ 50ml b/v. Kemudian ditambahkan Na.CMC dengan konsentrasi 1 %. Lalu ditambahkan dengan aquadest sedikit demi sedikit, aduk ad homogen dan di ad kan 50 ml dengan menggunakan aquadest. Untuk pemberian mencit dengan berat standar 20 gr adalah 0,2 ml secara peroral.

4.5. Pembuatan stok obat gliclazide. Mengambil tablet gliclazide dengan dosis 80mg. Kemudian membuat stok obat dengan konsentrasi 0,08 gr/ 50ml b/v. Kemudian ditambahkan Na.CMC dengan konsentrasi 1 %. Lalu ditambahkan dengan aquadest sedikit demi sedikit, aduk ad homogen dan di ad kan 50ml menggunakan aquadest. Untuk pemberian mencit dengan berat standar 20gr adalah 0,2ml secara peroral.

5. Uji Penurunan gula darah

Prosedur pengujian penurunan kadar gula darah dengan metode tes toleransi glukosa dengan menggunakan alat glucometer dan stip test glucose akan dilakukan terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*) yang berjumlah 20 ekor yang terlebih dahulu diaklimatisasi selama 1 minggu. Kemudian mencit ditimbang beratnya dan dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok berisi 5 ekor menict. Mencit dipuaskan selama 16 jam sebelum perlakuan. Kemudin melakukan pengecekan kadar gula darah mencit sebagai T0. Membebaskan mencit dengan sukrosa secara

peroral setelah 30 menit ukur kadar gula darah mencit untuk memastikan bahwa mencit mengalami hiperglikemia, dan mulai memberikan perlakuan pada mencit setelah 30 menit. Berikut adalah skema perlakuan kelompok mencit:

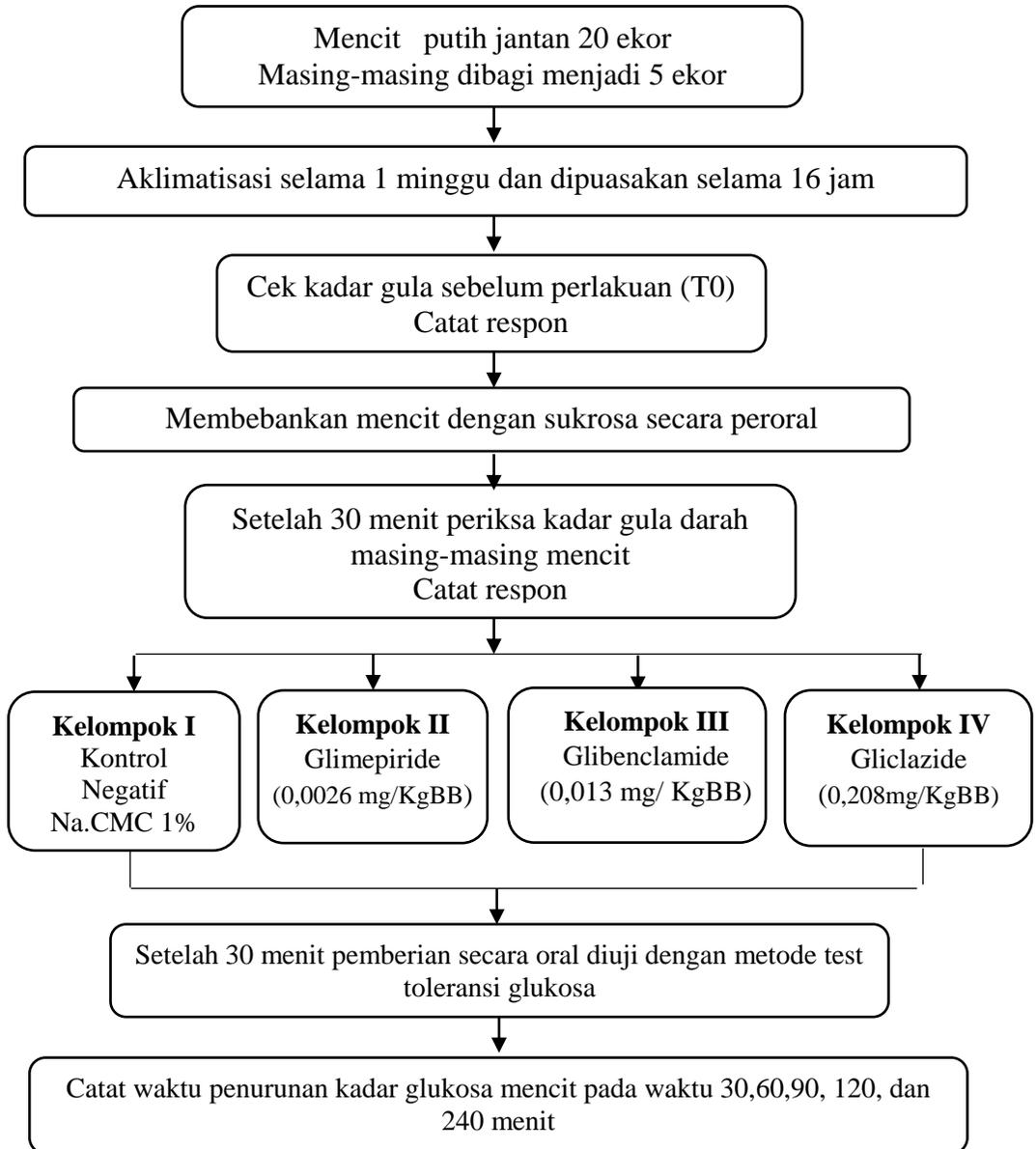
Kelompok I : Kontrol negatif (Na.CMC 1%)

Kelompok II : Glimepiride (0,0026 mg/Kg BB)

Kelompok III : Glibenclamide (0,013mg/Kg BB)

Kelompok IV : Gliclazide (0,208 mg/Kg BB)

Setelah perlakuan mencit dilakukan pengecekan kadar gula darah melalui ekor dan pengecekan dilakukan pada menit ke 30,60,90,120, dan 240 menit (Sudarta, 2022)



Gambar 9. Skema Pengujian

6. Analisis Data

Data yang telah diperoleh dari hasil pengukuran kadar gula darah akan dibandingkan dengan control negative, diproses sebagai $\text{mean} \pm \text{SEM}$. Mean differences dari masing-masing kelompok dianalisis dengan menggunakan metode statistic *One Way ANOVA* yang akan dilanjutkan dengan menggunakan Post Hoc test metode Bonferroni.

H_0 = Tidak ada sepasang kelompok dengan perbedaan penurunan kadar gula darah yang signifikan

H_a = Minimal terdapat satu pasang kelompok dengan perbedaan penurunan kadar gula darah yang signifikan

Untuk menilai hipotesis statistic, ditentukan harga p hitung yang akan dibandingkan dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Untuk penelitian uji aktivitas antidiabetik ini, bila p hitung < harga $\alpha = 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_a diterima.