

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi merupakan keseluruhan dari suatu objek yang dijadikan sebagai dasar penelitian. Populasi dalam penelitian ini yaitu daun dari tanaman nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) yang diperoleh dari daerah Sragen, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) dari daerah Sragen, Jawa Tengah yang masih segar, tidak rusak, dan bebas dari hama.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang pertama pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun nangka yang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 50%, 70%, dan 96%.

Variabel utama yang kedua pada penelitian ini yaitu efek antidiare ekstrak etanol daun nangka 50%, 70%, dan 96% terhadap mencit jantan.

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah uji aktivitas antidiare daun nangka pada mencit jantan menggunakan metode transit intestinal.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Pada penelitian, variabel utama diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel meliputi variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja direncanakan sebelumnya memiliki pengaruh yang signifikan terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) dengan pelarut etanol 50%, 70%, dan 96%.

Variabel tergantung adalah variabel yang diukur dan diamati untuk mengetahui pengaruh yang ditimbulkan dari variabel bebas. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah efek antidiare ekstrak etanol daun nangka terhadap mencit jantan dengan parameter yang diamati berupa rasio jarak tempuh marker (norit) terhadap panjang usus keseluruhan.

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung dan merupakan variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti. Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu berat badan mencit, peneliti, pakan yang diberikan, kondisi fisik hewan uji, keadaan mencit, dan kondisi lingkungan.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, tumbuhan daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) adalah jenis tumbuhan nangka yang didapatkan dari daerah Sragen, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun nangka adalah hasil pemanenan dengan keadaan masih segar diproses dengan sortasi basah, dicuci dan dipilah sesuai kriteria, kemudian ditiriskan dan dikeringkan dengan meletakkan daun nangka ditempat terbuka lalu ditutup dengan kain agar tidak terpapar matahari langsung, kemudian daun disortasi kering dan dihaluskan memakai blender, setelah itu diayak.

Ketiga, ekstrak etanol daun nangka diperoleh melalui proses maserasi serbuk daun nangka menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 50%, 70%, dan 96%, kemudian hasilnya diuapkan menggunakan alat rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental, lalu dilakukan penetapan kadar total fenol.

Keempat, hewan uji adalah hewan mencit dengan berat 20-30 gram dan memiliki usia 2-3 bulan yang dipelihara secara khusus dengan tujuan untuk penelitian atau pengujian di laboratorium, hewan uji diinduksi *oleum ricini* sehingga mengalami diare.

Kelima diare adalah perubahan konsistensi feses menjadi lembek ataupun berlendir pada hewan uji mencit.

Keenam, peningkatan waktu transit usus adalah waktu lebih lama yang dibutuhkan makanan untuk melalui saluran pencernaan dari awal hingga akhir, yang menyebabkan seringnya buang air besar karena feses bergerak lebih cepat melalui usus.

Ketujuh, metode transit intestinal adalah metode yang digunakan dalam pengujian antidiare dengan cara menghitung rasio jarak usus yang ditempuh oleh marker (norit) terhadap panjang usus keseluruhan.

Kedelapan, dosis efektif adalah konsentrasi dosis terkecil untuk hewan uji mencit yang dapat memberikan efek antidiare sebanding dengan kelompok kontrol positif yaitu loperamid HCL.

C. Alat, Bahan, dan Hewan Uji

1. Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak, simplisia kering serta ekstrak meliputi pisau, wadah penampung, corong, alkohol meter, neraca analitik, jar, ayakan, blender, gelas beaker, batang pengaduk, *rotary evaporator*, kurs, alat destilasi, tabung reaksi, desikator dan oven. Peralatan yang digunakan dalam perlakuan terhadap hewan uji mencakup jarum oral (sonde), spuit, kandang mencit, seperangkat alat bedah, pisau, meteran pita (cm), serta alat pelindung diri seperti sarung tangan (handscoon) dan masker. Peralatan yang digunakan untuk penetapan kadar fenol total mencakup alat gelas, pipet volume, corong, pengaduk magnetik, neraca analitik, mikropipet, dan spektrofotometer UV-Vis.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan berupa daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) yang diperoleh dari daerah Sragen, Jawa Tengah yang masih segar. Bahan yang digunakan berupa pelarut etanol 50%, etanol 70%, etanol 96%, *aquadest*, Loperamid HCL sebagai kontrol positif, dan CMC-Na sebagai kontrol negatif, *oleum ricini* sebagai penginduksi diare dan norit sebagai marker. Bahan pada penetapan kadar fenol total mencakup ekstrak daun nangka, asam galat p.a, Folin-Ciocalteu p.a, metanol P dan Natrium karbonat p.a.

3. Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa mencit jantan galur swiss webster berumur 2 hingga 3 bulan dengan berat badan antara 20 hingga 30 gram. Sebanyak 24 ekor mencit digunakan dan dibagi ke dalam enam kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif, serta tiga kelompok perlakuan yang masing-masing diberikan ekstrak etanol daun nangka dengan konsentrasi 50%, 70%, dan 96%.

D. Jalannya Penelitian

1. Pembuatan *Ethical Clearance*

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2016 tentang Penyelenggaraan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, setiap kegiatan penelitian yang melibatkan subjek manusia atau hewan uji wajib mematuhi prinsip-prinsip etika penelitian yang berlaku. Penelitian ini merupakan bagian dari upaya

untuk mendukung pelayanan kesehatan guna meningkatkan kualitas kesehatan masyarakat secara optimal. Prosedur *ethical clearance* untuk penelitian ini dilakukan di RSUD Dr. Moewardi, Jebres, Kota Surakarta, Jawa Tengah.

2. Karakteristik Tumbuhan

2.1 Determinasi tumbuhan. Langkah awal dalam penelitian ini adalah memastikan keaslian tanaman melalui identifikasi ciri morfologi daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* L.) dengan cara melakukan determinasi. Proses determinasi tersebut dilakukan di UPT Laboratorium Universitas Setia Budi.

2.2 Pengambilan bahan. Daun nangka yang digunakan berasal dari wilayah Sragen, Jawa Tengah. Daun yang dipilih merupakan daun yang masih segar dan dalam kondisi baik, tanpa kerusakan.

2.3 Pengeringan bahan. Daun nangka dicuci dengan air mengalir sampai bersih agar tidak ada kotoran atau benda asing yang menempel pada daun nangka. Daun nangka yang telah dicuci lalu dikering anginkan agar kandungan air berkurang setelah proses pencucian. Pengeringan dilakukan dengan dijemur dibawah panas matahari.

2.4 Pembuatan serbuk. Pembuatan serbuk dilakukan pada daun nangka yang telah kering sebanyak 2,1 kg dan kemudian dilanjutkan dengan proses penggilingan atau dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan nomor mesh 40 sehingga didapatkan serbuk daun nangka dengan berat 2 kg.

3. Identifikasi Serbuk Daun Nangka

3.1 Pemeriksaan organoleptis serbuk. Pemeriksaan organoleptis serbuk dilakukan dengan tujuan mengetahui sifat fisik dan kualitas serbuk dilihat dari segi bentuk, warna, bau, dan rasa.

3.2 Penetapan susut pengeringan serbuk. Penetapan susut pengeringan bersumber dari (FHI, 2017) kecuali dinyatakan lain di pedoman, simplisia wajib berwujud serbuk menggunakan derajat halus nomor 8, suhu oven 105°C serta susut pengeringan ditentukan dengan menimbang tepat 1 hingga 2 g simplisia di botol timbang dengan tutup rapat yang lebih dahulu sudah dipanaskan dengan suhu penentuan dan ditara. Ratakan bahan di botol timbang dengan menggojok botol, sampai menghasilkan lapisan kurang lebih 5 sampai 10 mm, tambahkan di tempat pengering, buka tutupnya, keringkan dengan suhu penentuan sampai bobot tetap. Sebelum melakukan pengeringan, diamkan botol

pada suasana tertutup hingga dingin di eksikator sampai temperatur ruang. Rumus susut pengeringan adalah:

% susut pengeringan =

$$\frac{\text{bobot sampel sebelum dikeringkan} - \text{bobot sampel setelah dikeringkan}}{\text{bobot sampel sebelum dikeringkan}} \times 100\%$$

