

**EFEK TERAPI EKSTRAK BELUT SAWAH (*Monopterus albus*)
TERHADAP DISFUNGSI HATI DAN GINJAL
TIKUS PUTIH ANEMIA YANG DIINDUKSI
FENILHIDRAZIN**

INDY SAFITRI

N012211025



PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

THERAPEUTIC EFFECTS OF EEL (*Monopterus albus*) EXTRACT
ON LIVER AND KIDNEY DYSFUNCTION OF
ANEMIC WHITE RATS INDUCED BY
PHENYLHYDRAZINE

INDY SAFITRI

N012211025



GRADUATE PROGRAM

HASANUDDIN UNIVERSITY

MAKASSAR, Indonesia

2024

**EFEK TERAPI EKSTRAK BELUT SAWAH (*Monopterus albus*)
TERHADAP DISFUNGSI HATI DAN GINJAL
TIKUS PUTIH ANEMIA YANG DIINDUKSI
FENILHIDRAZIN**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Ilmu Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

INDY SAFITRI

N012211025

Kepada

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

**THERAPEUTIC EFFECTS OF EEL (*Monopterus albus*) EXTRACT
ON LIVER AND KIDNEY DYSFUNCTION OF
ANEMIC WHITE RATS INDUCED BY
PHENYLHYDRAZINE**

Thesis

As one of the requirements for achieving a magister
degree

Study Program Magister of Pharmacy

Prepared and submitted by

INDY SAFITRI

N012211025

To

**GRADUATE PROGRAM
HASANUDDIN UNIVERSITY
MAKASSAR, INDONESIA
2024**

LEMBAR PENGESAHAN
EFEK TERAPI EKSTRAK BELUT SAWAH (*Monopterus albus*)
TERHADAP DISFUNGSI HATI DAN GINJAL TIKUS PUTIH ANEMIA
YANG DIINDUKSI FENILHIDRAZIN

INDY SAFITRI


NIM: N012211025


Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Farmasi Fakultas Farmasi Universitas
Hasanuddin
Pada tanggal 21 Agustus 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui :

Pembimbing Utama


Pembimbing Pendamping


Prof. Yulia Yusrini Djabir, M.Si, MBM.Sc, Ph.D, Apt
NIP. 19780728 200212 2 003


Prof. Firzan Nainu, S.Si, M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt
NIP. 19820610 200801 1 012

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Farmasi

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin


Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt
NIP. 19800101 200312 1 004


Prof. Dr. rer. nat. Marianti A. Manggau, Apt
NIP. 19670319 199203 2 002



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "EFEK TERAPI EKSTRAK BELUT SAWAH (*Monopterus albus*) TERHADAP DISFUNGSI HATI DAN GINJAL TIKUS PUTIH ANEMIA YANG DIINDUKSI FENILHIDRAZIN" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Prof. Yulia Yusrini Djibir, M.Si., MBM.Sc., Ph.D. Apt sebagai Pembimbing Utama dan Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 21 Agustus 2024



Indy Safitri

Indy Safitri
N012211025

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanallahu wa ta'ala atas berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya, sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Dalam pembuatan tesis penulis tidak terlepas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Yulia Yusrini Djibir, M.Si.,MBM.Sc.,Ph.D.,. Apt. selaku pembimbing utama dan dosen penasehat akademik yang telah membimbing, memberikan arahan dan motivasi, serta telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan masa studinya di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. Bapak Prof. Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc.,Ph.D., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan, motivasi dan sarannya serta meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
3. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt, Bapa Abdul Rahum., M.Si., Ph.D., Apt, dan Ibu Rina Agustina, M.Pharm., Sc., Ph.D., Apt. Selaku tim penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
4. Dekan, Wakil Dekan, seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, bantuan, dan fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan tesis ini.
5. Kedua orang tua tercinta Bapak Alm. Drs. Alimuddin Yusuf, M.Si dan Ibu Suburiah, S.Ag yang menjadi salah satu alasan penulis tetap semangat melanjutkan sekolah, serta adik tersayang atas doa yang tulus tiada henti di setiap situasi apapun yang dirasakan oleh penulis serta perhatian, kasih sayang dan dukungan baik secara moria maupun materil selama menempuh studi hingga menyelesaikan tesis ini.
6. Suami tercinta, dr. Muhammad Fawzah Ramadhan Irham yang selalu mendampingi, menemani, menguatkan, dan menyemangati penulis di setiap prosesnya. Serta anak tersayang Muhammad Mifzal Ahza Fawzah yang dengan sabar menunggu seorang ibu pulang dari kampus bahkan sejak awal

kelahiran hingga saat tulisan ini dibuat.

