

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-September 2024, bertempat Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UINSU membidangi perawatan dan pengobatan dan pengambilan sel darah hewan coba, sedangkan Laboratorium Farmasi USU akan menangani ekstrak etanolik daun senduduk. Uji fitokimia dilakukan pada Laboratorium Kimia Organik FMIPA USU. Sel darah diambil dan dipantau di Laboratorium Biologi UINSU Medan. Dengan dukungan analis profesional dari Rumah Sakit Instalasi Laboratorium Terpadu Universitas Sumatera Utara Medan, para peneliti menyelidiki perubahan kadar SGPT dan SGOT.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Kandang tikus, sonde, botol minum, tempat pakan, pisau cutter, saringan, beaker glass, spatula, spuit, blender, kain warna gelap, sarung tangan, toples, kertas saring, gelas ukur, timbangan digital, rotary evaporator, pipet hematokrit dan tube darah, centrifuge, gunting, dan tabung venoject yang digunakan dalam penelitian ini.

3.2.2 Bahan

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) 20 ekor berumur 2-3 bulan beratnya 150-200 gram, daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L.), etanol 96 %, aquades, MSG (*Monosodium glutamate*), pakan hewan, CMC Na 1%, klorofom, NaCl yang digunakan pada penelitian ini

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental ini dilakukan selama 14 hari dengan 20 tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) dalam lima kelompok perlakuan, 4 ulangan, serta menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Berikut desain penelitiannya:

1. Kelompok kontrol negatif (K-) tikus hanya diberi makan dan diberi minum.
2. Kelompok kontrol positif (K+) terdiri dari tikus yang di induksi MSG 100mg/kgBB

3. Kelompok Perlakuan (P1) diberikan MSG 100 mg/kgBB pada pagi hari dan pemberian ekstrak etanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) pada dosis 150 mg/kgBB pada sore hari selama 14 hari
4. Kelompok Perlakuan (P2) diberikan MSG 100 mg/kgBB pada pagi hari dan pemberian ekstrak etanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) pada dosis 200 mg/kgBB pada sore hari selama 14 hari
5. Kelompok Perlakuan (P3) diberikan MSG 100 mg/kgBB pada pagi hari dan pemberian ekstrak etanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) pada dosis 250 mg/kgBB pada sore hari selama 14 hari.

Rumus Federer digunakan untuk menentukan berapa banyak tikus yang diperlukan:

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

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4n-1 \geq 15$$

$$4n \geq 16$$

$$n = 4$$

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Preparasi Ekstrak Daun Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)

Diambil sebanyak 10 kg daun senduduk. Dicuci daun senduduk yang sudah disortir dengan air untuk menghilangkan kotoran atau benda asing. Sampel daun dikeringkan di dalam ruangan atau di bawah sinar matahari dengan kain hitam sebagai penutup sampai benar-benar kering untuk melindungi kandungan metabolit sekunder daun senduduk dari radiasi sinar UV. Dilakukan sampel daun senduduk menjadi potongan-potongan kecil dengan gunting dan blender sampai berubah menjadi bubuk simplisia. Etanol 96% digunakan untuk mencampur serbuk simplisia daun senduduk. Etanol 96% digunakan dalam proses maserasi untuk membuat ekstrak. Daun senduduk direndam selama 24 jam dalam maserator dengan sekali pengadukan selama 6 jam. Setelah maserat dipisahkan, prosedur ini dilakukan sebanyak tiga kali dengan menggunakan jenis pelarut dan daun yang sama. Seluruh maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan rotary evaporator, setelah etanol tidak menetes pada labu penampung pelarut, maka diperoleh ekstrak kental (Aspan, 2010)

3.4.2 Uji Skrining Fitokimia

3.4.2.1 Pemeriksaan Flavonoid

Dalam tabung reaksi, 5 ml etanol ditambahkan ke dalam ekstrak kental daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) dan direbus selama 5 menit. ditambahkan 0,2 g serbuk magnesium setelah menambahkan 1 ml HCL pekat. Munculnya warna merah tua (magenta) dalam waktu tiga menit merupakan tanda hasil yang berhasil (Hainil *et al.*, 2023).

