

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian menggunakan eksperimental laboratories dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan menggunakan metode *Post Test Only Controll Group Design*, pada desain ini menggunakan kelompok yang menjadi kontrol dan terdapat kelompok yang diberi perlakuan infusa masing-masing tanaman buah Asam Jawa (*Tamarindus indica*), rimpang Jahe (*Zingiber officinale*), daun Saga (*Abrus precatorius*), daun Pare (*Momordica charantia*) dan daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*) dengan variasi dosis 1, 2 dan 3 menggunakan hewan uji yaitu tikus putih dengan galur wistar yang terbagi menjadi 18 kelompok yaitu kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif, variasi dosis 1, variasi dosis 2 dan variasi dosis 3 dari masing-masing infusa tanaman buah Asam Jawa (*Tamarindus indica*), rimpang Jahe (*Zingiber officinale*), daun Saga (*Abrus precatorius*), daun Pare (*Momordica charantia*) dan daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*). Setelah diberi perlakuan suhu rektal tikus diukur dalam jangka waktu 1, 2, 3 dan 4 jam menggunakan termometer. Hasil pengukuran suhu rektal tikus dianalisa menggunakan *analisis of variance* dan dilanjutkan *Tukey HSD Post Hoc*.

3.2 Sampel

Sampel yang digunakan yaitu hewan uji tikus putih jantan galur wistar yang berjumlah 72 ekor yang dibagi kedalam 18 kelompok perlakuan yang terdiri dari 4 ekor tikus dalam satu kelompok.

3.3 Alat Dan Bahan Yang Digunakan

3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan tanaman yang dipetik dari di Kecamatan Tirtajaya Kabupaten Karawang yang kemudian di rebus dengan menggunakan air dilakukan di Laboratorium Universitas Buana Perjuangan Karawang, Aquadest (PT. Bratacho), tablet parasetamol (Sanbe Farma), *Pulvis Gummi Arabicum* (PGA), Pepton 5%, asam klorida, amil alkohol, besi (III) klorida, NaOH dan makanan hewan uji (pelet).

3.3.2 Alat

Alat yang dipakai pada penelitian kali ini yaitu timbangan *beaker glass* (pyrex) 100ml, Erlenmeyer 100ml (pyrex), labu ukur (pyrex), pipet ukur (pyrex), pipet tabung reaksi (pyrex), kertas perkamen, sendok tanduk, thermometer digital (one med) Gelas Ukur 100ml (pyrex), tabung reaksi (pyrex), corong kaca (pyrex), batang pengaduk (pyrex), timbangan analitik (Kern), blender (philips), *Freeze Dry*, penangas air (favorit), saringan, spuit 1 cc, spuit 3cc, sonde, mortir dan steamper.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variasi dosis 1, 2, dan 3 dari infusa buah Asam Jawa (*Tamarindus indica*), infusa rimpang Jahe (*Zingiber officinale*), infusa daun Saga (*Abrus precatorius*), infusa daun Pare (*Momordica charantia*) dan infusa daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*) yang digunakan untuk pengujian aktivitas antipiretik.

3.4.2 Variabel Terikat

Pengukuran suhu rektal mencit setelah induksi, setelah pemberian paracetamol sebagai pembanding, dan setelah pemberian infusa buah Asam Jawa (*Tamarindus indica*), infusa rimpang Jahe (*Zingiber officinale*), infusa daun Saga (*Abrus precatorius*), infusa daun Pare (*Momordica charantia*) dan infusa daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*) dengan berbagai dosis.

