

BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

A. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI dari September 2008 hingga November 2008.

B. BAHAN DAN ALAT

1. Bahan

a. Sediaan Uji Jamu “DNR”

Sediaan uji yang digunakan dalam penelitian adalah jamu “DNR” dalam bentuk kapsul. Jamu “DNR” mengandung atapulgit, karbon aktif, ekstrak Psidii Folium, ekstrak Curcumae domesticae Rhizoma, ekstrak Coicis Semen, ekstrak Chebulae Fructus, dan ekstrak Granati Pericarpium.

b. Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian adalah mencit putih jantan galur DDY (*deutsche yoken*) sehat, dengan bobot badan 20-30 gram dan usia berkisar 2-3 bulan. Mencit diperoleh dari peternakan hewan uji IPB, Jawa Barat. Mencit yang digunakan untuk percobaan harus sehat seperti mata jernih bersinar, bulu

tidak berdiri, tingkah laku normal, memiliki feses normal, dan berat badan yang tidak menurun.

c. Bahan kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian, antara lain: CMC (Brataco Chemika), atapulgit (Soho), karbon aktif (Soho), dan minyak jarak (Brataco Chemika).

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain: timbangan hewan (Metler Toledo), timbangan analitik (Metler Toledo), spuit 1 mL, sonde peroral, toples, kertas saring, dan alat-alat gelas.

C. CARA KERJA

1. Penyiapan Hewan Uji

Sebelum dilakukan perlakuan, hewan uji diaklimatisasi terlebih dahulu selama 2 minggu dalam kandang hewan Departemen Farmasi FMIPA UI. Hewan uji yang sakit atau menunjukkan kelainan tidak diikutsertakan dalam perlakuan.

2. Pembuatan CMC 0,5%

Sebanyak 25 mg CMC ditaburkan ke permukaan 1 mL air suling hangat (20% dari volume total), kemudian didiamkan selama 30 menit hingga CMC mengembang. Campuran digerus hingga homogen, kemudian ditambahkan air suling sedikit demi sedikit hingga 5 mL.

3. Sediaan Uji

a. Penetapan Dosis Sediaan Uji

Dosis lazim jamu "DNR" adalah 4 kapsul sehari. Tiap kapsul mengandung serbuk jamu dengan berat 524,3 mg sehingga dosis total jamu "DNR" untuk manusia adalah 2097,2 mg. Faktor konversi dari manusia ke mencit adalah 0,0026 dan faktor farmakokinetik yang digunakan adalah 10 (25). Pada penelitian ini, dosis sediaan uji yang setara dosis manusia dijadikan sebagai dosis 1, sedangkan dosis 2 dan 3 adalah kelipatan dari dosis sebelumnya.

Perhitungan dosisnya sebagai berikut:

- Dosis 1: $0,0026 \times 10 \times 2097,2 \text{ mg} = 54,52 \text{ mg}/20 \text{ g bb}$
- Dosis 2: $0,0026 \times 10 \times 4194,4 \text{ mg} = 109,05 \text{ mg}/20 \text{ g bb}$
- Dosis 3: $0,0026 \times 10 \times 8388,8 \text{ mg} = 218,10 \text{ mg}/20 \text{ g bb}$

b. Pembuatan Sediaan Uji

Kelompok sediaan uji dibuat dengan cara menimbang masing-masing dosis, kemudian disuspensikan dengan larutan CMC 0,5 %. Sediaan uji ini dibuat baru untuk tiap kali pemakaian.

4. Pembuatan Sediaan Pembeding

a. Atapulgit

Dosis lazim Atapulgit adalah 4800 mg sehari (5). Faktor konversi dari manusia ke mencit adalah 0,0026 dan faktor farmakokinetik yang digunakan adalah 10 (25). Dosis untuk mencit : $0,0026 \times 10 \times 4800 \text{ mg} = 124,8 \text{ mg}/20 \text{ g bb}$. Untuk volume pemberian sejumlah 1,0 mL/20 g bb, sebanyak 624,0 mg atapulgit ditimbang, kemudian disuspensikan dengan larutan CMC 0,5 % sampai volume 5,0 mL sehingga didapatkan konsentrasi atapulgit 124,8 mg/mL. Sediaan dibuat baru tiap kali perlakuan.

b. Karbon Aktif

Dosis lazim karbon aktif adalah 2250 mg (26). Faktor konversi dari manusia ke mencit adalah 0,0026 dan faktor farmakokinetik yang digunakan adalah 10 (25). Dosis untuk mencit : $0,0026 \times 10 \times 2250 \text{ mg} = 58,5 \text{ mg}/20 \text{ g bb}$. Untuk volume pemberian sejumlah

