

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan Studi Eksperimental Laboratorium Farmakologi. Menggunakan ekstrak etanol 70% sebagai pelarut untuk membuat ekstrak bunga melati, metode yang digunakan adalah maserasi. Untuk uji antiinflamasi digunakan karagenan 1% sebagai penginduksi hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah tikus galur wistar jantan putih. Dosis yang digunakan sebagai pembanding dari setiap uji ekstrak etanol bunga melati diantaranya 100 mg/kg BB, 150 mg/kg BB, dan 200 mg/kg BB. Ketiga dosis tersebut digunakan karena sebelumnya sudah ada penelitian yang menggunakannya sebagai dosis uji.

3.2 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah hewan uji coba tikus putih jantan galur wistar. Sampel pada penelitian ini adalah hewan uji yang dikelompokkan secara acak.

3.3 Bahan dan Alat yang Digunakan

3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan adalah bunga Melati (*Jasminum sambac* L.) yang didapatkan dari kecamatan Cikarang Utara, Kabupaten Bekasi, Provinsi Jawa Barat. Lalu etanol 70%, aquadest, PGA 1%, karagenan 1%, Natrium Diklofenak, API, CMC Na 0,5%.

3.3.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik, sonde oral, spidol, blander, batang pengaduk, spuit, sendok tanduk, rotary evaporator, erlenmeyer, toples kaca, jangka sorong, gelas ukur, gelas kimia, corong, kertas saring, dan aluminium foil.

3.4 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang pada bulan Maret sampai dengan bulan Juli 2024.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu variasi dosis 100, 150 dan 200 mg/kg dari ekstrak etanol *Phyllanthus niruri* L.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu pengujian penurunan suhu tubuh tikus putih jantan galur wistar melalui rektal.

3.5.3 Definisi Operasional Variabel

Berikut ini adalah definisi operasional variabel yang terdapat pada penelitian ini, yaitu :

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variabel Bebas					
1.	Dosis ekstrak bunga melati	5 kelompok perlakuan dengan menggunakan obat natrium diklofenak dan ekstraksi tanaman dengan 3 kelompok uji		Nominal	1. Kontrol negatif karagenan 1% 2. Kontrol positif natrium diklofenak 50mg/kgBB 3. Kelompok uji 1 ekstrak etanol bunga melati 100.(mg/kgBB) secara peroral. 4. Kelompok uji 2 ekstrak etanol

					bunga melati 150.(mg/kgBB) secara peroral. 5. Kelompok uji 3 ekstrak etanol bunga melati 200.(mg/kgBB) secara peroral.
Variabel Terikat					
2.	Penurunan udema pada kaki tikus	Mengukur udema kaki tikus putih jantan galur wistar	Jangka sorong	Interval	1. Centi meter (CM) 2. Ukuran normal udema tikus 1cm

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Penyiapan Bahan Penelitian

1. Dertiminasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Unit Laboratorium Universitas Padjadjaran untuk mengetahui identitas dari tanaman *Jasminum sambac* L.

2. Penyiapan Simplisia

Langkah-langkahnya sebagai berikut:

- a). Bunga melati (*Jasminum sambac* L.) yang dipanen dari pohon dengan memilih bunga yang masih segar, secara acak tidak terlalu tua, tidak terlalu muda, dan tidak rusak.

- b). Setelah itu bunga melati di sortasi basah, tujuannya untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya (kerikil, rumput, batang) dari simplisia.
- c). Kemudian dilakukan pencucian, tujuannya untuk menghilangkan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian bunga melati dilakukan dengan air bersih yang mengalir, serta dilakukan dalam waktu yang singkat agar zat aktif tidak ikut larut dalam air.
- d). Selanjutnya dilakukan perajangan yaitu dengan cara meletakkan bunga melati pada wadah dengan permukaan datar.
- e). Selanjutnya yaitu proses sortasi kering dengan cara memilih bagian kontaminan dan membuang bagian tersebut sehingga tidak mengikuti proses ekstraksi.