7. Apt. Syaadatun Nadiah, S.Farm., M.Si selaku sahabat atas waktu, dukungan dan bantuan yang luar biasa selama menempuh masa studi dan selama pembuatan tesis.
8. Teman-teman pascasarjana angkatan 2021, yang telah memberikan banyak kenangan, dukungan, dan pengalaman selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
9. Semua pihak yang telah membantu dan tidak sempat disebutkan namanya satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan tesis masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya ilmu farmasi. Aamiin.

Makassar, 21 Agustus 2024

Indy Safitri

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR SINGKATAN	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II METODE PENELITIAN	4
2.1 Desain Penelitian.....	4
2.2 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	4
2.3 Subjek Penelitian	4
2.4 Alat dan Bahan	4
2.4.1 Alat Yang Digunakan	4
2.4.2 Bahan Yang Digunakan	4
2.5 Hewan Uji	4
2.6 Prosedur Penelitian	5
2.6.1 Penyiapan dan Pengelolaan Sampel	5
2.6.2 Ekstraksi Sampel	5
2.6.3. Penyiapan Hewan Uji.....	5
2.6.4 Preliminary Study	6
2.6.5 Penentuan Dosis Fenilhidrazin.....	6
2.6.6 Prosedur Percobaan	6
2.6.7 Pengambilan Darah Sampel.....	7
2.6.8 Pengukuran Darah Sampel	7
2.6.9 Analisis Data	7
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	8

3.1 HASIL	8
3.1.1 Hasil pengujian kadar SGPT	9
3.1.2 Hasil pengujian kadar SGOT.....	10
3.1.3 Hasil pengujian kadar Ureum	10
3.1.4 Hasil pengujian kadar Kreatinin	10
3.1.5 Hasil pengujian kadar Hb.....	10
3.1.6 Hasil pengujian kadar RBC.....	11
3.1.7 Hasil perbandingan rata-rata kadar pada hari ke-10.....	11
3.2 Pembahasan	12
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	17
4.1 Kesimpulan.....	17
4.2 Saran	17
DAFTAR PUSTAKA	18
LAMPIRAN	22
Lampiran 1. Kerangka Teori	22
Lampiran 2. Kerangka Konsep	23
Lampiran 3. Alur Penelitian	24
Lampiran 3.1 Pembuatan Ekstrak	24
Lampiran 3.2 Pengujian Ekstrak.....	25
Lampiran 4. Perhitungan Dosis.....	26
Lampiran 4.1 Jumlah tikus yang digunakan	26
Lampiran 4.2 Jumlah dosis yang digunakan	26
Lampiran 5. Analisis Statistik	27
Lampiran 5.1 Hasil analisis normalitas	27
Lampiran 5.2 Hasil Analisis ANOVA dan Kruskal Wallist.....	32
Lampiran 5.3 Hasil analisis Multiple Comparisons Kadar SGPT, SGOT, Ureum, Kreatinin, Hb, dan RBC	38
Lampiran 6. Determinasi Belut Sawah (<i>Monopterus albus</i>)	61
Lampiran 7. Persetujuan Etik.....	62

