BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Desain penelitian *post-test control-grup* menggunakan eksperimen laboratorium dan tikus putih jantan galur wistar sebagai hewan percobaan. Hewan uji dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif yang diinduksi gentamisin inj dosis 80 mg/kg, kelompok normal dan kelompok eksperimen dengan 3 dosis ekstrak yang berbeda.

3.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitan ini adalah tikus putih jantan galur wistar yang kemudian dirandomisasi menggunakan excel dan hewan uji dikelompokan.

3.3 Bahan dan Alat Penelitian

3.3.1 Bahan

Bahan pada penelitian ini menggunakan daun cep-cepan, gentamisin injeksi (PT. Kimia Farma®), etanol 70% (Brataco®), aquadest (Brataco®), PGA 1% (Brataco®).

3.3.2 Alat

Alat pada penelitian ini yaitu mortir dan stamper(Onemed®), Pompa Vakum (DOA 504.BN®), corong bushner(Herma®), rotary evaporator(Eyela®), tabung reaksi (Pyrex®), beaker glass (Herma®), batang pengaduk (Rofa®), sonde (Onemed®), handscoon (Sensi latex®), spuit 5 cc (Onemed®), fotometer (Humalyzer 2008®), sentrifugasi (DLAB®), mikropipet (Thermo Scientific®), tabung EDTA (IVEN®), pipa hematokrit(Marienfeld®), kuvet (Germany®).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Klasifikasi Variabel

a. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu menggunakan ektrak daun cep-cepan denan beberapa variasi dosis yang berbeda.

b. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu kadar asam urat dan nitrogen urea darah terhadap tikus putih jantan galur wistar.

c. Variabel terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini yaitu bobot tikus, volume pemberian, jenis kelamin, pakan dan minum

3.4.2 Definisi operasional variabel

Berikut tabel definisi operasional variabel pada penelitian ini, yaitu:

Tabel 3.1. Definisi Operasional Variabel

No.	variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
1.	Variabel bebas dosis Ekstrak daun Cep-cepan	5 kelompok perlakuan dengan menggunakan penginduksi dan 3 kelompok varian dosis Ektrak daun cep-cepan.	-	Nominal	1. K - = Kontrol negatif gentamisin inj 80 mg/kgBB. 2. Kontrol normal menggunakan aquadest. 3. Kelompok ektrak dengan 3 dosis.

2.	Variabel terikat kadar asam urat dan nitrogen urea darah	Mengukur kadar asam urat dan nitrogrn urea darah yang dilakukan dengan alat Spektrofotometer Humalyzer 2000.	Humalyzer 2000	Interval	1. Normal 2. Rendah

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

1. Pembutan Ekstrak dengan Metode Maserasi

   Daun cep-cepan (5 kg) dimaserasi dalam etanol 70% selama 180 jam. Ektrak cair yang dihasilkan kemudian dipekatkan dengan *water bath* pada suhu 50°C untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak sekitar 9,87% (bobot tetap ekstrak dibagi bobot simplisia dikalikan 100%). Ekstrak disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan dalam percobaan. Ekstrak etanol kental dilarutkan dalam air suling untuk menyiapkan dosis yang berbeda (Alkandahri, 2019).

2. Determinasi

   Pengumpulan bahan baku danpersiapan simplisia di determinasi di herbarium jatinangor departemen biologi FMIPA Unpad (Alkandahri *et al*., 2021)

3. Pembuatan Larutan Induksi Gentamisin

   Ditimbang bobot tikus, setelah didapat disesuaikan dengan dosis induksi gentamisin inj 80 mg/kg. Setelah itu diukur volume larutan gentamisin dan diberikan secara intraperitoneal.

3.5.2 Prosedur Perlakuan Hewan Uji

1. Pengelompokan Perlakuan Pada Tikus

Tikus putih jantan galur wistar dengan berat sekitar 200 gr – 250 gr dan berumur 15 – 20 minggu digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian ini. Dengan menggunakan hewan uji 20 ekor tikus diacak menjadi 5 kelompok percobaan, masing-masing 4 ekor tikus. Kelompok pertama adalah kontrol normal menggunakan aquadest, kelompok kontrol negatif yang di induksi gentamisin dengan dosis 80 mg/kg, dilanjutkan dengan kelompok uji yang diberikan ekstrak daun cep-cepan dengan berbagai dosis. Hari ke-1 sampai hari ke-3 sebelum di induksi hewan uji diberi ekstrak daun cep-cepan dengan berbagai dosis. Kemudian pada hari ke-4 sampai hari ke-8 hewan uji di induksi dengan gentamisin inj 80 mg secara intraperitoneal dan diberikan ekstrak daun cep-cepan dengan berbagai dosis.