4. Pembuatan Etanol 96%, 70% dan 50%

Pembuatan pengenceran etanol yang pertama yaitu 96% ke konsentrasi 96%. Di wadah pertama, ukur 5000 mL (5 L) etanol 96% menggunakan gelas ukur, lalu diukur kadar etanol dengan menggunakan alat alkohol meter dan disimpan dalam wadah berlabel (etanol 96%). Selanjutnya, pengenceran 96% ke konsentrasi 70%. Di wadah kedua untuk 5000 mL (5 L), ukur 3645,83 mL etanol 96%, lalu tambahkan 1354,17 mL *aquadest*, lalu diukur kadar etanol dengan menggunakan alat alkohol meter dan disimpan dalam wadah berlabel (etanol 70%). Kemudian, pengenceran etanol 96% ke konsentrasi 50%. Di wadah ketiga untuk 5000 mL (5 L), ukur 2604,17 mL etanol 96%, kemudian tambahkan 2395,83 mL *aquadest*, lalu diukur kadar etanol dengan menggunakan alat alkohol meter dan disimpan dalam wadah berlabel (etanol 50%). Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 8.

5. Pembuatan Ekstrak Daun Nangka

Pembuatan ekstrak serbuk simplisia daun nangka dipisahkan dengan cara maserasi dengan menggunakan etanol 50%, 70%, dan 96% sebagai bahan larut. Serbuk simplisia daun nangka sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam botol gelap masing-masing, kemudian ditambahkan etanol 50%, 70%, dan 96% sebanyak 5000 mL (5 L) dengan perbandingan 1:10, kemudian ditutup. Rendam konsentrat selama kurang lebih 6 jam, aduk sesekali lalu diamkan selama 18 jam.

Melakukan filtrasi untuk memisahkan maserat, lalu filtrat dipisahkan dengan ampas menggunakan kain flannel. Ampas dimaserasi kembali (remaserasi) ditambahkan setengah kali pelarut pertama sebanyak 2500 mL (2,5 L). Setelah itu, ekstrak direndam selama 6 jam pertama sambil diaduk sesekali. Kemudian biarkan selama 18 jam dan saring filtrat. Lalu filtrat 1 dan filtrat 2 disatukan, dalam pemekatan filtrat dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator*, untuk memperoleh sediaan kental filtrat harus diuapkan dengan *waterbath* sampai dihasilkan ekstrak kental. Kemudian ekstrak kental daun nangka dilakukan uji bebas etanol dan siap digunakan untuk penelitian selanjutnya (Kemenkes RI, 2017). Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Rendeman} = \frac{\text{bobot ekstrak (gram)}}{\text{bobot serbuk (gram)}} \times 100 \%$$

6. Identifikasi Ekstrak Daun Nangka

6.1 Pemeriksaan organoleptis ekstrak. Pemeriksaan organoleptis ekstrak dilakukan dengan tujuan mengetahui sifat fisik dan kualitas ekstrak dilihat dari segi bentuk, warna, bau, dan rasa.

6.2 Penetapan kadar air ekstrak daun nangka. Penetapan kadar air ekstrak dilakukan menggunakan cara destilasi toluen. Toluene diuapkan dengan air terlebih dahulu lalu 10 gram ekstrak ditimbang dan dimasukkan ke labu alas bulat. Tambahkan 200 mL toluen yang telah diuapkan menggunakan air sebanyak 20 mL dan dipanaskan selama 15 menit. Setelah semua tersuling, lanjutkan dengan pemanasan selama 5 menit.

$$\% \text{ Kadar air ekstrak} = \frac{\text{Volume air}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100 \%$$

6.3 Uji bebas etanol ekstrak daun nangka. Identifikasi bebas etanol dilakukan dengan uji esterifikasi, yaitu dengan menambahkan (asam sulfat pekat) H_2SO_4 dan (asam asetat) CH_3COOH ke dalam ekstrak, lalu dipanaskan. Hasil uji dinyatakan positif bebas etanol apabila tidak tercium bau khas ester yang berasal dari etanol (Tivani *et al.*, 2021).

6.4 Identifikasi kandungan senyawa kimia daun nangka. Tujuan dari identifikasi senyawa kimia pada daun nangka adalah untuk membuktikan keberadaan serta kebenaran kandungan zat atau bahan aktif di dalamnya.

6.4.1 Identifikasi tanin. Sebanyak 10 tetes ekstrak etanol daun nangka ditetesi dengan 2 tetes larutan FeCl_3 1%. Munculnya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan keberadaan senyawa tanin (Kusumawati *et al.*, 2017).

