

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode secara experimental yang akan dilakukan di Laboratorium Universitas Buana Perjuangan Karawang, menggunakan daun kangkung pagar yang diekstrak menggunakan etanol 96% dan dilakukan skrining fitokimia, penelitian dilakukan dengan menggunakan 30 ekor hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan pemberian dosis tunggal bertingkat, penetapan dosis tunggal yang dilakukan 5000mg, 2000 mg, 1000 mg, 500 mg dan normal, kemudian dilakukan analisis toksistas dengan menilai kematian pada hewan uji.

3.2 Populasi dan Sampel

Dalam penelitian ini menggunakan tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan uji dan ekstrak etanol 96% daun kangkung pagar sebagai sampel uji toksisitas.

3.3 Bahan dan Alat yang Digunakan

3.3.1 Bahan

- | | |
|---------------|--|
| Bahan Uji | :Simplisia daun kangkung pagar yang diperoleh dari kecamatan Pebayuran Kabupaten Karawang. |
| Hewan Uji | : Tikus putih jantan dan betina galur wistar (<i>Rattus novergicus</i>) usia \pm 3 bulan dengan berat badan sekitar 200-250 gram sebanyak 30 ekor. |
| Bahan Kimia | : Pelarut etanol 96%, <i>n</i> -heksana, etil asetat, reagen penapisan fitokimia. |
| Bahan Lainnya | : PGA 1%. |

3.3.2 Alat

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, wadah maserasi, *rotatory evaporator*, cawan penguap, *water bath*, tabung reaksi, sonde oral, *disposable syringe*.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol 96% dari daun kangkung pagar.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan nilai toksisitas pada percobaan dengan tikus putih.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian merupakan variabel berbentuk hewan uji tikus putih galur wistar berjumlah 30 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok perlakuan dengan pemerian dosis tunggal bertingkat.

3.5 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang pada bulan Juli 2023.

3.6 Prosedur Penelitian

Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan sebanyak 5 kelompok, pengelompokan hewan uji menggunakan rumus Federer tahun 1963 (Syam *et al*, 2011) yaitu :

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

Keterangan : t adalah jumlah kelompok

n adalah jumlah sampel

$$\text{Perhitungan} : (n-1) (5-1) \geq 15$$

$$(n-1) (4) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok, dengan masing-masing kelompok terdiri dari enam ekor tikus, tiga ekor jantan, dan tiga ekor betina, sehingga total yang digunakan adalah 30 ekor. Kelompok yang dimaksud terdiri dari kelompok kontrol normal, kelompok kontrol 500 mg, kelompok kontrol 1000 mg, kelompok kontrol 2000 mg, dan kelompok kontrol 5000 mg dengan kriteria.:

a. Kriteria Inklusi

- Tikus putih jantan dan betina galur wistar (*Rattus norvegicus*).
- Usia 2-3 bulan.
- Berat badan 200-250 gram.
- Sehat dan beraktivitas normal.

b. Kriteria Eksklusi

Tikus jantan dan betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan kondisi stress, sakit dan mati saat penelitian.

Tabel 3.6.1 Pembagian Kelompok Hewan Uji

No	Kelompok	Jumlah	Perlakuan Hari Ke- 0-14
1	Kontrol Normal	6	Diberi induksi 1%PGA
2	Ekstrak 500mg/KgBB	6	Diberi induksi dan ekstrak kangkung pagar 500 mg/KgBB
3	Ekstrak 1000mg/KgBB	6	Diberi induksi dan ekstrak kangkung pagar 1000 mg/KgBB

4	Ekstrak 2000mg/KgBB	6	Diberi induksi dan ekstrak kangkung pagar 2000 mg/KgBB
5	Ekstrak 5000mg/KgBB	6	Diberi induksi dan ekstrak kangkung pagar 5000 mg/KgBB

3.7 Pemberian Ekstrak Daun Kangkung Pagar (*Ipomoea Carnea Jacq*)

Pemberian dosis ekstrak kental etanol 96% daun kangkung pagar adalah masing-masing 500mg/KgBB, 1000mg/KgBB, 2000mg/KgBB dan 5000 mg/KgBB yang disuspensikan dalam PGA 1%, pemberian sesuai dengan perhitungan berat badan tikus.

3.8 Analisis Data

Data didapatkan dengan menilai hasil pengukuran toksisitas LD₅₀ pada hewan uji dengan kontrol normal, dosis 500mg/kgBB, dosis 1000mg/kgBB, dosis 2000mg/kgBB dan dosis 5000 mg/kgBB. Kemudian analisis data menggunakan program *AATbio* LD₅₀ untuk mengetahui 50% kematian hewan uji.

3.9 Kerangka Konsep

