

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Eksperimental Laboratorium yang menggunakan tikus putih jantan galur wistar sebagai hewan percobaan.

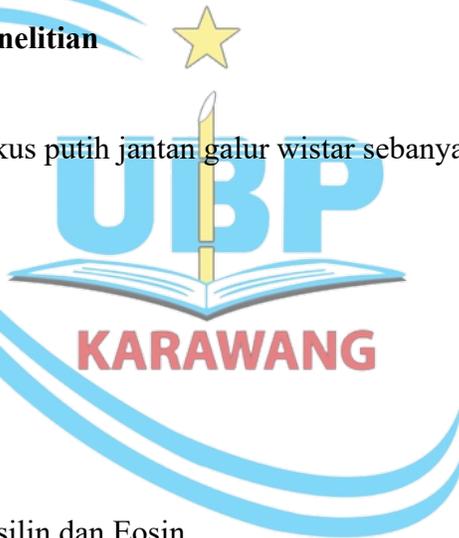
3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Bahan

- a. Hewan uji berupa tikus putih jantan galur wistar sebanyak 16 ekor
- b. Daun *C. Costata*
- c. Etanol 70%
- d. Etil asetat
- e. Chloroform
- f. Nacl 0,9%
- g. Aquadest
- h. Pewarna Hematoksisilin dan Eosin
- i. Formalin Buffer Fosfat.

3.2.2 Alat

- a. Tempat makan dan minum
- b. Kandang tikus putih
- c. Timbangan analitik
- d. Rotary evaporator
- e. Wadah maserasi
- f. Corong pisah



- g. Beaker glass
- h. Batang pengaduk
- i. Pipet tetes
- j. Alumunium foil
- k. Sonde
- l. Spuit 1cc
- m. Pisau bedah
- n. Sarung tangan latex

3.3 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang dan Laboratorium MIPA Universitas Padjajaran Jatinangor.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Tahap Ekstraksi Metode Maserasi Daun *C. costata*

Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Daun *C. Costata* yang telah menjadi serbuk simplisia. Ekstrak ditimbang sebanyak 1 kg dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% secukupnya, kemudian direndam selama 72 jam. Ekstrak yang diperoleh adalah ekstrak cair yang kemudian dipekatkan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 50 °C dan kembali dipanaskan pada waterbath pada suhu 70 °C sehingga didapatkan ekstrak kental.

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

3.4.2 Tahap Fraksinasi Etil Asetat Daun *C. costata*

Proses fraksinasi kasar yang dilakukan mengacu pada metode Can-ake (2004) yaitu proses partisi menggunakan pelarut etanol 70% (1:3) dan etil asetat. Sebanyak 1000 gram ekstrak kental dilarutkan dalam 100ml. Pelarut campuran etanol-air. Larutan selanjutnya dipartisi dengan menambahkan 100ml pelarut etil asetat, diaduk

atau dikocok dalam labu pemisah, didiamkan selama 30-60 menit dan dipisahkan lapisan yang terbentuk (lapisan etanol-air bagian bawah, lapisan etil asetat bagian atas). Setelah proses partisi fraksi yang diperoleh dipisahkan menggunakan waterbath pada suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak kental (Tim May, Malcolm Williams, Richard Wiggins, 2021).

3.4.3 Tahap Pembuatan Suspensi Fraksi Etil Asetat Daun *C.costata*

Pada pengujian ini tikus putih jantan galur wistar diberikan bahan uji secara oral menggunakan sonde. Rute oral dipilih karena disesuaikan dengan rute yang biasanya digunakan pada manusia dalam mengonsumsi fraksi etil asetat daun *C. costata* disuspensikan dengan PGA 10%, karena hasil fraksi tersebut tidak larut sempurna dalam air. PGA merupakan senyawa yang tidak toksik dan tidak menimbulkan iritan, sehingga dapat dikatakan bahwa zat pembawa tersebut tidak berpengaruh pada pengujian toksisitas ini.

