

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 40 ekor tikus galur Wistar yang berumur sekitar 2 bulan dengan berat badan berkisar antara 120-200 g/BB yang diberi makan pelet dan minum selama percobaan. Larutan Bouin, Alkohol bertingkat (70%, 80%, 90% dan 100%), xylol, methanol, eter, n-heksana, parafin, albumin mayer, aquades, Hematoxylin-Eosin, entelan, minyak emersi, CCl_4 , minyak kelapa, ekstrak batang brotowali, asam pikrat, HCl, TCA, larutan tris (hidroksi metil), larutan sukrosa 0,25 M, TBA dan es batu.

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan, kandang hewan percobaan, mikrotom, mikroskop, hotplate, oven, foto mikroskop, maselator, spektrofotometer spektronik 21, gelas wool, rotary evaporator, homogenisator.

3.2 Rancangan Penelitian

Untuk pengamatan struktur histologis dan kadar MDA Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan tiga perlakuan dan empat kali ulangan.

K_0 : kelompok kontrol negatif yang tidak mendapat perlakuan apapun.

K_1 : kelompok kontrol positif yang diberi CCl_4

P: Perlakuan yang diberi ekstrak brotowali + CCl_4

3.3 Cara kerja

3.3.1 Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus galur wistar yang berumur kurang lebih dua bulan dengan berat badan berkisar antara 120 – 200 gram yang diperoleh dari FMIPA Universitas Andalas.

3.3.2 Penyiapan Ekstrak Batang Brotowali

Batang brotowali sebanyak 10 kg, kemudian dibuat ekstraknya. Proses pembuatan ekstrak batang brotowali dapat dilihat pada bagan alir pada Lampiran 4.

3.3.3 Pemberian Perlakuan

Tikus sebanyak 20 ekor dibagi tiga kelompok yaitu:

- a. K_0 = kelompok kontrol negatif, 4 ekor tikus langsung dibunuh pada hari pertama penelitian.
- b. K_1 = kelompok kontrol positif, 8 ekor tikus selama 8 hari diberi NaCl 0,9 % sebanyak 1,5 ml/ekor. Pada hari ke sembilan diberi CCL_4 dengan dosis 1ml/ kgbb. Pada hari ke dua setelah pemberian CCL_4 kemudian 4 ekor tikus dibunuh dan 4 ekor lagi dibunuh pada hari keempat setelah pemberian CCL_4 .
- c. P = kelompok perlakuan yang diberi ekstrak batang brotowali dengan dosis 20 mg/200 gbb selama 8 hari berturut, dan pada hari ke-9 diberi CCL_4 sebanyak 1 ml/200 g bb. Pada hari ke-2 setelah pemberian CCL_4 4 ekor tikus dibunuh dan 4 ekor lagi dibunuh pada hari ke-4 setelah pemberian CCL_4 .

3.3.4 Pembuatan Preparat awetan dengan metoda Paraffin

Pembuatan preparat paraffin dilakukan menurut metode Suntoro (1983) yang mengalami modifikasi. Setelah pembuatan preparat selesai maka dilakukan foto mikroskop dengan perbesaran 100X. Masing-masing sampel dilakukan penghitungan luas kerusakan dengan cara membuat kisi-kisi $0,5 \times 0,5 \text{ cm}^2$ pada plastik transparan dengan ukuran foto (3R). Setelah itu dihitung ada berapa petak kerusakan hepar pada masing-masing kelompok, hasil perhitungan dinyatakan dengan persen (Subowo *et al.*, 1991).

3.3.5 Pengamatan malondialdehid

Hari ke- 2 dan ke- 4 setelah pemberian CCl_4 , 4 ekor tikus dari masing-masing kelompok dikorbankan (kecuali kelompok I dilakukan pada hari I Penelitian) dengan terlebih dahulu dilakukan pembusian menggunakan eter. Selanjutnya dilakukan pengangkatan hepar, dimasukan ke dalam beker glas yang berisi larutan sukrosa 0,25 M untuk dicuci kemudian dikeringkan. Setelah kering hepar ditimbang untuk dilakukan pemeriksaan MDA.

Pemeriksaan MDA hepar (Metode plaser, Cushman dan Johnson, 1996).

Penentuan kadar MDA dengan menggunakan spektrofotometer spektronic 21 dengan panjang gelombang 529 nm.

3.4 Analisa data

Data yang diperoleh dari pemeriksaan kadar MDA dianalisa secara statistik Yaitu:

1. Uji t untuk melihat perbedaan yang berarti antara hari ke-2 dan hari keempat pada kelompok K_1 dan K_2 .
2. Uji Anava untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

Data yang diperoleh dari gambaran histologis kerusakan hepar dibahas secara deskriptif dan kuantitatif. Angka-angka yang didapat diuji secara statistik (uji t).