6.4.2 Identifikasi flavonoid. Sebanyak 10 tetes ekstrak etanol daun nangka dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium, 2 tetes asam klorida pekat, serta 2–3 tetes amil alkohol. Campuran dikocok lalu dibiarkan hingga terjadi pemisahan. Hasil uji menunjukkan adanya flavonoid apabila lapisan amil alkohol menunjukkan perubahan warna menjadi merah, kuning, atau jingga (Kusumawati *et al.*, 2017).

6.4.3 Identifikasi alkaloid. Sebanyak 3 tetes ekstrak etanol daun nangka dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi yang berbeda. Pada tabung pertama, penambahan dua tetes pereaksi Mayer menghasilkan endapan berwarna putih atau kuning. Tabung kedua diberi dua tetes

pereaksi wagner yang menghasilkan endapan berwarna coklat hingga hitam. Sedangkan pada tabung ketiga, penambahan pereaksi dragendorff menghasilkan endapan jingga. Uji alkaloid dinyatakan positif apabila minimal dua dari tiga percobaan tersebut menunjukkan terbentuknya endapan (Kusumawati *et al.*, 2017).

6.4.4 Identifikasi saponin. Sebanyak 5 tetes ekstrak etanol daun nangka dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan air panas dan dikocok selama 15 menit. Setelah itu, ditambahkan 1 tetes asam klorida 2 N. Pembentukan busa yang stabil menunjukkan adanya senyawa saponin (Kusumawati *et al.*, 2017).

6.4.5 Identifikasi triterpenoid/steroid. Sebanyak 10 tetes ekstrak etanol daun nangka dimasukkan ke dalam tabung reaksi, Setelah itu ditambahkan 2 ml n-heksana dan tambah larutan pereaksi Liebermann Burchard. Munculnya warna ungu menunjukkan hasil positif untuk senyawa triterpenoid, sedangkan warna hijau kebiruan mengindikasikan adanya senyawa steroid (Utama, 2017).

7. Penetapan Kadar Fenol Total Cara Folin-Ciocalteu

7.1 Pembuatan larutan induk asam galat. Membuat larutan induk asam galat 1000 ppm. Menimbang sebanyak 10 mg asam galat, masukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan menghasilkan konsentrasi 1000 ppm. Larutkan dengan metanol P, tambahkan metanol P sampai tanda.

Rumus larutan stok :

$$\text{ppm} = \frac{\text{massa zat terlarut (mg)}}{\text{volume larutan (L)}}$$

Rumus pengenceran : $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$

Keterangan :

V1 = Volume sampel yang diambil

C1 = Konsentrasi sampel yang diambil

V2 = Volume sampel yang diambil

C2 = Konsentrasi larutan yang akan dibuat

Buat seri pengenceran konsentrasi 10 ppm dengan memipet 0,1 mL, konsentrasi 20 ppm dengan memipet 0,2 mL, konsentrasi 30 ppm dengan memipet 0,3 mL, konsentrasi 40 ppm dengan memipet 0,4 mL, konsentrasi 50 ppm dengan memipet 0,5 mL, masukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan larutkan dengan metanol P sampai tanda.

7.2 Penentuan panjang gelombang maksimum. Reaksikan seri pengenceran konsentrasi 30 ppm dengan pereaksi. Lakukan

scanning panjang gelombang 550-800 nm. Sehingga panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 733 nm.

7.3 Penentuan *operating time*. Reaksikan seri pengenceran konsentrasi 30 ppm dengan pereaksi. Lakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 733 nm selama 70 menit. Berdasarkan hasil pengukuran, absorbansi menunjukkan kestabilan pada menit ke 42 hingga menit ke 44.

7.4 Pembuatan kurva kalibrasi asam galat. Membuat larutan asam galat dengan konsentrasi 10,20,30,40,50 ppm. Selanjutnya pipet sejumlah 1 mL disetiap konsentrasi kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL lalu tambahkan 5,0 ml enceran Folin-Ciocalteu LP (7,5% dalam air). Diamkan selama 8 menit, lalu tambahkan 4,0 mL NaOH 1%. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 42 menit hingga 44 menit. Dinilai absorbansinya melalui panjang gelombang maksimal yaitu 733 nm.