3.4.3 Variabel Terkendali

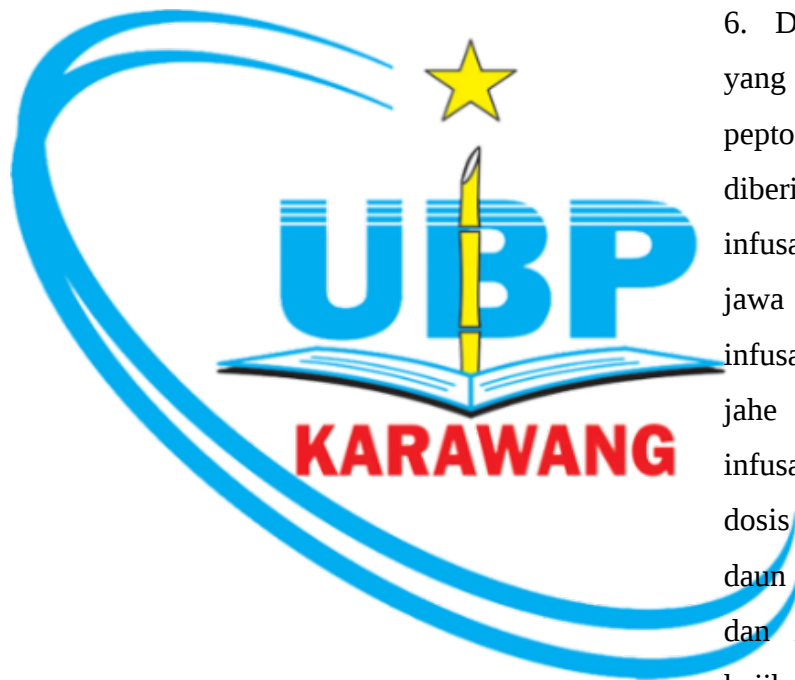
Variabel terkontrol pada penelitian ini yaitu mengenai hewan uji yang digunakan seperti berat badan tikus, volume pemerian, pakan tikus dan jenis kelamin tikus.

3.5 Definisi Operasional Variable

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variable

No.	Variabel	Definisi	Alat	Skala	Hasil Ukur
			ukur		
1.	Variabel bebas dosis buah	18 kelompok perlakuan dengan kontrol	-	Nomi- nal	1. K- = kontrol negative, tikus yang di induksi

Jawa (<i>Tamarindus indica</i>), infusa rimpang Jahe, infusa daun Saga (<i>Abrus precatorius</i>), infusa daun Pare (<i>Momordica charantia</i>) dan infusa daun Kejibeling (<i>Strobilanthes crispus</i>)	positif diberikan obat paracetamol, kontrol negative diberikan PGA 1%, kelompok normal yang diberikan aquadest tanpa induksi pepton 5% dan 15 kelompok terapi infusa buah Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i>), infusa rimpang Jahe, infusa daun Saga (<i>Abrus precatorius</i>), infusa daun Pare (<i>Momordica charantia</i>) dan infusa daun Kejibeling (<i>Strobilanthes crispus</i>) dengan variasi dosis 1, 2 dan 3.	pepton 5% dan diberi perlakuan PGA 1%. 2. K+ = kontrol positif, tikus yang di induksi pepton 5% dan diberi perlakuan paracetamol 150 mg/kg. 3. K0 = kontrol normal, tikus yang diberi aquadest namun tanpa induksi pepton 5%. 4. D1= Tikus yang di induksi pepton 5% dan diberi perlakuan infusa buah asam jawa dosis 1, infusa rimpang jahe dosis 1, infusa daun saga dosis 1, infusa daun pare dosis 1 dan infusa daun kejibeling dosis 1. 5. D2 = Tikus yang di induksi pepton 5% dan
---	--	--



diberi perlakuan infusa buah asam jawa dosis 2, infusa rimpang jahe dosis 2, infusa daun saga dosis 2, infusa daun pare dosis 2 dan infusa daun kejobeling dosis 2.

6. D3 = Tikus yang di induksi pepton 5% dan diberi perlakuan infusa buah asam jawa dosis 3, infusa rimpang jahe dosis 3, infusa daun saga dosis 3, infusa daun pare dosis 3 dan infusa daun kejobeling dosis 3.