3.4.4 Persiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan galur wistar sebanyak 16 ekor lalu dibagi menjadi 4 kelompok dimana masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus putih jantan galur wistar. Kemudian kelompok terapi tersebut terdiri dari kontrol normal atau netral, kelompok terapi fraksi etil asetat daun *C. Costata* dosis 500mg/kgBB, kelompok terapi ekstrak fraksi etil asetat daun *C. Costata* dosis 2000 mg/kgBB, kemudian kelompok terapi fraksi etil asetat daun *C. Costata* dosis 5000 mg/kgBB. Selanjutnya diberikan perlakuan secara oral berulang selama 14 hari, setelah hari ke-14 tikus putih jantan galur wistar dinyatakan sudah meninggal maka dilakukan pembedahan untuk pembuatan preparat tikus putih jantan galur wistar putih terhadap organ ginjal, hati, dan lambung. Preparat yang digunakan yaitu preparat mikroskopik, preparat ini bertujuan untuk melihat gambaran histopatologi organ ginjal, hati, dan lambung. Parameter yang digunakan yaitu parameter nekrosis. Selanjutnya dilakukan pengamatan data, data diuji secara statistik menggunakan ANOVA (*Analysis Of Variant*).

3.4.3 Pengelompokkan dan Perlakuan Hewan Uji

Pada penelitian ini tikus yang digunakan yaitu tikus putih jantan galur wistar sebanyak 16 ekor tikus putih jantan galur wistar dengan 4 kelompok percobaan yang masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus putih jantan galur wistar.

Tabel 3. 1 Pengelompokkan dan Perlakuan Hewan Uji

Kelompok	Dosis Ke-	Perlakuan
1	500 mg/kgBB	Suspensi fraksi etil asetat dosis 500 mg/kgBB diberikan pada hari ke 1-14.
2	2000 mg/kgBB	Suspensi fraksi etil asetat dosis 2000 mg/kgBB diberikan pada hari ke 1-14.
3	5000 mg/kgBB	Suspensi fraksi etil asetat dosis 5000 mg/kgBB diberikan pada hari ke 1-14.
4	Kontrol Normal	Tanpa Perlakuan.

3.4.4 Tahap Pembedahan

Pembedahan dilakukan pada hari ke-15 dalam masing-masing kelompok perlakuan. Tikus putih jantan galur wistar yang akan dibedah dimatikan dengan cara memasukkan tikus putih jantan galur wistar kedalam toples yang sudah ditetesi cairan chloroform menggunakan kapas, kemudian setelah beberapa saat tikus putih jantan galur wistar di pindahkan dan diletakkan diatas baki paraffin. Keempat kaki tikus putih jantan galur wistar ditusuk dengan jarum untuk mencegah gerakan-gerakan yang mengganggu pada saat pembedahan, kemudian tikus putih jantan galur wistar siap di otopsi pembedahan diawali dengan membelah bagian perut bawah tikus putih jantan galur wistar hingga bagian dada, kemudian organ diambil keluar dari dalam tubuh organ yang diambil ialah organ hati, ginjal dan lambung kemudian diletakkan diatas cawan petri dan di timbang berat organnya selanjutnya diamati dengan makroskopis

dan dicuci dengan larutan NaCl lalu direndam dengan formalin buffer fosfat. Pengambilan organ tikus putih jantan galur wistar dilakukan sebagai berikut:

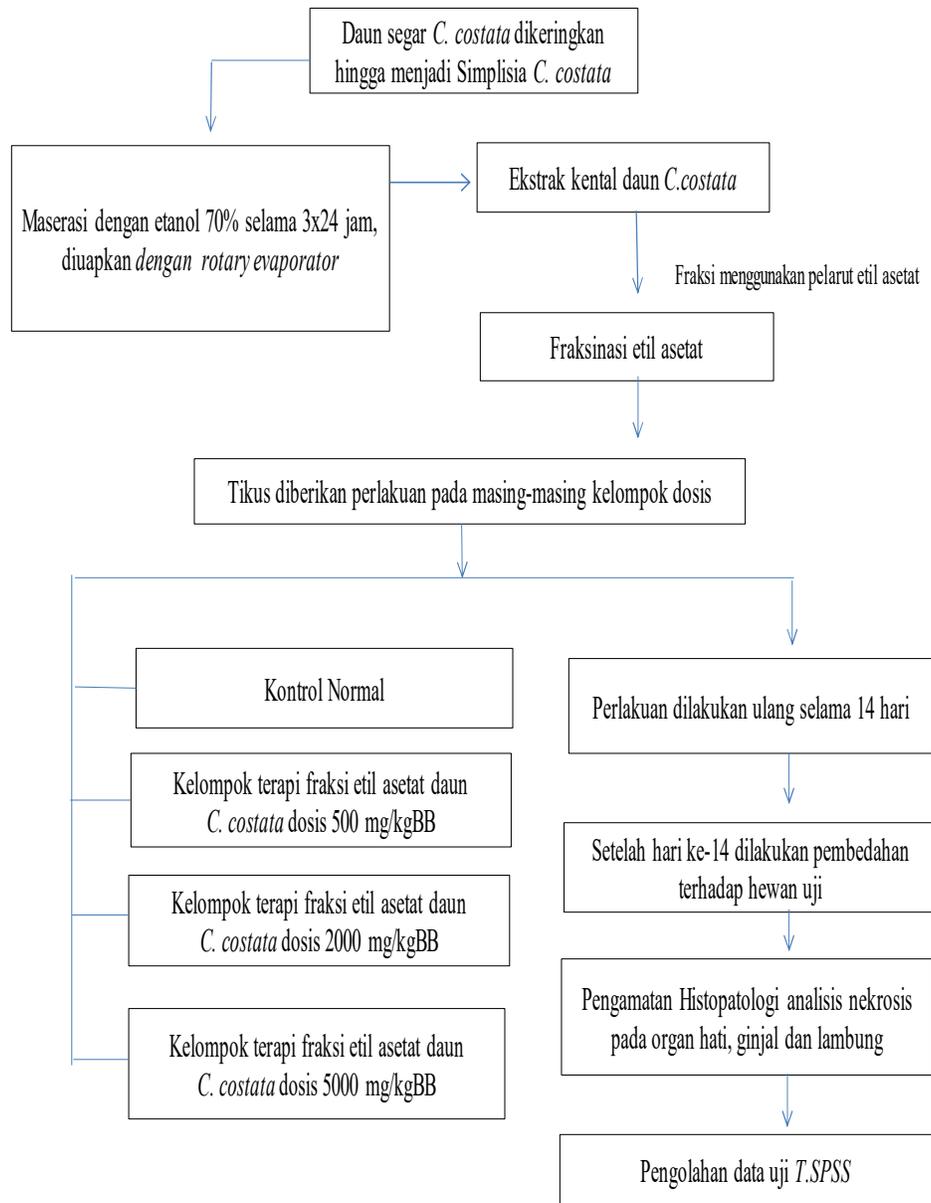
1. Tikus putih jantan galur wistar yang telah mati ditelentangkan pada papan bedah.
2. Kulit bagian perut bawah diangkat dengan pinset, kemudian pada bagian tersebut digunting menggunakan gunting bedah untuk memberikan jalan bagi pembedahan.
3. Pengguntingan tersebut dilanjutkan ke arah perut atas sisi dan kiri hingga ke bagian bawah kedua kaki depan tikus putih jantan galur wistar sehingga seluruh bagian rongga perut tikus putih jantan galur wistar terlihat.
4. Organ yang diambil adalah ginjal, hati, lambung.

3.5 Jadwal Penelitian

Tabel 3. 2 Jadwal Kegiatan Penelitian

Jadwal Penelitian							
No	Kegiatan	Sept	Okt	Nov	Des	Jun	Agust
1	Sosialisasi Tugas Akhir						
2	Pengajuan Judul & SK Dosen Pembimbing						
3	Penulisan Proposal						
4	Seminar Proposal						
5	Pelaksanaan Penelitian						
6	Pengolahan Data & Analisis						
7	Penulisan Laporan TA						
8	Ujian Sidang TA						
9	Yudisium						

3.6 Skema Penelitian



Gambar 3. 1 Skema Penelitian