

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini berjenis eksperimental menggunakan hewan uji mencit putih jantan galur Balb-C, berusia 2-3 bulan yang mempunyai berat badan 20-30 gram dan metode uji aktivitas antidiare yang digunakan castor oil dengan mengikuti prosedur penelitian yang sudah dilaksanakan (kumar, 2010).

#### **3.2 Sampel**

Sampel penelitian ini yaitu daun Cep-cepan (*Castanopsis costata*) yang didapatkan di sekitar hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser, Kabupaten Langkat, Sumatera Utara yang banyak di huni Suku Karo Proses pencarian literatur dilakukan melalui sumber data elektronik yaitu Daun Cep-cepan dalam serbuk simplisia diekstraksi kemudian dilakukan uji skrining fitokimia.

#### **3.3 Alat dan Bahan**

##### **3.3.1 Alat**

Alat yang dibutuhkan meliputi timbangan analitik, alat-alat gelas, blender, cawan penguap, batang pengaduk, spuit 1cc, stopwatch, water bath, rotatory evaporator, corong pisah, pipet, kandang hewan uji mencit, sonde oral, disposable syringe, alat ukur plestismometer.

##### **3.3.2 Bahan**

Bahan yang dibutuhkan yaitu mencit jantan galur Balb-C sehat yang mempunyai berat badan 20 – 30 g, berusia 2 – 3 bulan. Daun Cep-cepan. Etanol 70%, dan n-heksan (Brataco). Digunakan untuk menyiapkan ekstrak etanol daun cep-cepan.. Uji aktivitas antidiare menggunakan castor oil (Sigma- Aldrich), loperamid HCl

### 3.4 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang pada bulan September 2021 sampai dengan Oktober 2021

### 3.5 Prosedur Percobaan

#### 3.5.1 Penyiapan Hewan Uji

Penelitian ini akan memakai hewan uji mencit jantan galur Balb-C yang di aklimatisasikan lebih dulu selama 7 hari supaya bisa beradaptasi dengan kondisi laboratorium dan diberikan pakan pelet dan air minum ad libitum (Steyleynes, 2019).

#### 3.5.2 Pembuatan Simplisia

Daun Cep-cepan dibersihkan dibawah air mengalir sebanyak dua kali, ditiriskan bahan basah dikeringkan menggunakan oven dalam suhu 40-50°C atau di jemur hingga kering di bawah sinar matahari. Bahan yang sudah kering lalu diblender dan di ayak hingga mendapat serbuk halus.

#### 3.5.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Cep-Cepan

Ekstraksi dilaksanakan menggunakan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi memakai pelarut etanol 70%. Daun *C. costata* yang telah menjadi serbuk simplisia ditimbang kurang lebih 1kg dan dimaserasi dengan pelarut etanol 70%, direndam selama 72 jam. Akan diperoleh ekstrak cair yang selanjutnya akan dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 50°C dan kembali dipanaskan pada waterbath dalam suhu 400C sehingga didapatkan ekstrak kental. Dihitung persentasi rendemen ekstrak yang diperoleh (Alkandahri et al, 2019).

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat bahan yang diekstraksi}} \times 100\%$$

#### 3.5.4 Uji Aktivitas Anti Diare Daun *C.costata*

Castor oil merupakan metode yang digunakan dalam menguji aktivitas anti diare dalam penelitian ini, Sebanyak 24 ekor mencit yang masuk dalam kriteria inklusi dikelompokkan secara acak. Mencit 1 kontrol negatif diberi Castor Oil 0,5 ml Mencit 2 kontrol positif diberikan Loperamid HCL dosis 25mg/KgBB per-oral, Mencit 3 diberi Ekstraksi air daun *C.costata* 50mg/KgBB, Mencit 4 diberi Ekstrak air daun *C.costata* 100mg/KgBB, Mencit 5 diberi Ekstraksi 50mg/KgBB, Mencit 6 diberi Ekstraksi

200mg/KgBB, kemudian diletakan pada kandang terpisah setiap kelompoknya. Kemudian diobservasi terkait dengan kapan diarenya mulai terjadi, berat dari feses cair tida terbentuk serta waktu berhentinya diare.

### 3.5.5 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia ekstrak daun *C. costata* yaitu :

#### a. Pemeriksaan alkaloida

Sampel dibasakan dengan ammonia, kemudian ditambah dengan kloroform, kemudian digerus dengan kuat. Lapisan kloroform dipipet dan disaring, lalu kedalamnya ditambah dengan asam klorida 2 N. Campuran dikocok dengan kuat sampai terdapat dua lapisan. Lapisan asam dipipet, selanjutnya dipisah menjadi tiga bagian. Bagian pertama sebagai pembanding, bagian kedua ditambah dengan pereaksi Mayer, jika terdapat kekeruhan ataupun endapan putih memperlihatkan terdapatnya alkaloid. Bagian ketiga ditambah dengan pereaksi Dragendroff, jika keruh ataupun endapannya berwarna kuning hingga jingga memperlihatkan terdapatnya alkaloid (Farnsworth, 1966).

#### b. Pemeriksaan flavonoida

Sampel ditambah dengan air kemudian dipanaskan lalu dilakukan penyaringan. Fitrat yang terbentuk ditambah dengan serbuk magnesium dan asam klorida 5 N kemudian dilakukan penyaringan dan ditambah dengan amil alkohol, dikocok dengan kuat, lalu diobservasi warna lapisan amil alcohol yang terbentuk. Senyawa flavonoid diperlihatkan dengan terbentuk warna kuning sampai merah yang bisa ditarik oleh amil alkohol (Farnsworth, 1966).

#### c. Pemeriksaan glikosida

Sampel ditambah dengan campuran etanol 96% dengan perbandingan 7:3 dan asam klorida 2 N hingga terendam, direfluksi selama 1 jam, setelah dingin baru disaring. Lalu air suling dan timbal (II) asetat 0.4 M ditambahkan ke dalam filtrat, kemudian diaduk, diendapkan hingga endapannya turun kemudian baru disaring. Filtratnya disaring menggunakan campuran kloroform dan isopropanol dengan perbandingan 2:3 pada corong pisah, dikocok hingga membentuk 2 lapisan yakni lapisan atas adalah gula dan lapisan yang di bawah adalah non gula.

### 1. Lapisan atas

Melalui penambahan air dan pereaksi *Molish*, selanjutnya dengan pelan asam sulfan pekat ditambahkan lewat dinding tabung, membentuk cincin berwarna coklat atau coklat keunguan atau ungu dalam batas antara kedua cairan memperlihatkan terdapatnya ikatan gula.

### 2. Lapisan bawah

Menambahkan pereaksi *Lieberman-Bouchard*. Jika membentuk warna ungu kemerahan memperlihatkan terdapatnya triterpenoid, kemudian jika membentuk warna biru hijau atau hijau memperlihatkan terdapatnya steroid (Farnsworth, 1966).