22.	Variabel	Mengukur suhu rektal tikus dengan interval waktu selama 4 jam pada jam ke 1, 2, 3 dan 4.	Termo-meter	Nomi-nal	°C (derajat celsius)
	Terikat pengukuran suhu rektal tikus setelah diberi perlakuan.				

4	Variabel	Karakteristik	Timban	Nomi	Gram, Ml
	Terkendali	hewan uji	gan,	nal	
			Sput.		

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Preparasi Sampel

1. Determinasi Tanaman

Determinasi dilaksanakan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu untuk mengetahui kebenaran dari identitas tanaman tersebut.

2. Pengolahan Simplisia Tanaman

a. Buah Asam Jawa

Kumpulkan sampel buah asam jawa kemudian lakukan sortasi basah dan dilanjutkan dengan proses pencucian. Setelah dicuci, buah asam jawa dikupas untuk memisahkan kulit buah dan daging buahnya. Daging buah kemudian di iris tipis kemudian ditata dalam wadah lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C sampai kadar air kurang dari 10% lalu dilanjutkan dengan lakukan sortasi kering untuk memisahkan kotoran maupun benda lainnya.

b. Rimpang Jahe

Kumpulkan sampel rimpang jahe kemudian lakukan sortasi basah dan dilanjutkan dengan proses pencucian. Setelah dicuci, rimpang jahe dikupas untuk memisahkan dari kulit bagian luarnya. Rimpang jahe yang sudah di kupas dari kulitnya kemudian di iris tipis lalu ditata dalam wadah dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C hingga kadar air tidak lebih dari 10% lalu dilanjutkan dengan sortasi agar memisahkan kotoran maupun benda lainnya.

c. Daun Saga

Kumpulkan sampel daun saga kemudian lakukan sortasi basah dan dilanjutkan dengan proses pencucian. Setelah dicuci kemudian ditata dalam wadah dan dikeringkan menggunakan oven dalam suhu 60°C sampai kadar air kurang dari 10% lalu dilanjutkan

dengan sortasi kering untuk memisahkan kotoran maupun benda lainnya.

d. Daun Pare

Kumpulkan sampel daun pare kemudian lakukan sortasi basah dan dilanjutkan dengan proses pencucian. Setelah dicuci, daun pare di iris tipis kemudian ditata dalam wadah dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C sampai kadar air di dalamnya kurang dari 10% lalu dilanjutkan sortasi kering agar memisahkan kotoran maupun benda lainnya.

e. Daun Kejibeling

Kumpulkan sampel daun kejibeling kemudian lakukan sortasi basah dan dilanjutkan dengan proses pencucian. Setelah dicuci, daun kejibeling di iris tipis kemudian ditata dalam wadah dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C sampai kadar air kurang dari 10% lalu dilanjutkan sortasi kering agar memisahkan kotoran maupun benda lainnya.

3. Pembuatan Infusa Tanaman

a. Infusa Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica*)

Timbang Simplisia kering buah asam jawa (*Tamarindus indica*), sebanyak 500 gram kemudian cuci sampai bersih, masukkan kedalam panci ditambah aquades 500 ml lalu ditambah lagi aquades dengan jumlah dua kali berat simplisia kering. panaskan hingga 15 menit dan dihitung saat suhu infusa tercapai 90°C dan sesekali diaduk. Lalu, infusa disaring saat panas dengan menggunakan kain flannel. Apabila hasil infusa tidak mencukupi bisa ditambahkan air pada ampasnya. Hasil infusa tersebut kemudian dikeringkan dengan menggunakan alat freeze dryer.

b. Infusa Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*)

Timbang Simplisia kering Rimpang jahe (*Zingiber officinale*) sebanyak 500 gram kemudian cuci sampai bersih, masukkan kedalam panci ditambah aquades 500 ml lalu ditambah lagi aquades

dengan jumlah dua kali berat simplisia kering. panaskan hingga 15 menit dan dihitung saat suhu infusa tercapai 90°C dan sesekali diaduk. Lalu, infusa disaring saat panas dengan menggunakan kain flannel. Apabila hasil infusa tidak mencukupi bisa ditambahkan air pada ampasnya. Hasil infusa tersebut kemudian dikeringkan dengan menggunakan alat freeze dryer..