3.6.2 Pembuatan Ekstrak Bunga Melati

Pembuatan ekstrak bunga melati (*Jasminum sambac* L.) dalam pelarut etanol 70% menggunakan metode maserasi. Simplisia bunga melati ditimbang sebanyak 50 gram. Kemudian direndam dalam etanol sebanyak 500 mL selama satu 24 jam dan sesekali diaduk, lalu diulangi hingga terekstraksi sempurna. Hasil ekstrak etanol bunga melati yang telah direndam ditampung dalam gelas beaker yang selanjutnya dimasukkan ke dalam labu evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental. Proses evaporasi dilakukan pada suhu 35°C dimana proses tersebut bertujuan untuk mengurangi jumlah pelarut sehingga didapatkan ekstrak kental yang pekat. Dihitung persentase rendemen ekstrak yang diperoleh.

$$\% \text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat Ekstrak Total}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100\%$$

3.6.3 Skrining Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2N. Pengujian menggunakan tiga pereaksi alkaloid yaitu pereaksi Dragendorff, pereaksi Meyer dan pereaksi Wagner. Hasil uji dinyatakan positif bila dengan pereaksi Dragendorff terbentuk endapan merah jingga. Kemudian, terbentuknya endapan putih kekuningan dengan pereaksi Meyer dan terbentuknya endapan coklat dengan pereaksi Wagner.

b. Uji Flavanoid

Sebanyak 2 mL sampel dilarutkan dalam 2 mL methanol, kemudian ditambahkan serbuk Mg dan HCl pekat sebanyak 5 tetes. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga (Ningsih *et al.*, 2016).

c. Uji Saponin

Sebanyak 2 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 mL aquadest lalu dikocok selama 30 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya saponin.

d. Uji Tanin

Sampel sebanyak 1 gram ditambah pereaksi FeCl_3 3% adanya warna hijau kehitaman menandakan suatu bahan mengandung komponen tanin (Harborne, 2012).

e. Uji Triterpenoid dan Steroid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam 2 mL kloroform dalam tabung reaksi yang kering, kemudian ditambah 10 tetes anhidrat asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau (Harborne, 2012).

3.6.4 Pembuatan Larutan Karagenan 1%

Ambil karagenan lalu timbang karagenan sebanyak 0,1 gram, masukkan ke dalam beaker glass, kemudian masukkan juga API sebanyak 1mL, aduk menggunakan batang pengaduk hingga homogen.

3.6.5 Pembuatan Pulvis Gummi Arabic 1%

Ambil PGA lalu timbang sebanyak 10mg, masukkan ke dalam beaker glass, kemudian masukkan juga aquadest Sebanyak 1mL, aduk menggunakan batang pengaduk hingga homogen. Larutan PGA 1% akan digunakan untuk melarutkan Natrium Diklofenak.

3.6.6 Pembuatan Suspensi Natrium Diklofenak 50mg

Ambil natrium diklofenak 50mg lalu gerus, kemudian timbang natrium diklofenak yang sudah digerus sesuai dengan dosis si tikus, setelah itu masukkan ke dalam beaker glass yang berisikan larutan PGA 1% tadi, aduk dengan batang pengaduk hingga homogen.

3.6.7 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji tikus jantan galur wistar (*Rattus norvergicus*). Semua hewan uji dipelihara dalam kondisi yang sama, sebelum digunakan tikus diadaptasikan dengan lingkungan penelitian selama satu minggu dan sebelum pemberian perlakuan, tikus dipuaskan 18 jam dengan tetap diberi minum.

3.6.8 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Bunga Melati

Ekstrak etanol bunga melati dibuat Menjadi 3 dosis yang diperoleh melalui orientasi. Setelahnya dilarutkan dengan larutan CMC Na 0,5%. Lalu masing – masing tikus akan diberikan Sebanyak 1,5mL suspense ekstrak etanol.

3.6.9 Pengujian Efek Antiinflamasi Bunga Melati

Uji antiinflamasi ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh antiinflamasi ekstrak etanol bunga Melati (*Jasminum sambac* L.) terhadap tikus putih jantan. Edema pada kaki belakang yang diinduksi karagenin adalah model standar percobaan inflamasi akut. Keuntungan metode Winter ini adalah mudah dan membutuhkan biaya yang sedikit. dinilai menggunakan edema kaki kanan yang diinduksi karagenan. Perubahan diameter kaki diukur menggunakan, jangka sorong. Rata-rata kaki bengkak pada tikus dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif untuk mengetahui edema kaki tikus. Dibuat tiap variasi dosis dan didapati melalui orientasi. 15 tikus galur wistar di bagi menjadi 5 kelompok, masing masing kelompok terdiri dari 3 tikus sebagai berikut:

Kelompok 1: Kelompok kontrol negatif diberikan larutan PGA 1% secara peroral.