1,0 mL/20 g bb, sebanyak 292,5 mg karbon aktif ditimbang, kemudian disuspensikan dengan larutan CMC 0,5 % sampai volume 5,0 mL sehingga didapatkan konsentrasi karbon aktif 58,5 mg/mL. Sediaan dibuat baru tiap kali perlakuan.

c. Campuran Atapulgit dan Karbon Aktif

Pada penelitian ini, menggunakan campuran atapulgit dan karbon aktif dengan perbandingan 1:1. Perbandingan dosis ini berdasarkan percobaan pendahuluan yaitu perbandingan yang masih dapat dimasukkan ke dalam spuit. Campuran ini menggunakan dosis lazim atapulgit yaitu 4800 mg dan karbon aktif 2250 mg. Faktor konversi dari manusia ke mencit yaitu 0,0026 dan faktor farmakokinetik yang digunakan adalah 10 (25). Perhitungan dosis adalah sebagai berikut:

- Dosis Atapulgit : $0,0026 \times 10 \times 4800 \text{ mg} = 124,8 \text{ mg}/20 \text{ g bb}$
- Dosis Karbon Aktif : $0,0026 \times 10 \times 2250 \text{ mg} = 58,5 \text{ mg}/20 \text{ g bb}$

Untuk volume pemberian 1,0 mL/20 g bb, sebanyak 624 mg atapulgit dan 292,5 mg karbon aktif ditimbang, kemudian disuspensikan dengan larutan CMC 0,5 % sampai volume 5,0 mL sehingga didapatkan konsentrasi Atapulgit 124,8 mg/mL dan karbon aktif 58,5 mg/mL. Sediaan dibuat baru tiap kali perlakuan.

5. Minyak Jarak

Dosis lazim minyak jarak yang memberikan efek laksatif adalah 15-30 mL (27). Berdasarkan percobaan pendahuluan diperoleh dosis 27,5 mL. Faktor konversi dari manusia ke mencit adalah 0,0026 dan faktor farmakokinetik yang digunakan adalah 10 (25). Dosis untuk mencit : $0,0026 \times 10 \times 27,5 \text{ mL} = 0,715 \text{ mL}/20 \text{ g bb}$.

6. Perlakuan

Pada penelitian ini, berdasarkan rumus Federer: $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana t adalah jumlah hewan uji tiap kelompok dan n adalah jumlah ulangan dari tiap perlakuan, digunakan 80 ekor mencit yang dibagi secara acak dalam delapan kelompok sehingga masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor mencit (3). Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Kelompok I adalah kelompok normal; kelompok II adalah kelompok induksi; kelompok III, IV, dan V adalah kelompok uji (kelompok yang diberikan sediaan uji pada dosis yang telah ditentukan); dan kelompok VI, VII, dan VIII adalah kelompok pembanding (kelompok yang diberikan atapulgit, karbon aktif, dan campuran atapulgit dan karbon aktif).

Mencit yang digunakan dalam tiap kelompok dipuasakan terlebih dahulu selama lebih kurang 20 jam. Sesuai dengan alokasi

perlakuan, tiap mencit diberi sediaan oral maksimal 1 mL/20 g bb, kemudian ditempatkan di dalam toples yang beralaskan kertas saring pengamatan yang terlebih dahulu dikeringkan dan ditimbang. Satu jam setelah perlakuan, tiap mencit kecuali kelompok normal diberi minyak jarak (*Oleum ricini*). Respon yang terjadi pada tiap mencit diamati pada menit ke-30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 300, dan 360 setelah pemberian minyak jarak (3). Parameter yang diamati meliputi waktu terjadinya diare, frekuensi diare, konsistensi feses dan jumlah atau bobot feses serta jangka waktu terjadinya diare. Parameter konsistensi feses dibagi dalam 6 kategori yaitu:

- 0 = tidak defekasi
- 1 = feses keras
- 2 = feses keras lembek
- 3 = feses lembek
- 4 = berair tetapi masih membentuk massa feses
- 5 = berair dan tidak membentuk massa feses

7. Analisis Data

Data yang diperoleh diuji homogenitas dan uji kenormalan. Jika data yang diperoleh bersifat homogen dan terdistribusi normal, selanjutnya dilakukan analisis varian satu arah (*one way Anova*) dan analisis varian dua arah (*two way Anova*) untuk melihat apakah ada

perbedaan antar kelompok perlakuan. Bila terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dan untuk mengetahui dimana perbedaannya, analisis dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) dan uji *Main Effect Plot* (28,29). Penelitian ini menggunakan program statistik Minitab 14.12.