c. Infusa Daun Saga (*Abrus precatorius*)

Timbang Simplisia kering daun saga (*Abrus precatorius*) sebanyak 500 gram kemudian cuci sampai bersih, masukkan kedalam panci ditambah aquades 500 ml lalu ditambah lagi aquades dengan jumlah dua kali berat simplisia kering. panaskan hingga 15 menit dan dihitung saat suhu infusa tercapai 90°C dan sesekali diaduk. Lalu, infusa disaring saat panas dengan menggunakan kain flannel. Apabila hasil infusa tidak mencukupi bisa ditambahkan air pada ampasnya. Hasil infusa tersebut kemudian dikeringkan dengan menggunakan alat freeze dryer.

d. Infusa Daun Pare (*Momordica charantia*)

Timbang Simplisia kering daun pare (*Momordica charantia*) sebanyak 500 gram kemudian cuci sampai bersih, masukkan kedalam panci ditambah aquades 500 ml lalu ditambah lagi aquades dengan jumlah dua kali berat simplisia kering. panaskan hingga 15 menit dan dihitung saat suhu infusa tercapai 90°C dan sesekali diaduk. Lalu, infusa disaring saat panas dengan menggunakan kain flannel. Apabila hasil infusa tidak mencukupi bisa ditambahkan air pada ampasnya. Hasil infusa tersebut kemudian dikeringkan dengan menggunakan alat freeze dryer.

e. Infusa Daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*)

Timbang Simplisia kering daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*) sebanyak 500 gram kemudian cuci sampai bersih, masukkan kedalam panci ditambah aquades 500 ml lalu ditambah lagi aquades dengan jumlah dua kali berat simplisia kering. panaskan hingga 15 menit dan dihitung saat suhu infusa tercapai 90°C dan sesekali

diaduk. Lalu, infusa disaring saat panas dengan menggunakan kain flannel. Apabila hasil infusa tidak mencukupi bisa ditambahkan air pada ampasnya. Hasil infusa tersebut kemudian dikeringkan dengan menggunakan alat freeze dryer.

4. Skrining Fitokimia

a. Flavonoid

satu gram sampel uji ditambah satu mL air panas, kemudian dididihkan dengan waktu 5 menit kemudian disaring saat panas. pada 5 mL filtrat tambahkan 0,1 gram bubuk magnesium lalu ditambahkan 1 mL asam klorida pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Sampel disebut mengandung flavonoid jika terjadi warna merah pada lapisan amil alkohol

b. Fenol

Identifikasi senyawa fenolik dapat dilakukan dengan penambahan natrium hidroksida. Sampel disebut dikatakan mengandung senyawa fenolik ditunjukkan dengan timbulnya warna merah.

c. Tanin

Sampel uji ditimbang sebanyak 1 g, dididihkan selama 3 menit dalam 100 mL air suling lalu didinginkan dan disaring. Larutan diambil 2 mL ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika terjadi warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

d. Saponin

Sampel uji ditimbang sebanyak 0,5 g dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat selama 10 detik dengan tinggi busa 1 sampai 3 cm. Jika berbusa dan tidak hilang dengan ditambahkan asam klorida 2N menunjukkan adanya kandungan saponin.

5. Pembuatan Suspensi Parasetamol

Dikarenakan kelarutan parasetamol yang sukar larut dalam air yaitu 1: 70 (Noviza *et al.*, 2015) maka dari itu parasetamol dibuat suspensi dengan

menimbang bahan baku paracetamol sesuai dengan hasil perhitungan dosis lalu larutkan dalam PGA 1%.

6. Pembuatan induksi Pepton 5%

Larutan pepton 5% dibuat dengan menimbang 5 gram pepton yang dilarutkan dalam 50 ml aqua proinjeksi aduk hingga homogen, dicukupkan volumenya hingga 100 ml dengan aqua proinjeksi, pepton 5% b/v siap digunakan.