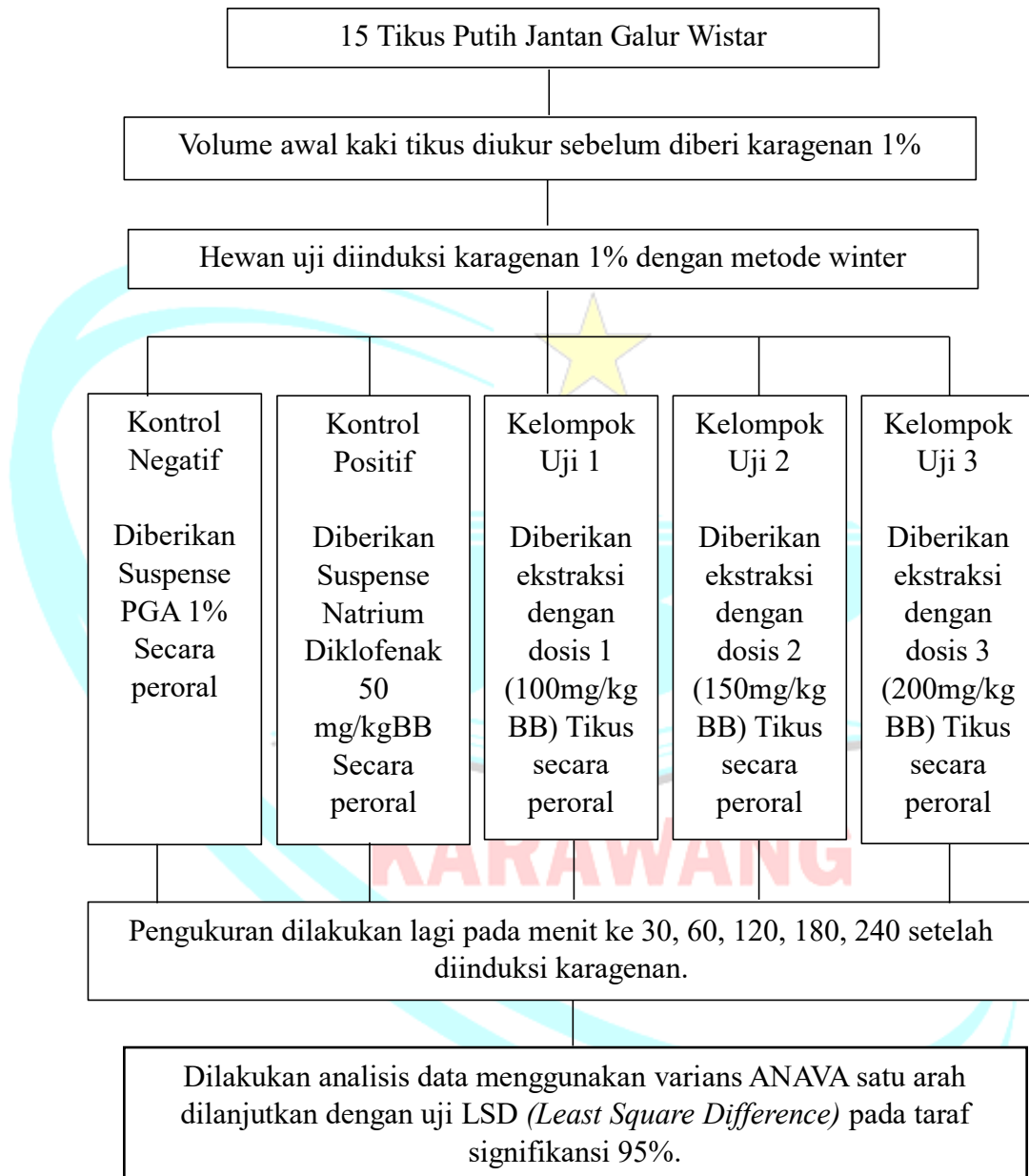
Kelompok 2: Kelompok positif disuntikan penginduksi yaitu larutan karagenan kemudian diberi larutan natrium diklofenak 50mg/kg BB Secara peroral.

Kelompok 3: Kelompok ekstrak etanol bunga melati dosis 100 (mg/kg BB).

Kelompok 4: Kelompok ekstrak etanol bunga melati dosis 150 (mg/kg BB).

Kelompok 5: Kelompok ekstrak etanol bunga melati dosis 200 (mg/kg BB).

3.7 Skema Penelitian



Gambar 3. 1 Skema Penelitian