7.5 Pembuatan larutan uji untuk ekstrak. Timbang saksama lebih kurang 0,2 g ekstrak, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer, tambahkan 10 mL metanol P, aduk selama 30 menit dengan pengaduk magnetik. Saring ke dalam labu tentukur 10 mL, tambahkan metanol P melalui penyaring sampai tanda.

7.6 Penetapan kadar fenol total. Mengambil larutan ekstrak 1 mL dan dimasukkan kedalam labu tentukur 10 mL, selanjutnya tambahkan 5,0 ml enceran Folin-Ciocalteu LP (7,5% dalam air). Diamkan selama 8 menit, lalu tambahkan 4,0 mL NaOH 1%, inkubasi selama 42 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 733 nm. Penilaian dilaksanakan melalui pengulangan 3 kali. Lakukan pengukuran blangko dengan cara yang sama. Kadar fenol total ekstrak dinilai memakai pengganti nilai-nilai absorbansi rerata sampel pada persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi guna mendapati konsentrasinya. Nilai konsentrasi sampel yang dipakai selanjutnya disubstitusikan kembali pada rumus penilaian kadar fenol total, yaitu :

$$\text{Kadar fenol total} = \frac{x.V.FP}{BS} \times 100$$

Keterangan : x = Konsentrasi
 V = Volume larutan sampel (ekstrak)
 FP = Faktor pengenceran larutan sampel
 BS = Berat sampel

8. Pengujian Antidiare

8.1 Penentuan dosis ekstrak etanol daun nangka. Dosis sediaan uji yang akan diberikan pada kelompok perlakuan dengan variasi dosis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun nangka sebesar 500 mg/kgBB mencit yang diperoleh dari penelitian sebelumnya yang dilakukan Santoso dan Fibri (2018).

8.2 Penentuan dosis loperamide HCL. Pemberian loperamid sebagai kontrol positif. Konversi dosis pada manusia ke mencit 20 gram adalah 0,0026. Dosis loperamid untuk mencit $2 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,0052 \text{ mg/20 g BB mencit}$.

8.3 Penentuan dosis CMC-Na 0,5%. Pemberian CMC 0,5% sebagai kontrol negatif pada mencit sebanyak 0,5 ml/20 g BB mencit.

8.4 Dosis. Rancangan dosis dibuat pada masing-masing kelompok perlakuan kontrol positif dengan loperamid HCL dosis 0,0052 mg/20 g BB mencit, kontrol negatif dengan CMC-Na dosis 0,5 ml/20 g BB mencit, kelompok EEDN 50% dengan dosis 500 mg/kgBB mencit, kelompok EEDN 70% dengan dosis 500 mg/kgBB mencit, kelompok EEDN 96% dengan dosis 500 mg/kgBB mencit.

8.5 Pembuatan larutan CMC-Na 0,5%. Larutan CMC-Na 0,5% disiapkan dengan cara menimbang sebanyak 500 mg CMC-Na, kemudian dilarutkan ke dalam 10 mL *aquadest* panas, ditutup, dan didiamkan sekitar 30 menit hingga terbentuk massa yang homogen. Setelah itu, larutan diencerkan dengan *aquadest* hingga mencapai volume akhir 100 mL.

8.6 Pembuatan suspensi loperamid HCL. Suspensi dibuat dengan menggerus 1 tablet loperamid HCL 2 mg, lalu timbang CMC-Na 500 mg ditambahkan *aquadest* hangat lalu digerus, setelah itu serbuk loperamid dimasukkan dalam mortir digerus dan dicampur hingga homogen, ditambahkan *aquadest* ad 100 mL.

8.7 Pembuatan suspensi ekstrak daun nangka. Pembuatan suspensi ekstrak etanol daun nangka. Timbang 5000 mg ekstrak etanol daun nangka dimasukkan dalam mortir, lalu ditimbang CMC-Na 0,5% ditambahkan *aquadest* hangat lalu digerus sampai terbentuk mucilage, setelah itu ekstrak etanol daun nangka dimasukkan dalam mortir digerus sampai homogen, ditambahkan *aquadest* ad 100 mL.

