

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian kuantitatif eksperimental yaitu dengan menggunakan desain *true experiment* atau eksperimental laboratorium.

3.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar dengan berat 160-200 gr dan berumur 2-3 bulan. Peneliti memilih tikus jantan galur wistar sebagai subjek uji penelitian karena hewan ini memiliki karakteristik dan fisiologi yang hampir sama dengan manusia dan juga menjadi salah satu hewan yang paling banyak digunakan dalam penelitian biomedis.

Berdasarkan perhitungan diatas didapatkan minimal jumlah hewan uji sebanyak 6 ekor per kelompok. Pada penelitian ini, peneliti menggunakan 24 ekor tikus galur wistar untuk tiap kelompok percobaan. Pengelompokan hewan uji dilakukan secara acak kedalam 4 kelompok uji.

3.3 Variabel Penelitian

- | | |
|---------------------------------|---|
| a. Variabel X (Bebas): | Pemberian Ekstrak Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>).

Dalam penelitian ini ekstrak yang diberikan dengan dosis 30mg/BB, dosis 50mg/BB dan dosis 70mg/BB. |
| b. Variabel Y (Terikat): | Penurunan Kadar Kolesterol, Berat badan, LDL
Gambaran Histopatologi Hati |
| c. Variabel Prakondisi: | Diet pakan tinggi lemak |

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Aklimitasi Hewan Uji

Aklimitasi merupakan proses penyesuaian terhadap lingkungan, iklim, kondisi, atau suasana baru. Sebelum memberikan perlakuan, semua jantan galur wistar melewati proses aklimatisasi selama tujuh hari di *Animal House* Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara. Tikus diberi waktu untuk beradaptasi dengan lingkungan baru, serta makanan dan minumannya (*ad libitum*).

3.6.2 Pembuatan Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*)

Daun binahong (*Anredera cordifolia*) segar dicuci dan dikeringkan selama empat hari kemudian dijadikan bubuk. Serbuk yang diperoleh diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etanol 96% kemudian disaring menggunakan kertas saring. Hasil maserasi diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat yang masih dapat dituang.

3.6.3 Uji Fitokimia

Uji fitokimia adalah metode pengujian awal untuk menentukan kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman sehingga dapat digunakan sebagai obat dalam penyembuhan berbagai penyakit. Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat kandungan senyawa yang dapat menurunkan kadar kolesterol tikus wistar dalam ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) Tesnya skrining fitokimia sebagai berikut:

3.6.4 Uji Aktivitas Antioksidan

1. Penentuan Panjang Gelombang

Panjang gelombang maksimum diperoleh melalui pengukuran absorbansi dari larutan standar vitamin C pada konsentrasi 70 ppm. Sebanyak 1 mL

larutan tersebut dicampurkan dengan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 ml kalium ferrisianida 1 %, campuran diinkubasi pada 50 oC selama 20 menit. Setelah selesai diinkubasi larutan ditambahkan 1 ml TCA, larutan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, Kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 ml, tambahkan 1 ml aquades dan 0,5 ml FeCl₃, cukupkan dengan asam oksalat hingga tanda batas, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400-800 hingga diperoleh panjang gelombang maksimum (Magfira, 2018).

3.6.6 Prosedur Perlakuan

Hewan uji yang telah melawati masa aklimitasi dan konsumsi diet pakan tinggi lemak dan kolesterol kemudian dibagi menjadi 4 kelompok secara acak, Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Masing-masing tikus diberi label pada ekornya menggunakan spidol tahan air. Pada kelompok kontrol, tikus hanya diberi aquades. Sedangkan pada kelompok perlakuan tikus diberi cairan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan dosis yang berbeda-beda. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Harahap dkk., (2019) dosis ekstrak daun binahong yang efektif mengatur metabolisme pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar 50mg/kgBB. Peneliti mengadaptasi penelitian tersebut dan memodifikasi jumlah dosis sebagai berikut:

- a. Kelompok Kontrol (P-0): Pakan pellet tikus + aquades/hari/ekor selama 14 hari.
- b. Kelompok Perlakuan I (P-1): Pakan pellet tikus + Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan dosis 30mg/BB dan diberikan aquades/hari/ekor selama 14 hari.

c. Kelompok Perlakuan II (P-2): Pakan pellet tikus + Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan dosis 50mg/BB dan diberikan aquades/hari/ekor selama 14 hari.

d. Kelompok Perlakuan III (P-3) Pakan pellet tikus + Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan dosis 70mg/BB dan diberikan aquades/hari/ekor selama 14 hari.

3.6.8 Pembuatan Pakan Tinggi lema

3.6.9 Pembuatan Preparat Histopatologi

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara menganestesi tikus (kombinasi ketaminexylazine dosis 0,1mg/200gBB), kemudian dilakukan euthanasia melalui emboli pada jantung. Organ hati kemudian diambil, lalu di bersihkan dari jaringan disekitarnya. Selanjutnya dimasukkan ke dalam pot organ berisi NBF 1

3.6.9 Proses Pengamatan Histopatologi

Preparat dibuat untuk pemeriksaan histologis, dimana hepar yang terfiksasi dipotong dan dipindahkan ke dalam pot plastik spesimen. Preparat kemudian diwarnai dengan hematoxylin-eosin (HE). Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x

3.6.10 Sistem Skoring

Perubahan histopatologis tikus dinilai dengan model skoring Manja Roenigk seperti disajikan pada tabel berikut:

No.	Skor	Tingkat Kerusakan
1	1	Normal
2	2	Degenerasi Parenkimatososa
3	3	Degenerasi hidropik
4	4	Nekrosis

Skor 1 apabila tidak terjadi perubahan struktur histologi hati (normal), skor 2 apabila terdapat perubahan berupa degenerasi parenkimatososa ataupun perdarahan, skor 3 apabila terdapat perubahan berupa degenerasi hidrofik atau perlemakan dan skor 4 diberikan apabila tampak adanya nekrosis pada sel-sel hati.

3.7 Analisa Data

hasil penelitian ditabulasi selanjutnya perubahan yang ditemukan dianalisis dan disajikan secara deskriptif. Data hasil penelitian kemudian dianalisis dengan bantuan SPSS (*Statistic of Package for Social Science*) 25.0. *for windows*. Uji normalitas data dianalisis dengan pendekatan *kolmogorov-smirnov test* ($p > 0,05$). Untuk menguji signifikansi antar kelompok ujicoba dilakukan dengan teknik analisis varians satu jalur atau *One Way ANOVA* pada derajat kepercayaan 95% ($p < 0,05$). Analisis atau uji lanjutan dilakukan menggunakan *Post Hoc Test* dengan teknik LSD.