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	: Kepanjangan
AA	: Asam arakidonat
EPA	: Eicosapentaeonic Acid
DHA	: Docosahexaenoic Acid
DPPH	: 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl
eGFR	: Estimated Glomerular Filtration Rate
Fe	: Ferrum
Hb	: Hemoglobin
IL-1 β	: Interleukin-1 Beta
I.P	: Intraperitonal
LCPUFA	: Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids
MAE	: Microwave-Assisted Extraction
NO	: Nitrat Oksida
SCD	: Sickle Cell Disease
SGPT	: Serum Glutamic-Pyruvic Transaminase
SGOT	: Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase
RBC	: Red Blood Cell
WHO	: World Heart Organization

ABSTRAK

Indy Safitri. **Efek Terapi Ekstrak Belut Sawah (*Monopterus albus*) Terhadap Disfungsi Hati dan Ginjal Tikus Putih Anemia Yang Diinduksi Fenilhidrazin** (dibimbing oleh Yulia Yusrini Djabir dan Firzan Nainu).

Latar Belakang : Penelitian ini menganalisis efek terapi dari ekstrak belut sawah (*Monopterus albus*) terhadap disfungsi ginjal dan hati tikus putih anemia yang diinduksi menggunakan fenilhidrazin. Anemia merupakan kondisi dimana konsentrasi hemoglobin dalam darah lebih rendah dari normal dan tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan fisiologi tubuh. WHO melaporkan bahwa prevalensi anemia global pada anak-anak usia 6 - 59 bulan (39,8%), wanita tidak hamil usia 15 - 49 tahun (29,9%), dan terendah pada wanita yang hamil (36,5%). Anemia yang tidak teratasi dapat menimbulkan kerusakan jaringan, salah satunya hati dan ginjal. Belut sawah (*Monopterus albus*) mengandung mikro dan makro nutrien yang dapat membantu mengatasi kondisi anemia. Namun, belum ada penelitian yang membahas perbaikan yang terjadi pada disfungsi ginjal dan hati serta kondisi anemia yang diterapi menggunakan ekstrak belut sawah (*Monopterus albus*). **Tujuan** : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek terapi dari ekstrak belut sawah (*Monopterus albus*) terhadap Disfungsi hati dan Ginjal pada Tikus putih anemia yang diinduksi fenilhidrazin. **Metode** : Penelitian ini menggunakan metode true eksperimental dengan pretest-posttest control-group design. **Hasil** : Analisis data menunjukkan perbaikan kadar SGPT dengan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB sebesar 7,75 μ L ($p=0,020$) dan 6 μ L ($p=0,766$), pada SGOT dengan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB sebesar 132,25 μ L (0,000) dan 107 μ L (0,001), pada kadar Ureum dengan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB sebesar 21,25 mg/dL ($p=0,021$) dan 15 mg/dL ($p=0,163$), pada kadar Hb dengan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBb sebesar 6,9 g/dL ($p=0,021$) dan 4,78 g/dL, ($p=0,021$) dan pada kadar RBC dengan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB sebesar $3,89 \times 10^6/\mu$ L ($p=0,004$) dan $3,58 \times 10^6/\mu$ L ($p=0,000$). Sedangkan tidak terjadi perbaikan pada kadar kreatinin. **Kesimpulan** : Berdasarkan dari hasil analisis, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak belut sawah (*Monopterus albus*) dengan dosis 200 mg/kgBB mampu secara signifikan memberikan perbaikan kadar SGOT dan Ureum pada tikus anemia yang diinduksi fenilhidrazin. Terlihat perbaikan pada kadar SGPT, Hb dan RBC dibandingkan kelompok placebo meskipun secara statistik tidak signifikan.

Kata Kunci: Ekstrak Belut Sawah (*Monopterus albus*), Anemia, Disfungsi Hati, Disfungsi Ginjal, Ekstrak belut sawah, Fenilhidrazin,

ABSTRACT

Indy Safitri. **Effect of Swamp Eel Extract Therapy (*Monopterus albus*) on Liver and Kidney Dysfunction of White Rats with Phenylhydrazine-Induced Anemia** (supervised by Yulia Yusrini Djabir and Firzan Nainu).