8.8 Pembuatan suspensi norit. CMC-Na 500 mg ditaburkan diatas air panas selama 15 menit dan digerus ad homogen. Norit

sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam mortir kemudian digerus homogen lalu tambah *aquadest* hingga 100 mL.

8.9 Pengelompokan hewan uji. Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa 24 ekor mencit jantan berusia 2–3 bulan dengan rata-rata berat badan antara 20 hingga 30 gram. Mencit diberi makan yang sama dan dipelihara dalam kandang. Mencit diadaptasi selama seminggu agar beradaptasi dengan kondisi eksperimental dan mengelola kesehatan mereka.

Hewan uji dikelompokkan menjadi 6 kelompok, dengan masing-masing kelompok terdiri atas 4 ekor mencit. Jumlah hewan uji ditentukan menggunakan rumus Federer dan hasil perhitungannya disajikan pada bagian lampiran 18.

Hasil setiap kelompok terdiri dari 4 ekor mencit dan mendapatkan perlakuan sebagai berikut :

Kelompok I : Kontrol normal. Tidak diberikan perlakuan

Kelompok II : Kontrol negatif. CMC-Na 0,5%

Kelompok III : Kontrol positif. Loperamid HCL 0,0052 mg/20 g BB mencit

Kelompok IV : Dosis I diberi EEDN 50% 500 mg/kgBB mencit

Kelompok V : Dosis II diberi EEDN 70% 500 mg/kgBB mencit

Kelompok VI : Dosis III diberi EEDN 96% 500 mg/kgBB mencit

Keterangan : EEDN - Ekstrak Etanol Daun Nangka

9. Prosedur Uji Antidiare

Mencit jantan dalam kondisi sehat dengan berat badan 20-30 g, diadaptasi selama 1 minggu. Dikelompokkan menjadi 6 kelompok perlakuan dan ditimbang satu per satu. Hewan uji dipuasakan makan selama 8 jam sebelum percobaan dimulai, namun minum masih tetap diberikan.

Semua kelompok kecuali kelompok I (kontrol normal), diberi *oleum ricini* untuk memberikan efek diare pada mencit secara oral, setelah satu jam pemberian *oleum ricini*, kemudian diberi perlakuan. Kelompok I tidak diberikan perlakuan apapun sebagai kontrol normal, kelompok II sebagai kontrol negatif diberi CMC-Na dosis 0,5 ml/20 g BB mencit, kelompok III sebagai kontrol positif diberi loperamid HCl dosis 0,0052 mg/20 g BB mencit, kelompok IV diberi EEDN 50% dengan dosis 500 mg/kgBB mencit, kelompok V diberi EEDN 70% dengan dosis 500 mg/kgBB mencit, kelompok VI diberi EEDN 96% dengan dosis 500 mg/kgBB mencit.

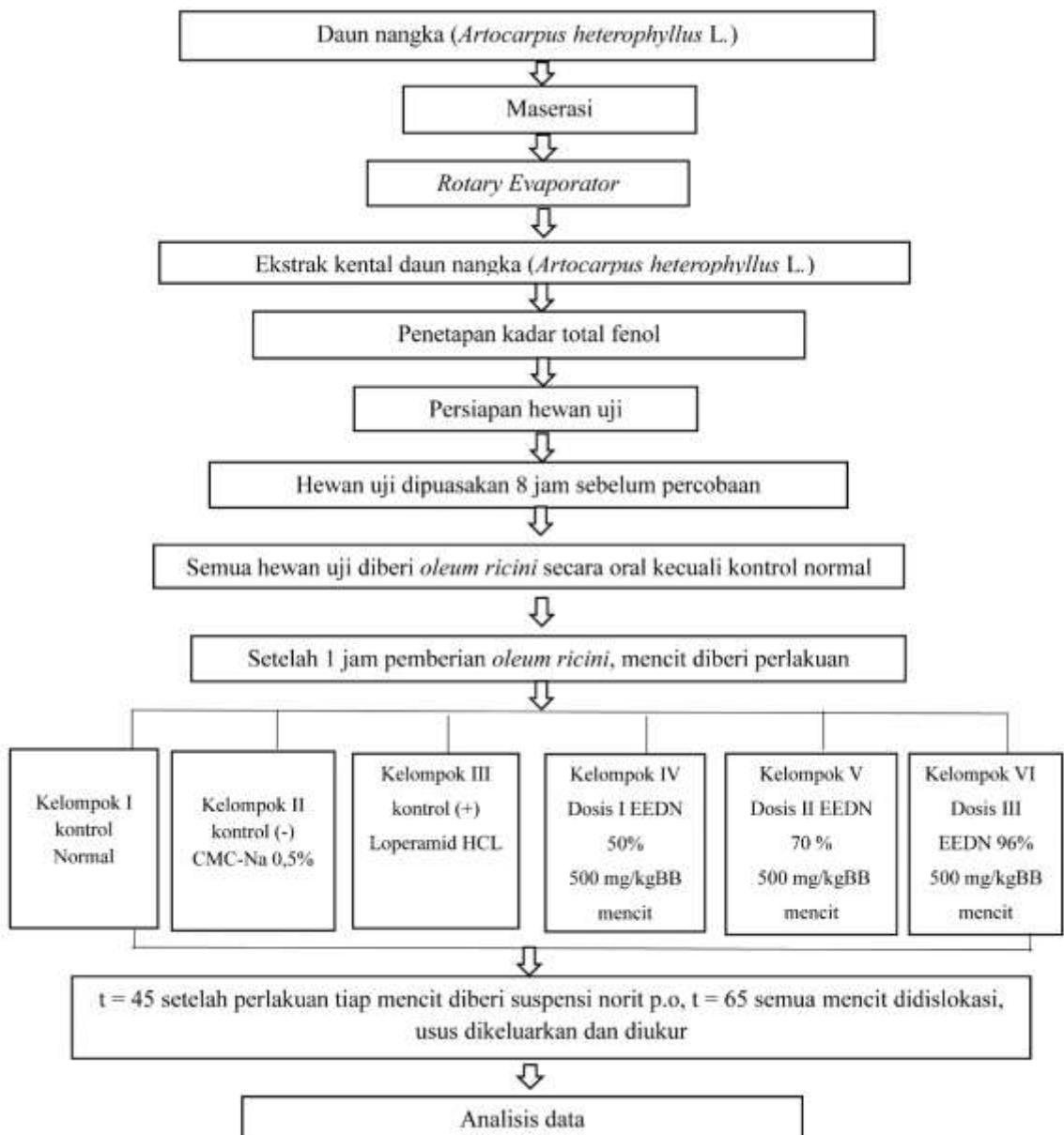
Setelah waktu 45 menit diberi perlakuan, semua mencit diberikan norit secara oral sebagai parameter uji. Pada waktu 65 menit setelah pemberian norit, mencit dikorbankan secara dislokasi tulang leher. Bedah rongga perut mencit, lalu usus dikeluarkan secara hati-hati. Ukur panjang usus yang dilalui marker mulai dari pylorus hingga ujung akhir (yang berwarna hitam) dengan menggunakan meteran pita (cm). Dihitung masing-masing rasio transit usus dan persentase penghambatannya. Jika rasio yang dihasilkan semakin kecil maka efek antidiare yang dihasilkan semakin baik dengan cara memperlambat motilitas usus (Wahid *et al.*, 2018). Panjang usus yang dilalui marker norit dicatat dan dibandingkan dengan panjang total usus. Persentase lintasan marker dan persentase penghambatan dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\begin{aligned} \text{Rasio \%} &= \frac{P. \text{ usus yang dilewati marker (cm)}}{P. \text{ usus keseluruhan (cm)}} \times 100 \% \\ \% \text{ Penghambatan} &= \\ &= \frac{\text{Rasio kontrol negatif} - \text{Rasio kelompok uji}}{\text{Rasio kontrol negatif}} \times 100 \% \end{aligned}$$

E. Analisis Hasil

Dari hasil pengujian terhadap 6 kelompok perlakuan terhadap mencit Jantan, dari data metode transit intestinal yang dianalisa secara statistik menggunakan uji *Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Data dikumpulkan dan dilakukan normalitas menggunakan uji *Saphiro-wilk*. Setelah dilakukan pengujian memenuhi syarat dianalisis secara statistik dengan metode *One-way ANOVA*, jika data menunjukkan perbedaan yang signifikan dilanjutkan menggunakan uji *Post Hoc Tukey*.

F. Skema Penelitian



Gambar 3. Skema Penelitian