3.4.2.2 Pemeriksaan Alkaloid

Masukkan ekstrak daun senduduk yang kental ke dalam tabung reaksi dengan 10 mililiter amonia dan 10 mililiter kloroform. Sepuluh tetes asam sulfat 2N ditambahkan, dan dikocok sesering mungkin sebelum dibiarkan beberapa saat untuk membentuk dua lapisan. Setelah memindahkan lapisan atas ke dalam tabung reaksi, pereaksi Mayer digunakan untuk memeriksa larutan. Alkaloid hadir dalam sampel ketika endapan terbentuk. Endapan putih akan terbentuk setelah reaksi dengan pereaksi Mayer (Hainil *et al.*, 2023)

3.4.2.3 Pemeriksaan Tanin

Masukkan 1 mililiter larutan ke dalam tabung reaksi setelah menambahkan etanol ke dalam ekstrak kental daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L.). Selanjutnya, tambahkan dua hingga tiga tetes larutan FeCl_3 1%; terciptanya warna biru tua atau hitam kehijauan menandakan reaksi yang berhasil (Hainil *et al.*, 2023).

3.4.2.4 Pemeriksaan Saponin

Tambahkan aquadest ke dalam ekstrak kental daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L), kocok dengan baik, lalu tambahkan dua tetes HCL. Busa yang stabil menunjukkan bahwa saponin ada dalam sampel (Hainil *et al.*, 2023).

3.4.2.5 Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid

Diambil ekstrak kental daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L), tambahkan asam asetat lalu diamkan selama 15 menit. Ambil 6 tetes larutan kemudian pindahkan ke tabung reaksi, lalu tambahkan 2-3 tetes H_2SO_4 . Adanya terpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna kecoklatan atau violet, sedangkan Munculnya rona biru-hijau mengindikasikan keberadaan steroid (Hainil *et al.*, 2023).

3.4.3 Persiapan Hewan Coba

Tikus jantan (*Rattus novergicus* L.) Dua puluh tikus dengan berat 150-200 gram dan berusia dua hingga tiga bulan ditempatkan dalam kandang dan dibagi menjadi lima kelompok: K-, K+, P1, P2, dan P3. Setiap kelompok terdiri dari empat ekor tikus. Untuk mengurangi stres karena berada di lingkungan baru, tikus putih (*Rattus novergicus* L.) diadaptasikan selama seminggu. Mereka juga diberi makan dengan cara yang tidak mengganggu proses metabolisme mereka. Tikus putih (*Rattus novergicus* L.) yang digunakan dalam penelitian ini harus dalam keadaan sehat.

3.4.4 Penginduksian MSG

Monosodium glutamate (MSG) digunakan sebagai sumber induksi pada tikus. Perlakuan nya dilakukan pada pagi hari selama 14 hari dengan dosis 100 mg/kgBB. Sebagai contoh penginduksian dengan berat badan 150 gram menggunakan rumus:

$$\frac{150 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 100 \text{ mg} = 15 \text{ mg} + \text{dilarutkan aquadest 1,5 ml}$$

3.4.5 Pemberian Dosis Ekstrak Etanol Daun Senduduk

Sebuah sonde digunakan untuk memproduksi dan memberikan ekstrak daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) secara oral. Ekstrak diberikan pada tikus dengan dosis yang telah ditentukan sebagai berikut: 150 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 250 mg/kgBB. Selama 14 hari, ekstrak diberikan pada sore hari. Sebagai contoh dosis ekstrak menggunakan rumus:

$$\begin{aligned} \frac{\text{Rata-Rata BB Tikus}}{1000 \text{ gram}} \times \text{Dosis ekstrak} &= \frac{150 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 150 \text{ mg} = 22,5 \text{ mg} \\ &= 22,5 \times 4 \text{ tikus} = 90 \text{ mg} \\ &= 90 \times 7 \text{ hari} = 630 : 1000 = 0,63 \text{ gr} \\ \text{Larutan CMC 0,5\%} &= 1,5 \text{ ml CMC} \times 4 \text{ tikus} \times 7 \text{ hari} \\ &= 42 \text{ ml CMC} \end{aligned}$$

3.4.6 Pengecekan SGPT dan SGOT

Sinus orbital mata digunakan untuk mengumpulkan serum. Setelah darah diekstraksi, darah dimasukkan ke dalam tabung venoject yang kering dan bersih, lalu disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah dipisahkan, serum dipindahkan ke tabung baru yang kering dan disegel. Serum harus disimpan dalam lemari es antara 2 dan 8 derajat Celcius jika tidak segera diuji (Tridayanti, 2022)

3.4.7 Pengamatan Morfologi Hati

Ciri-ciri makroskopis hati tikus meliputi warna, konsistensi, dan permukaan. Menurut Hasan dkk. (2014), hati yang normal memiliki permukaan yang halus, konsistensi yang kenyal, dan warna merah kecoklatan.