7. Pembuatan PGA 1%

Larutan PGA 1% dibuat dengan cara menimbang sebanyak 1 gram PGA lalu dilarutkan dalam 100 ml aquadest.

3.6.2 Prosedur

1. Pengelompokan Perlakuan Pada Tikus

Penelitian ini menggunakan Tikus Putih Jantan Galur Wistar sebagai hewan percobaan dengan berat sekitar 150-200 g dan umur 8-9 minggu. Hewan uji diberi penomoran pada ekor dengan angka 1-72 lalu dilakukan randomisasi menggunakan aplikasi excel dengan rumus (=RAND). Hewan uji dibagi menjadi 18 kelompok percobaan yang setiap kelompok berisi 4 ekor tikus. Sebelum diberi perlakuan seluruh kelompok hewan uji diberi induksi pepton 5% secara intraperitoneal terkecuali kelompok kontrol normal. Kemudian hewan uji yang telah diberi induksi diamati hingga demam yaitu ketika suhu rektal mengalami kenaikan $0,6^{\circ}\text{C}$ untuk parameter demam pada hewan. Setelah demam, setiap kelompok diberi perlakuan, Kelompok 1 yaitu kelompok kontrol positif dengan diberikan parasetamol 150 mg/kgBB, kelompok 2 yaitu kelompok kontrol negatif yang diberikan PGA 1%, kelompok 3 yaitu kelompok normal yang diberikan aqua dest namun tanpa induksi pepton 5%. kemudian kelompok 4 diberikan infusa buah Asam Jawa (*Tamarindus indica*) dosis 1, kelompok 5 diberikan infusa buah Asam Jawa (*Tamarindus indica*) dosis 2, kelompok 6 diberikan infusa buah Asam Jawa (*Tamarindus indica*) dosis 3. Kelompok 7 diberikan infusa

rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) dosis 1, kelompok 8 diberikan infusa rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) dosis 2, kelompok 9 diberikan infusa rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) dosis 3. Kelompok 10 diberikan infusa daun Saga (*Abrus precatorius*) dosis 1, kelompok 11 diberikan infusa daun Saga (*Abrus precatorius*) dosis 2, Kelompok 12 diberikan infusa daun Saga (*Abrus precatorius*) dosis 3. Kelompok 13 diberikan infusa daun Pare (*Momordica charantia*) dosis 1, kelompok 14 diberikan infusa daun Pare (*Momordica charantia*) dosis 2, kelompok 15 diberikan infusa daun Pare (*Momordica charantia*) dosis 3. Kelompok 16 diberikan infusa daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*) dosis 1, kelompok 17 diberikan infusa daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*) dosis 2, dan kelompok 18 diberikan infusa daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*) dosis 3. Setelah diberi perlakuan, suhu rektal tikus putih jantan galur wistar pada seluruh kelompok diukur menggunakan thermometer dengan kedalaman 2-3 cm dengan interval waktu 1 jam selama 4 jam.

