

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu penelitian dengan metode pendekatan eksperimental laboratorium untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada kecubung dan melakukan pengujian analgetik pada ekstrak daun kecubung terhadap mencit putih galur *Swiss Webster* jantan

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Farmakologi Eksperimental Prodi Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April tahun 2019.

3.3. Alat Penelitian

Maserator, Alat Timbang Elektrik, Alat Timbang untuk Mencit, Blender, Lumpang dan Alu, NGT, Spuit Injeksi 1mL, Kandang Mencit, Penangas Air, Cawan Penguap, *Water Bath*, Corong, Batang Pengaduk, *Rotary Evaporator*, Kaca Arloji, dan Spatel.

3.4. Bahan Penelitian

A. Bahan Tanaman

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan daun Kecubung (*Datura metel Folium*) yang didapatkan dari perkebunan di Subang Jawa Barat.

B. Bahan Kimia

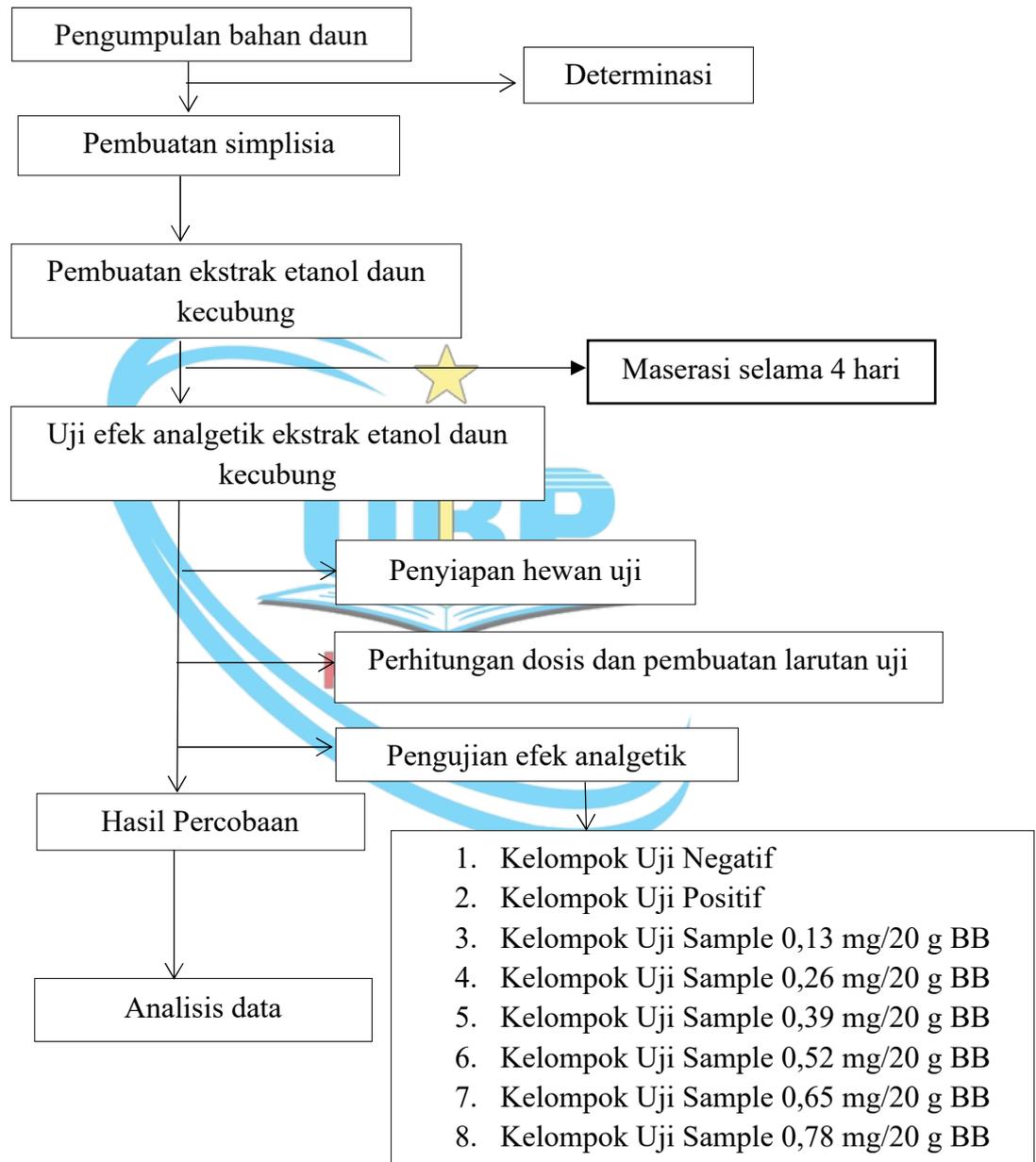
Bahan kimia yang digunakan yaitu: Asam asetat 0,6%, Na CMC 0,1%, aquades, ekstrak etanol daun kecubung dan parasetamol.

C. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih *Swiss Webster* berjenis kelamin jantan dengan berat badan antara 20-40 gram, berumur 2-3 bulan dalam kondisi sehat (aktif dan tidak cacat). Mencit diadaptasikan selama

satu minggu tujuannya agar mencit bisa beradaptasi dengan lingkungan percobaan. Sebanyak 40 ekor mencit dibagi menjadi 8 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 5 mencit.