Bila tidak ditemukan, kriteria standar:

A. Perubahan warna

B. Modifikasi pada struktur permukaan

C. Modifikasi pada konsistensi

Tingkat kerusakan hati:

+ = Tidak ada perubahan

++ = Jika salah satu kriteria di atas terpenuhi

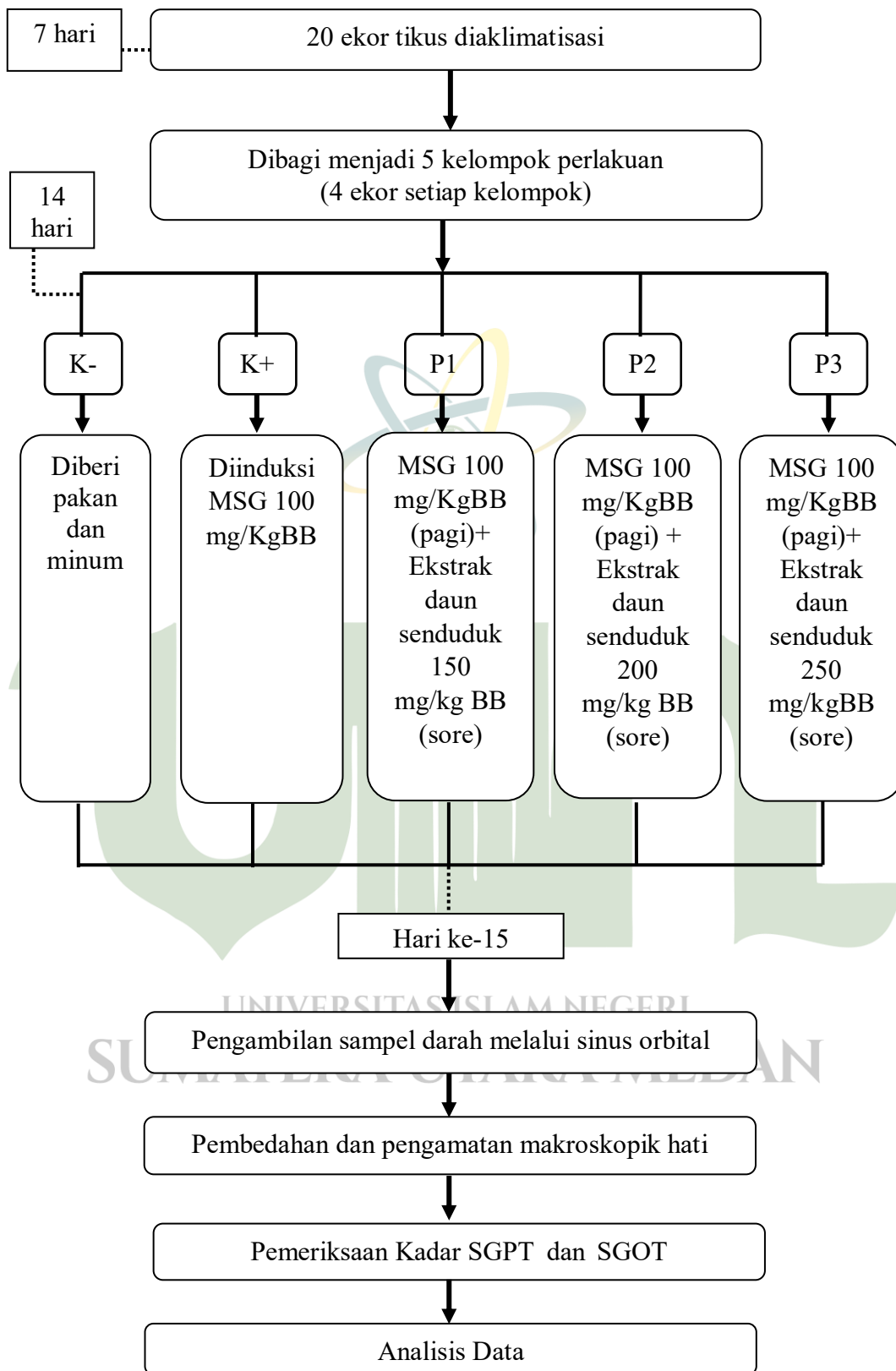
+++ = Jika dua kriteria di atas terpenuhi

++++ = Jika tiga kriteria di atas terpenuhi

3.4.8 Analisis Data

Analisis data menggunakan ANOVA satu arah dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Jika hasil uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan data ($P < 0,05$) jumlah kadar SGPT dan SGOT, maka dilakukan uji Duncan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan. (Fauziansyah *et al.*, 2022).

3.4.9 Diagram Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Skema Penelitian