Background: In this study, the therapeutic effects of swamp eel extract (*Monopterus albus*) on phenylhydrazine-induced renal and liver failure in anemic white rats were examined. When there is insufficient hemoglobin in the blood to meet the body's physiological requirements, the condition known as anemia occurs. According to WHO data, the prevalence of anemia worldwide is highest in pregnant women (36.5%), lowest in non-pregnant women (15–49 years) and children (6–59 months) (39.8%). The liver and kidneys are two tissues that might sustain harm from untreated anemia. The micro and macronutrients found in swamp eels (*Monopterus albus*) can aid in the recovery of anemia. Nevertheless, no studies have examined the improvement in anemia, liver, and renal dysfunction diseases treated with swamp eel extract (*Monopterus albus*). **Objective:** In this study, white rats with phenylhydrazine-induced anemia are used to assess the therapeutic effect of swamp eel extract (*Monopterus albus*) on liver and renal failure. **Method:** This study used a pretest-posttest control-group design in a real experimental setting. **Results:** Data analysis showed an improvement in SGPT levels with doses of 200 mg/kgBB and 400 mg/kgBB of 7.75 μL ($p=0.020$) and 6 μL ($p=0.766$), in SGOT with doses of 200 mg/kgBB and 400 mg/kgBB of 132.25 μL (0.000) and 107 μL (0.001), at urea levels with doses of 200 mg/kgBB and 400 mg/kgBB of 21.25 mg/dL ($p=0.021$) and 15 mg/dL ($p=0.163$), at Hb levels at doses of 200 mg/kgBB and 400 mg/kgBB at 6.9 g/dL ($p=0.021$) and 4.78 g/dL, ($p=0.021$) and at RBC levels at doses of 200 mg/kgBB and 400 mg/kgBB at $3.89 \times 10^6/\mu\text{L}$ ($p=0.004$) and $3.58 \times 10^6/\mu\text{L}$ ($p=0.000$). Meanwhile, there was no improvement in creatinine levels. **Conclusion:** The treatment of swamp eel extract (*Monopterus albus*) at a concentration of 200 mg/kgBB is able to considerably reduce SGOT and Urea levels in rats that have been induced with phenylhydrazine-induced anemia, according to the analysis's findings. While not statistically significant, there was an improvement in SGPT, Hb, and RBC levels when compared to the placebo group.

Keywords: Swamp Eel Extract (*Monopterus albus*), Anemia, Liver Dysfunction, Kidney Dysfunction, Swamp eel Extract, Phenylhydrazine,

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Anemia merupakan suatu kondisi di mana konsentrasi hemoglobin atau sel darah merah jumlahnya lebih rendah dari normal dan tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan fisiologis tubuh (Suchdev dan Chapparro, 2019). Pada tahun 2019, The World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa prevalensi anemia global pada anak-anak usia 6 - 59 bulan (39,8%), wanita tidak hamil usia 15 - 49 tahun (29,9%), dan terendah pada wanita yang hamil (36,5%) (WHO, 2019). Menurut data Riskesdas (2018), prevalensi anemia pada ibu hamil di Indonesia yaitu 48,9% dengan proporsi anemia pada kelompok umur 15 - 24 tahun (84,6%), 25 - 34 tahun (33,7%), 35 - 44 tahun (33,6%), dan 45 - 54 tahun (24%) (Kemenkes RI, 2018).

Anemia terjadi akibat ketidakseimbangan eritrosit yang disebabkan oleh eritropoiesis yang tidak efektif atau kurang (misalnya defisiensi nutrisi, peradangan, atau kelainan Hb genetik) atau kehilangan eritrosit yang berlebihan karena hemolisis atau kehilangan darah (Suchdev dan Chapparro, 2019). Hemolisis intravaskular menyebabkan ketidaksesuaian antara kebutuhan oksigen yang tersuplai ke organ termasuk hati. Hal ini ditandai dengan peningkatan kadar transaminase serum secara besar-besaran namun bersifat sementara, seringkali lebih dominan dibandingkan aminotransferase aspartat yang diikuti dengan kembalinya kadar transaminase normal dalam beberapa hari hingga seminggu. Peningkatan kadar transaminase serum memicu terjadinya hepatitis hipoksia (Zaimi *et al*, 2021). Sedangkan pada pembuluh darah ginjal, hilangnya Nitrat Oksida (NO) dikarenakan hemolisis dapat menyebabkan gangguan aliran darah ginjal dan hemodinamik glomerulus, dan penurunan laju filtrasi glomerulus. Akibatnya terjadi disregulasi hemodinamik ginjal (Avondt, Nur & Zeerleder, 2019).

Anemia sering terjadi dikarenakan malnutrisi, terutama pada ibu hamil ataupun lansia. Malnutrisi dan beberapa alasan tertentu dapat menyebabkan anemia hemolitik dan dapat menyebabkan lisis pada beberapa jaringan organ (Kim *et al*, 2020). Malnutrisi vitamin A, B12, B6, C, D, dan E, folat, riboflavin dan zink, dapat menghambat produksi eritrosit. Nutrisi lain, seperti vitamin C dan E dapat melindungi sel darah merah melalui fungsi antioksidannya hingga mencegah

terjadinya hemolisis (Suchdev dan Chapparro, 2019). Oleh karena itu perlu pencegahan dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung vitamin tersebut. Salah satunya pada belut sawah (*Monopterus albus*). Belut sawah banyak ditemukan pada sawah, kolam berlumpur atau pun rawa di Asia, salah satunya Indonesia (Weiwei *et al*, 2022). Belut sawah mengandung protein, zat besi (Fe), fosfor, vitamin A, vitamin B, Vitamin C, asam docosahexaenoic (DHA), Asam arakidonat (AA), asam Eicosapentaenoic, dan protein omega-3 yang sangat bermanfaat bagi tubuh (Hendrawan *et al*, 2020). DHA dan AA adalah asam lemak tak jenuh ganda rantai panjang (LCPUFA) penting untuk proses fisiologis manusia, seperti jalur pensinyalan, ekspresi gen, struktur dan fungsi membran. DHA dan AA memiliki peran yang relevan dalam perlindungan saraf terhadap patologi neurodegeneratif seperti penyakit Alzheimer dan penyakit Parkinson, yang terkait dengan ekspresi patologis yang khas seperti disfungsi mitokondria, peradangan saraf, dan stres oksidatif (Sambra *et al*, 2021).

Fenilhidrazin merupakan obat yang digunakan untuk mengobati Polisitemia Vera² (keadaan dimana sel darah merah terlalu banyak di dalam tubuh) yang ditandai dengan peningkatan jumlah eritrosit di dalam tubuh dan peningkatan kadar hemoglobin (Pandey *et al*, 2018). Fenilhidrazin adalah bahan kimia non-imunogenik yang menginduksi jenis anemia hemolitik dengan menghancurkan sel darah merah yang matang secara selektif melalui stres oksidatif, denaturasi Hb sel darah merah, membran fosfolipid dan enzim yang terlibat dalam metabolisme energi yang dapat menyebabkan efek anemia (Sheth *et al*, 2021)

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk melihat adanya efek terapi dari ekstrak belut sawah terhadap disfungsi hati dan ginjal pada tikus putih anemia yang di induksi fenilhidrazin. Diharapkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat diaplikasikan oleh masyarakat luas yang dapat memanfaatkan ekstrak belut untuk mengatasi atau mencegah anemia hingga menimbulkan kerusakan pada hati dan ginjal.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak belut sawah memiliki efek terapi anemia terhadap tikus putih yang diinduksi fenilhidrazin berdasarkan parameter eritrosit dan hemoglobin?

2. Apakah ekstrak belut sawah memiliki efek terapi terhadap fungsi hati dan ginjal tikus putih anemia akibat fenilhidrazin?
3. Berapakah dosis ekstrak belut sawah yang lebih efektif dalam mengobati anemia dan perbaikan fungsi hati dan ginjal?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menguji efek ekstrak belut sawah pada terapi anemia terhadap tikus putih yang diinduksi fenilhidrazin berdasarkan parameter eritrosit dan hemoglobin
2. Menentukan efek terapi dari ekstrak belut sawah terhadap fungsi hati dan ginjal tikus putih anemia akibat fenilhidrazin
3. Menentukan dosis ekstrak belut sawah yang lebih efektif dalam mengobati anemia dan perbaikan fungsi hati dan ginjal

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran bagi pembaca mengenai efek ekstrak belut sawah sebagai terapi disfungsi hati dan ginjal pada tikus putih anemia yang diinduksi fenilhidrazin.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan penelitian true eksperimental dengan pretest-posttest control-group design

2.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di bulan Mei hingga bulan Juli 2024. Lokasi Pelaksanaan penelitian di Laboratorium Farmakologi Toksikologi dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

2.3 Subjek Penelitian

Subjek sampel yang digunakan adalah belut sawah yang diperoleh dari super market kota Makassar dalam bentuk segar

2.4 Alat dan Bahan

2.4.1 Alat Yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pengaduk, gelas piala (pirex®), gelas ukur (pirex®), labu ukur (pirex®), Stopwatch, timbangan analitik (O’Hauss®), timbangan hewan (Camry®), pletismometer Digital LE 7500, rotary evaporator, spoit (Terumo®), Reader Elissa (Thermo scientific), botol amber, Microwave, Oven, Stopwatch, Sentrifuge.

2.4.2 Bahan Yang Digunakan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Aquadest, Belut Sawah (*Monopterus albus*), Etanol 96%, NaCl 0,9%, Na-CMC, pereaksi ninhidrin dan fenilhidrazin

2.5 Hewan Uji

Tikus (*Ratus norvegicus*) Wistar Jantan. Tikus yang digunakan adalah tikus berusia ± 2-3 bulan guna menghindari adanya penyakit-penyakit terkait usia yang dapat menyebabkan bias hasil penelitian.

2.6 Prosedur Penelitian

2.6.1 Penyiapan dan Pengelolaan Sampel

Sebelum dilakukan ekstraksi, belut diolah dengan dipisahkan dari bagian kepala, bagian dalamnya, dan tulangnya. Kemudian, filet dipotong kecil-kecil dan dicuci untuk menghilangkan darahnya. Belut sawah difilet lalu dikeringkan dalam *food dehydrator* selama 15 jam pada suhu 50°C untuk mengurangi kadar air. Setelah pengeringan, daging dihaluskan dan diayak untuk mendapatkan bubuk berukuran seragam. (Hashim *et al.*, 2022).

2.6.2 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi dilakukan dengan mencampur 10 g bubuk belut sawah dengan 75 mL etanol 96% dan dikocok dengan konsisten. Campuran ditempatkan dalam microwave dengan daya gelombang micro sebesar 800 W selama 1 menit dengan frekuensi 2.500 MHz 2,5 GHz, kemudian ekstrak dikumpulkan dalam botol amber. Ekstrak yang dikumpulkan disaring menggunakan filter Whatman No.1 untuk menghilangkan partikulat kemudian dilakukan pemisahan pelarut menggunakan rotavapor. Hasil ekstrak belut dapat disimpan pada suhu 4°C hingga ekstrak digunakan (Hashim *et al.*, 2022).

2.6.3. Penyiapan Hewan Uji

Pada penelitian ini digunakan 24 ekor tikus jantan dengan galur wistar yang sehat, dengan berat 150 - 200 g. Sebelum dilakukan penelitian, tikus diadaptasikan selama tujuh hari dan diberi diet standar dengan menggunakan pemberian makanan dan minuman secara *ad libitum*. Tikus dimasukkan dalam kandang dengan kebersihan dan ventilasi yang baik.

Penentuan jumlah tikus tiap kelompok dihitung berdasarkan rumus Federer, yaitu:

$$\text{Rumus Federer } (n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$(n-1)(3) \geq 15$$

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 6$$

dimana t menunjukkan jumlah perlakuan dan n menunjukkan jumlah ulangan minimal dari tiap perlakuan. Jumlah minimal tikus yang digunakan tiap

kelompok adalah 6 ekor. Masing-masing kelompok tikus di tempatkan di ruangan yang sama dan diberikan makanan dengan jumlah dan jenis yang sama.

2.6.4 Preliminary Study

Preliminary Study merupakan uji pendahuluan awal yang dilakukan untuk menentukan dosis fenilhidrazin yang tepat sebagai penginduksi pada tikus putih jantan. Pada penelitian pendahuluan, digunakan 4 ekor tikus yang dibagi ke dalam 2 kelompok dosis, masing-masing 40 mg/kg dan 60 mg/kg, dengan 2 ekor tikus dalam setiap kelompok. Tikus akan diinduksi dengan fenilhidrazin yang dilarutkan dalam NaCl 0,9% dan diinjeksikan selama 2 hari berturut-turut melalui intraperitoneal. Pengambilan darah dilakukan pada hari ketiga setelah induksi fenilhidrazin melalui retro-orbital (Pandey et al., 2016; Elabi & Ali., 2018). Nilai normal tikus dengan parameter SGPT 20-61 μ /L, SGOT 39-111 μ /L, Ureum 15,0 – 21,0 mg/dL, Kreatinin 2 – 8 mg/dL, Hb 11-18 g/dL, dan RBC 7 – 10 x 10⁶/ μ L (Malole & Pramono, 1989). Dari hasil orientasi ditemukan dosis 40 mg/kgBB selama 2 hari mampu menjadi penginduksi pada tikus.

2.6.5 Penentuan Dosis Fenilhidrazin

Pada penelitian ini digunakan fenilhidrazin hidroklorid (PT. Laborindo Sarana) sebagai penginduksi anemia dengan dosis yang digunakan sebesar 40mg/KgBB (berdasarkan *premilinary study* yang dilakukan sebelumnya), dengan mengencerkan 50 mg fenilhidrazin ke dalam 1 ml NaCl 0.9% sesuai kelarutan yang tertera pada sertifikat analisis yang ada pada fenilhidrazin.

2.6.6 Prosedur Percobaan

Pada penelitian ini digunakan tikus, dengan dialokasikan secara acak ke dalam empat kelompok yang masing-masing terdiri dari enam tikus: Kelompok 1 berperan sebagai kontrol normal dimana tikus hanya diberikan Na-CMC 1% melalui oral; Kelompok 2 berperan sebagai kontrol negatif dan diberikan fenilhidrazin melalui suntikan intraperitoneal; Kelompok 3 diberikan fenilhidrazin dan kemudian diberikan ekstrak belut secara oral sebanyak 200 mg/kgBB selama 7 hari; Kelompok 4 diberikan fenilhidrazin dan kemudian diberikan ekstrak belut sebanyak 400 mg/kgBB selama 7 hari (Sheth *et al.*, 2021; Ousaaaid *et al.*, 2022; Rahman *et al.*, 2020).

2.6.7 Pengambilan Darah Sampel

Pengambilan sampel darah pada tikus dilakukan pada hari ke 0 (sebelum perlakuan), 3 (setelah diinduksi fenilhidrazin), dan pada hari 10 (setelah perlakuan). Pengambilan sampel darah tikus dilakukan melalui retro-orbital. Sampel darah diambil sebanyak 2 mL, kemudian ditampung dalam tabung vacutainer.

2.6.8 Pengukuran Darah Sampel

Darah yang diperoleh digunakan untuk pemeriksaan kadar Red Blood Cell (RBC), Mean Hemoglobin (Hb), Serum Glutamic-Pyruvic Transaminase (SGPT), Serum Glutamic-Oxaloacetic Transaminase (SGOT), Ureum, Kreatinin dengan menggunakan alat Hematologi Analyzer dan Chemical Chemistry Analyzer (Thermo Scientific).

2.6.9 Analisis Data

Data hasil pengukuran disajikan dengan data numerik rata-rata (mean \pm SD) yang kemudian akan dianalisis menggunakan aplikasi SPSS (Statistical Program for Social Science). Data hasil pengukuran hematologi dianalisis menggunakan uji one-way ANOVA dan Kruskal-Wallis, dengan nilai $p < 0,05$ menunjukkan perbedaan yang signifikan.