3.5. Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.6. Tahap Pelaksanaan

A. Pengumpulan Bahan Tanaman

Pengumpulan bahan tanaman daun kecubung dilakukan di perkebunan Subang Jawa Barat.

B. Determinasi Tanaman

Determinasi ini dilakukan di Institut Teknologi Bandung Fakultas Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati. Determinasi dari suatu tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut, apakah tanaman tersebut benar-benar tanaman yang diinginkan. Dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti dapat dihindari.

C. Pembuatan Simplisia

Simplisia dipilih dari tumbuhan daun Kecubung (*Datura metel*) kemudian dicuci dengan air bersih yang mengalir. Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan, di tutup dengan kain berwarna hitam untuk menghindari terurainya kandungan senyawa yang ada didalam daun kecubung tersebut (Departemen Kesehatan RI, 2010).

D. Ekstraksi daun Kecubung (*Datura metel* L.)

Pembuatan ekstrak etanol daun Kecubung (*Datura metel*) dengan metode maserasi. Sebanyak 200 gram daun Kecubung (*Datura metel*) ditambah 1 liter etanol 70 % dalam Maserator tertutup didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya Ekstrak disaring dan dimasukkan kedalam botol, Kemudian ampas ditambah etanol 70 % lagi hingga terendam. Perendaman dan penyaringan dilakukan selama 4 hari dengan 4 kali penggantian pelarut. Maserat yang diperoleh kemudian disatukan, diuapkan di atas penangas air hingga menjadi ekstrak kental. Dihitung randemen dari ekstrak kental daun kecubung menggunakan satuan persen (%). Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak.

Adapun rumus untuk menghitung rendamen sebagai berikut:

$$\text{Randemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

E. Uji Efek Analgetik Ekstrak Etanol daun Kecubung

Percobaan efek analgetik meliputi penyiapan hewan uji, perhitungan dosis obat, dan pengujian efek analgetik:

A. Penyiapan Hewan Uji

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah mencit putih jantan galur *Swiss Webster*. Hewan uji harus diadaptasikan terlebih dahulu dengan kondisi laboratorium selama satu minggu dan diberi makanan pur setiap hari harus diganti serbuk kayu. Hal ini dilakukan untuk menghindari stress pada saat perlakuan sehingga tidak mempengaruhi hasil uji efek analgetiknya. Sebelum hewan uji mengalami perlakuan, mencit dipuaskan terlebih dahulu selama 8 jam dengan hanya diberi minum (aquades). Tujuan dipuaskan agar kondisi hewan uji sama dan mengurangi pengaruh makanan yang dikonsumsi terhadap absorpsi sampel yang diberikan. (Yuliani,F. 2008).

B. Perlakuan terhadap Hewan Uji

Sebelum pengujian, mencit ditimbang terlebih dahulu dengan kelompok perlakuan sebagai berikut :

- 1) Kelompok I : 5 ekor mencit diberi suspensi Na CMC 0,1 % per oral sebagai kontrol negatif
- 2) Kelompok II : 5 ekor mencit diberi larutan suspensi parasetamol secara peroral sebagai kontrol positif
- 3) Kelompok III : 5 ekor mencit diberi ekstrak daun kecubung dengan dosis 0,13mg / 20 g BB
- 4) Kelompok IV : 5 ekor mencit diberi ekstrak daun kecubung dengan dosis 0,26mg / 20 g BB
- 5) Kelompok V : 5 ekor mencit diberi ekstrak daun kecubung dengan dosis 0,39mg / 20 g BB

- 6) Kelompok VI : 5 ekor mencit diberi ekstrak daun kecubung dengan dosis 0,52mg / 20 g BB
- 7) Kelompok VII : 5 ekor mencit diberi ekstrak daun kecubung dengan dosis 0,65mg / 20 g BB
- 8) Kelompok VIII : 5 ekor mencit diberi ekstrak daun kecubung dengan dosis 0,78mg / 20 g BB

Setelah 30 menit kemudian seluruh kelompok hewan yang telah mendapatkan perlakuan diberi induktor nyeri secara intra peritoneal menggunakan asam asetat 0,6% (Perdana, 2012). Kemudian geliat mencit diamati dan dihitung jumlah geliat yang terjadi setiap 5 menit selama 1 jam. Geliat dihitung pada saat mencit mulai merasakan sakit yang ditandai dengan merengangnya tubuh mencit. Hasilnya dikumulatifkan sebagai frekuensi jumlah geliat hewan percobaan perjam. Kekuatan aktifitas analgetik dihitung berdasarkan kemampuan hambatan sampel terhadap penurunan geliatan hewan percobaan (% inhibisi nyeri). Daya proteksi obat terhadap efek analgetik (Turner, 1965).

$$\% \text{ proteksi} = 100 - \left(\frac{P}{K} \times 100\% \right)$$

Keterangan:

P = jumlah geliat kelompok perlakuan

K = jumlah geliat kelompok kontrol negatif

3.7. Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji efek analgetik dianalisis secara statistika menggunakan ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak etanol daun kecubung terhadap mencit putih jantan galur Swiss Webster.