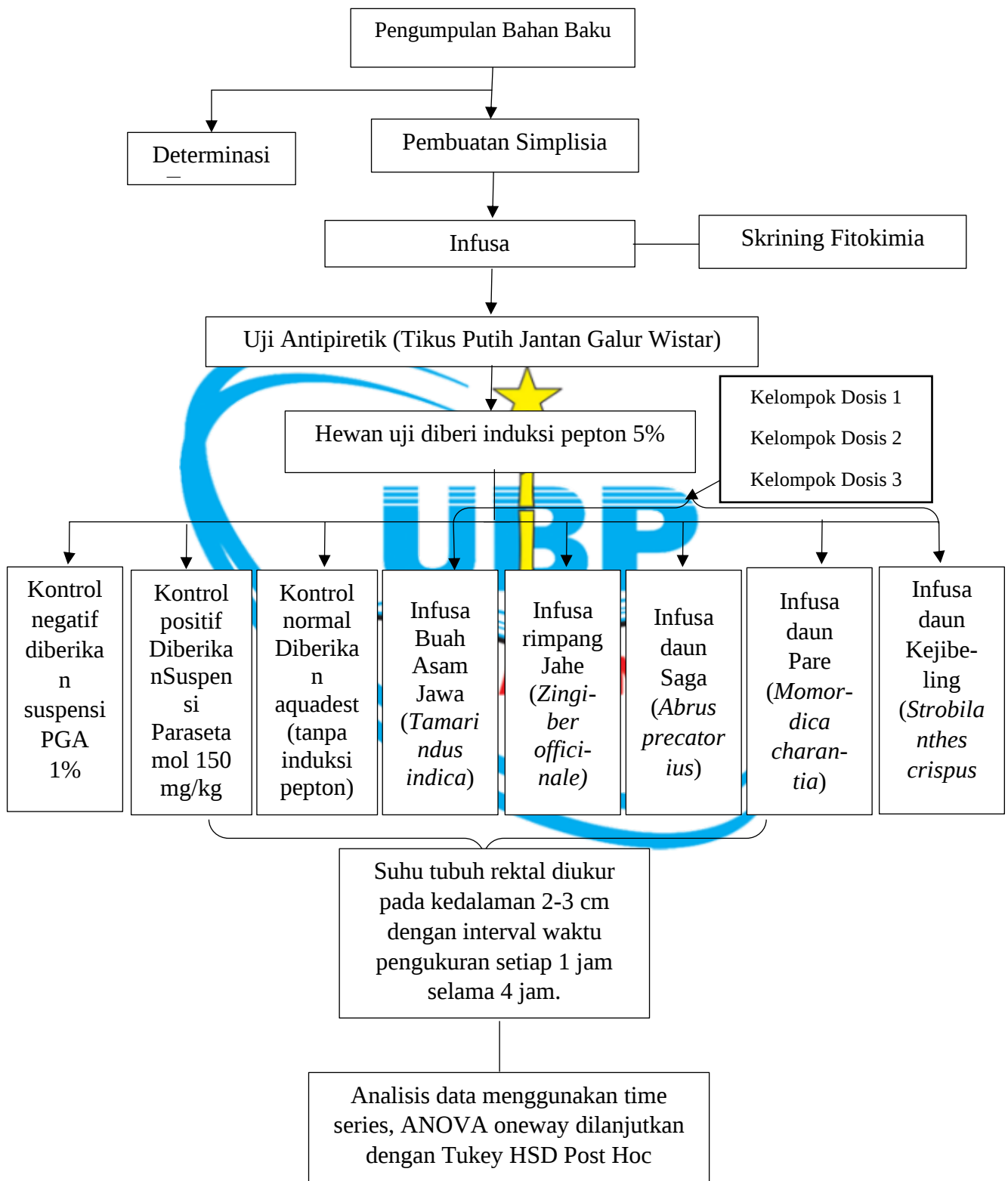
2. Pengukuran Suhu Rektal Tikus

Pengukuran suhu tubuh tikus dilakukan disaat tikus mengalami demam setelah di induksi pepton 5% yang ditandai dengan meningkatnya suhu rektal lebih dari 37°C, lalu ukur suhu dengan memasukan termometer ke dalam rektal tikus sedalam 3-4 cm. Yang kemudian diberi perlakuan dosis infusa lalu diukur kembali suhu tikus melalui rektal dengan rentang waktu 1, 2, 3 dan 4 jam.

3.6.3 Analisis Data

Hasil penelitian ini disajikan dalam bentuk rata-rata $\pm$ SEM dengan $p < 0,05$ dianggap berbeda signifikan. Untuk analisis statistika dilakukan dengan uji Analysis of Variance (ANOVA) menggunakan GraphPad Prism Versi 9 dan diikuti dengan uji Tukey HSD Post Hoc.

3.7 Skema Penelitian



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian