

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli–Oktober 2009. Pembuatan ekstrak rimpang rumput teki dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, dan pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung sedangkan pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT dilakukan di Klinik Dira Medika Bandar Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari : kandang mencit yang terbuat dari kawat dan papan sebanyak 25 kandang dengan ukuran 15x15 cm, tempat makanan dan minuman mencit, kertas label yang digunakan untuk menandai konsentrasi ekstrak rimpang rumput teki, gunting untuk memotong rimpang rumput teki, kertas koran sebagai alas untuk tempat mengering anginkan rimpang teki, spuit yang ujungnya ditumpulkan dengan diberi pipa karet kecil, spuit steril yang digunakan

untuk mengambil darah mencit, kamera untuk mengambil foto, ayakan mesh-48 untuk menghaluskan bubuk ekstrak rimpang rumput teki, kertas saring untuk menyaring ekstrak, toples untuk wadah maserasi, *rotary evaporator* untuk memekatkan ekstrak rimpang rumput teki, pisau kater untuk menyembelih leher mencit pada saat pengambilan darah dan tabung *venoject* yang mengandung EDTA (*Ethylen Diamine Tetra Acetat*) sebagai tempat untuk sampel darah serta *Spektrofotometer Varta – 307* yang digunakan sebagai alat untuk analisis SGOT dan SGPT.

2. Bahan

Penelitian ini menggunakan mencit betina sebanyak 24 ekor berumur 3-4 bulan dengan berat sekitar ± 40 gram diperoleh dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung. Pelet ayam sebagai makanan mencit, rimpang rumput teki kering sebanyak 500 gram yang diperoleh dari Bandar Lampung dan Depok, etanol p.a. sebagai pelarut untuk mengekstrak rumput teki, aquabidest untuk pengenceran ekstrak rumput teki, aseton untuk melarutkan ekstrak kering, kloroform untuk anestesi mencit, reagent ALT untuk pemeriksaan SGPT dan reagent AST untuk pemeriksaan SGOT.

C. Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan Kandang

Persiapan Kandang dilaksanakan dengan mempersiapkan kandang yang terbuat dari kawat dan kayu yang berukuran 15 x 15 cm sebanyak 24 unit.

2. Pemeliharaan Hewan Uji

Pada penelitian ini digunakan hewan uji yaitu mencit betina yang berumur 3-4 bulan sejumlah 24 ekor dengan berat tiap-tiap mencit sekitar ± 40 gram yang diperoleh dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung. Selanjutnya hewan uji diaklimatisasi selama 1 minggu dalam kondisi laboratorium yang bertujuan untuk penyesuaian mencit tersebut terhadap lingkungan dan diberi perlakuan untuk membatasi pengaruh dari lingkungan ke dalam penelitian.

Mencit dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok perlakuan yang tiap-tiap kelompok terdiri dari 6 ekor mencit betina sebagai ulangan. Setiap hari mencit betina diberi pelet ayam sebagai pakan dan air minum, serta ekstrak rimpang rumput teki dengan konsentrasi yang berbeda-beda pada setiap kelompok. Waktu pencekakan pada pagi hari pukul 10.00 WIB.

3. Pembuatan Ekstrak Rimpang Rumput Teki

Pembuatan ekstrak rimpang rumput teki diawali dengan identifikasi tumbuhan untuk memastikan rimpang yang diambil berasal dari tumbuhan rumput teki (*C. rotundus* L.), kemudian rimpang dibersihkan (dicuci) dan dikeringanginkan. Rimpang yang telah kering selanjutnya digiling hingga menjadi serbuk, kemudian serbuk tersebut diekstrak dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol p.a. Ekstrak rimpang rumput teki lalu

dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 35°C dengan kecepatan 60 rpm selama 1 jam, sehingga diperoleh ekstrak rimpang rumput teki yang diinginkan. Selanjutnya ekstrak pekat cair yang didapat diencerkan sampai dosis tertentu sesuai kebutuhan.

4. Pemberian Perlakuan Ekstrak Rimpang Rumput Teki

Menurut Sa'roni dan Wahjoedi (2002) tentang "Pengaruh Infus Rimpang *Cyperus rotundus* L. Terhadap Siklus Estrus Dan Bobot Uterus Pada Tikus Putih", perlakuan yang diberikan yaitu:

1. Kelompok kontrol dengan 1 ml/100g BB (A)
2. Kelompok dosis 11,25 mg/100g dalam 1 ml/100g BB (B)
3. Kelompok dosis 112,5 mg/100g dalam 1 ml/100g BB (C)
4. Kelompok dosis 337,5 mg/100g dalam 1 ml/100g BB (D)

Dosis tersebut didapat dari serbuk rimpang rumput teki 11,25 mg dan diberikan pada hewan uji tikus putih dengan berat 100g (2,5 X berat mencit), kemudian dikonversi ke berat mencit yang dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok, sehingga dosis ekstrak rimpang rumput teki yang digunakan setelah diencerkan menggunakan aquabidest, didapatkan dosis sebagai berikut:

Kontrol (K) perlakuan 0 mg/40g BB dalam 96 ml aquabidest

Perlakuan (P1) 4,5 mg/40g BB dalam 96 ml aquabidest

Perlakuan (P2) 45 mg/40g BB dalam 96 ml aquabidest

Perlakuan (P3) 135 mg/40g BB dalam 96 ml aquabidest.

Ekstrak rimpang rumput teki diberikan pada tiap–tiap kelompok perlakuan secara oral (dicekok) menggunakan spuit yang ujungnya ditumpulkan dan diberi pipa karet kecil. Pencekokan dilakukan setiap hari pukul 10.00 WIB selama 14 hari, kemudian setelah 14 hari baru dilakukan pengambilan serum darah mencit betina.

5. Pengambilan Serum Darah

Pengambilan serum darah mencit betina dilakukan dengan cara menyembelih bagian leher mencit dengan menggunakan pisau kater. Darah sebanyak ± 2 ml yang keluar melalui vena duktualis dari leher dialirkan masuk ke dalam tabung *venoject* steril berukuran 2 ml yang mengandung EDTA (*Ethylen Diamine Tetra Acetat*) sebanyak 0,10 ml untuk menjaga agar darah tidak beku dan lisis sampai darah dapat dianalisis. Selanjutnya tabung *venoject* yang telah berisi sampel darah ditutup agar tetap steril dan tidak terkontaminasi oleh bakteri, jamur dan lain-lain. Kemudian tabung *venoject* dimasukkan ke dalam *box ice* dengan tujuan agar darah tidak menggumpal sebelum sampel darah dianalisis menggunakan *Spektrofotometer Varta – 307* untuk mengetahui kadar enzim SGOT dan SGPT pada darah. Sebaiknya darah yang akan dianalisis tidak boleh lebih dari 20 menit dari proses pengambilannya atau maksimal tidak lebih dari 2 hari jika disimpan di dalam *refrigerator* agar tidak terjadi hemolisis.

6. Analisis Kadar Enzim SGOT dan SGPT

Analisis kadar enzim SGOT dan SGPT mencit betina dilakukan di klinik Dira Medika Bandar Lampung. Tahap-tahap pemeriksaan enzim SGOT dan SGPT adalah sebagai berikut :

- a. Darah yang diambil didiamkan hingga serum terpisah dari darah (tidak boleh lebih dari 20 menit dari proses pengambilannya)
- b. Reagent untuk pemeriksaan enzim SGOT dan SGPT dibuat dengan perbandingan reagent 1 dan reagent 2 adalah 1:1
- c. Serum diambil sebanyak 25 μ l.
- d. Serum ditambahkan ke dalam campuran reagent 1 dan reagent 2 sebanyak 250 μ l, kemudian dicampur.
- e. Larutan kemudian dibaca pada panjang gelombang 340 nm terhadap aquades dengan alat *Spektrofotometer Varta – 307* sehingga dapat diketahui kadar enzim SGOT dan SGPT.

Untuk pemeriksaan kadar enzim SGPT digunakan *reagent* ALT yang terdiri dari *reagent* 1 dengan komposisi TRIS, *L-Aspartate*, LDH, *sodium azide* dan *reagent* 2 dengan komposisi *2-Oxoglutarate*, NADH, *sodium azide*. Pada pemeriksaan kadar enzim SGOT digunakan *reagent* AST yang terdiri dari *reagent* 1 dengan komposisi TRIS, *L-Aspartate*, MDH, *sodium azide* dan *reagent* 2 dengan komposisi *2-Oxoglutarate*, NADH, *sodium azide*. Adapun prinsip kerja dari *Spektrofotometer Varta – 307* adalah dengan menggunakan prinsip Spektrofotometri yaitu interaksi antara sampel dengan energi cahaya pada panjang gelombang tertentu (Fessenden dan Fessenden,1982).

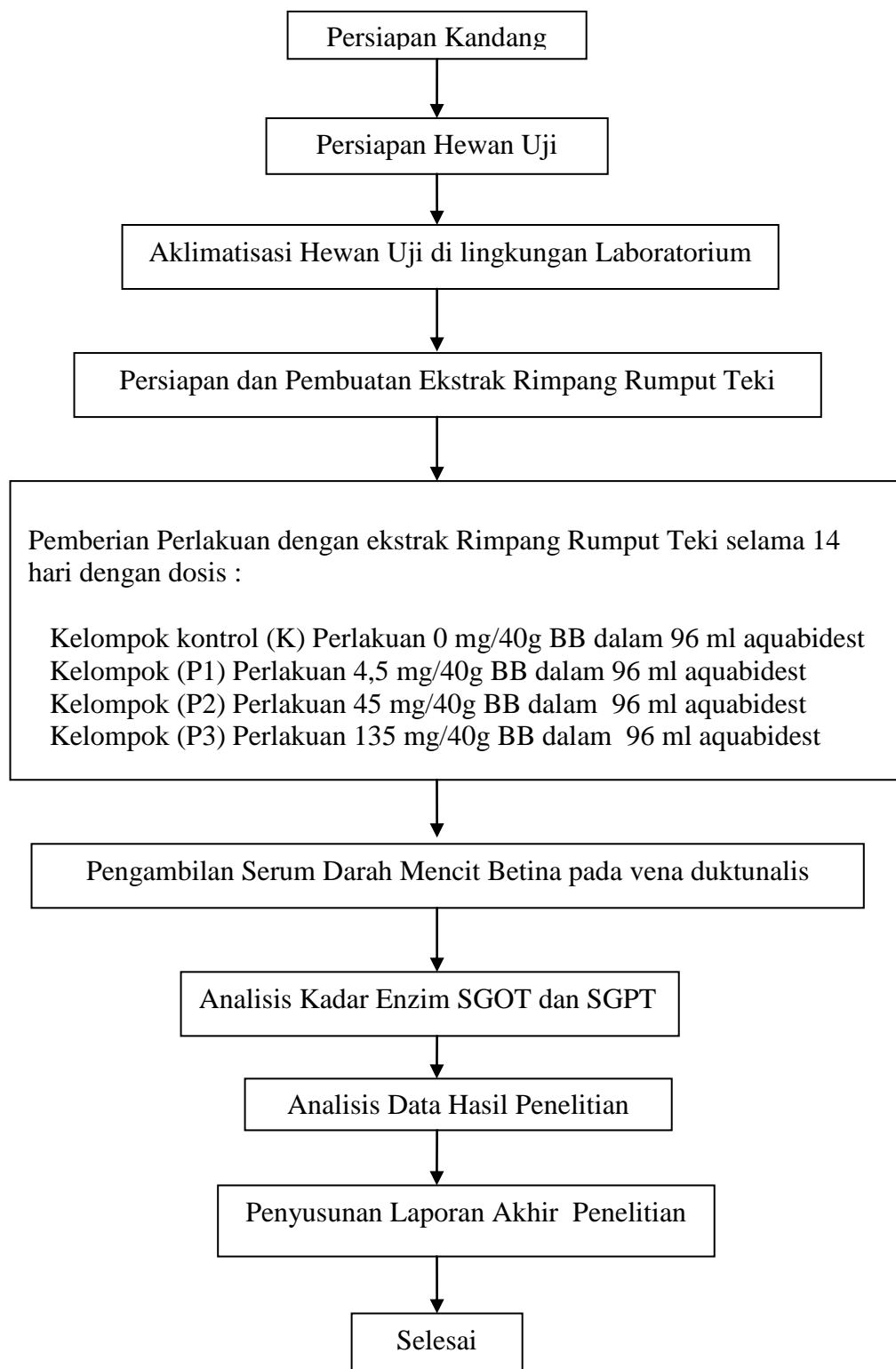
7. Parameter yang Diamati

Adapun parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu, uji fungsi hati pada mencit betina setelah pemberian ekstrak rimpang rumput teki selama 14 hari dengan analisis kadar SGOT dan SGPT.

D. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) serta menggunakan tiga perlakuan, satu kontrol dengan ulangan sebanyak enam kali. Data yang didapat diolah secara statistik menggunakan analisis ragam (ANARA) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan dari perlakuan yang diberikan. Apabila ada perbedaan berarti yang berbeda nyata maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5% sebagai perbandingan dari tiap-tiap kelompok.

E. Diagram Alir Penelitian



Gambar 5. Diagram Alir Penelitian