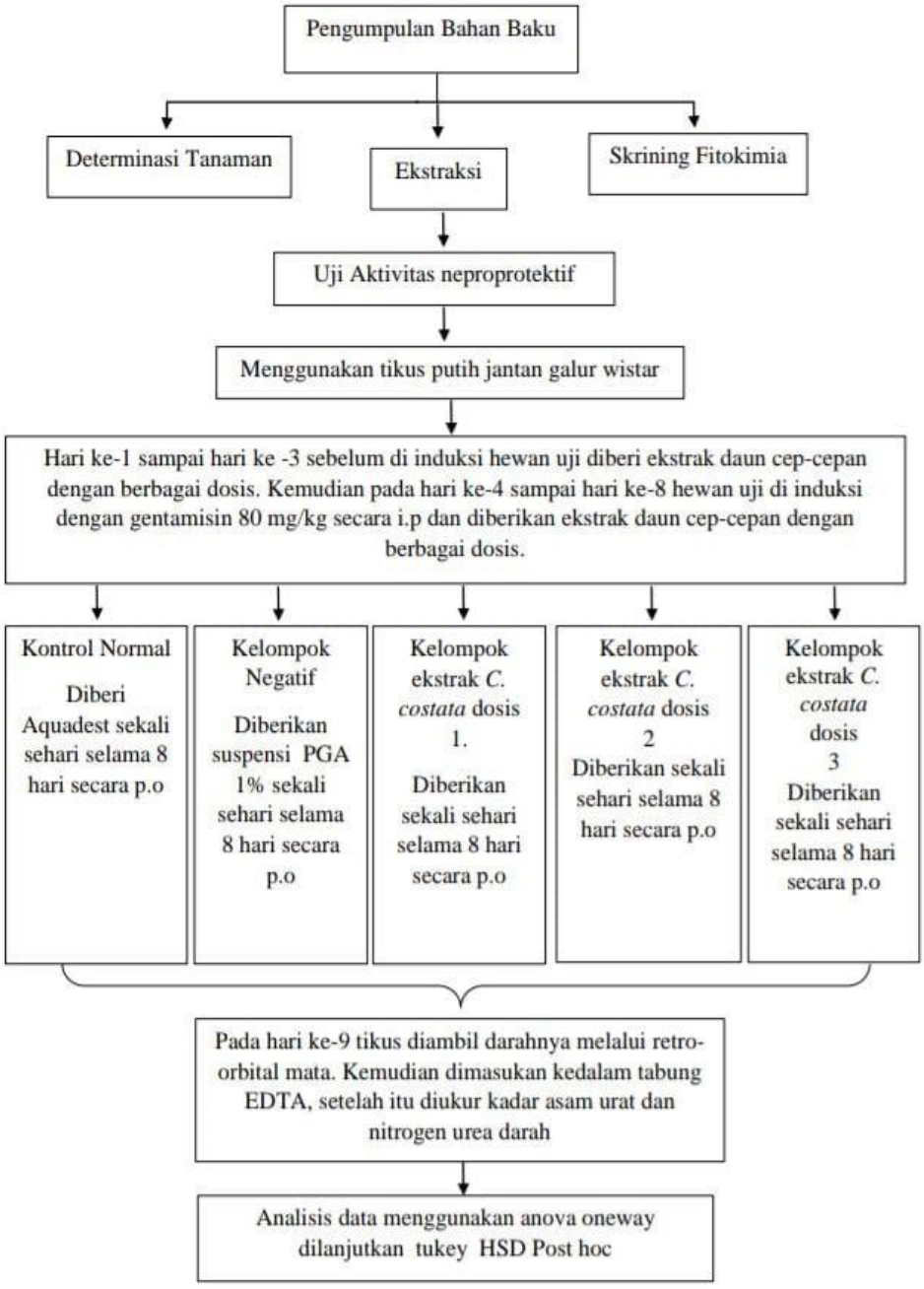
2. Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji

Pada hari ke-9 tikus diambil darahnya melalui retro-orbital mata. Kemudian dimasukkan kedalam tabung EDTA, setelah itu diukur kadar asam urat dan nitrogen urea darah menggunakan kit Aspen Diagnostics private Ltd dan dianalisa dengan alat spektrofotometer Humalyzer 2000.

3.6 Lokasi tempat penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Rumah sakit permata keluarga Karawang, pertengahan pada bulan Januari 2023.

3.7 Skema Penelitian



Gambar 3.1 Skema Penelitian

3.8 Analisis Data

Hasil penelitian ditampilkan sebagai nila rata-rata SEM pengujian satistika menggunakan one ways analisis varians (ANOVA) dilakukan untuk menentukan perbedaan nilai rata-rata atara kelompok perlakuan. Kemudian dilakukan dengan pengujian Tukey HSD untuk menentukan apakah terdapat perbedaan signifikan ($P<0,05$) pada masing-masing kelompok (Alkandahri *et al*., 2021).