

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dipakai yaitu jenis penelitian eksperimental laboratorium. Jenis penelitian ini meliputi identifikasi sampel, pemeriksaan karakteristik simplisia, pengumpulan sampel, pengolahan sampel, skrining fitokimia daun suji (*Dracaena angustifolia*), pembuatan fraksi n-heksan, etil asetat serta air dari ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia*), dan pengujian fraksi ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia*) atas penurunan volume udem pada kaki belakang tikus putih jantan galur wistar.

Rancangan ini menggunakan rumus Federer yang akan digunakan pada saat menentukan jumlah sampel yaitu :

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

Keterangan :

K : Jumlah kelompok perlakuan

n : Banyak sampel tiap kelompok

Penelitian ini dengan menggunakan 6 kelompok pengujian, masing-masing terdiri dari kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok uji fraksi n-heksan, kelompok uji fraksi etil asetat serta kelompok uji fraksi air. Berikut adalah perhitungan untuk menentukan banyaknya sampel tiap kelompok dengan menggunakan Rumus Federer :

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

$$(6-1) (n-1) \geq 15$$

$$5 (n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Dari perhitungan rumus Federer didapatkan sampel pada setiap kelompok sebanyak 4 sampel.

3.2 Populasi dan Sampel

Populasi yang dipakai pada penelitian ini adalah hewan uji coba tikus putih jantan galur wistar. Sedangkan untuk sampel yang digunakan yaitu hewan uji yang dikelompokkan secara acak.

3.3 Alat dan Bahan yang Digunakan

3.3.1 Alat

Alat yang dipakai pada penelitian kali ini yaitu seperangkat alat maserasi, timbangan digital, timbangan tikus, *hand scone*, pipet, spatula, tabung reaksi, *water bath*, spuit, sonde lambung, *disposable syringe*, kandang tikus, stopwatch, mortir, stemper, *beaker glass*, corong pisah, spidol, jangka sorong dan *alcohol swab*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang dipakai pada penelitian ini adalah ekstrak daun suji (*Dracaena angustifolia*) yang didapatkan dari kecamatan Cikarang Timur, Kabupaten Bekasi, Provinsi Jawa Barat. 48 ekor tikus putih jantan galur wistar, etanol 70%, suspensi karagen 1%, aquadest steril, *PGA 1%*, natrium diklofenak 50 mg, *NaOH*, *H₂SO₄* pekat, *Mg-HCl* pekat, *FeCl₃*, pereaksi *Libermann-Buchard*, *HCl*, pereaksi mayer, pereaksi dragendorff, *N-Heksana*, dan Etil Asetat.

3.4 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini diterapkan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang pada bulan Mei sampai dengan bulan Juli.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang terlibat pada penelitian ini yaitu variasi dosis dari masing-masing fraksi ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia*) yang diperoleh melalui orientasi.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu diameter udem pada kaki belakang tikus putih jantan galur wistar.

3.5.3 Definisi Operasional Variabel

Pada penelitian ini, definisi oprasional variabel diberikan penjelasan pada tabel dibawah ini,:

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Persyaratan Pengujian
Variabel Bebas					
1.	Dosis	Kadar obat yang memengaruhi organisme secara biologis; semakin tinggi konsentrasinya, semakin besar dosis yang diperlukan.	-	-	-
Variabel Terikat					
1.	Volume udem	Bengkak disebabkan oleh kelebihan cairan yang terjebak dalam jaringan tubuh.	Jangka Sorong	0,01 cm atau 0,1 mm	-

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi

Determinasi diberikan di Unit Laboratorium Universitas Padjadjaran Bandung untuk mengetahui identitas dari tanaman suji (*Dracaena angustifolia*).

3.6.2 Pengumpulan Tanaman

Tanaman yang dipakai pada penelitian ini yaitu daun suji (*Dracaena angustifolia*) yang didapatkan dari kecamatan Cikarang Timur, Kabupaten Bekasi, Provinsi Jawa Barat.

3.6.3 Pembuatan Simplisia

Bahan yang dipakai pada penelitian ini yaitu daun suji (*Dracaena angustifolia*) yang masih segar sebanyak 5 kg kemudian dilakukan pembuatan simplisia. Caranya yaitu dengan dibersihkan dari kotoran yang melekat dan dicuci dengan air mengalir pada daun yang masih segar dengan kondisi utuh. Lalu daun dijemur dengan diberikan perlakuan dianginkan selama beberapa hari. Kemudian blender daun yang sudah kering serta dihaluskan hingga halus sehingga didapatkan 3,5 kg serbuk kering.

3.6.4 Pembuatan Ekstrak Daun Suji

Ambil sebanyak 1.000 gram sampel berupa serbuk halus daun suji (*Dracaena angustifolia*) dimaserasi dengan etanol 70% selama 1×24 jam dan diulangi hingga terekstraksi dengan sempurna hingga filtrat tidak berwarna. Filtrat disaring dan dianginkan hingga memperoleh ekstrak kental sesudah diberikan uap di *water bath* dengan suhu 60-70°C sambil lalu diaduk. Hitung rendemen dari ekstrak kental daun suji (*Dracaena angustifolia*). Rendemen dihitung dengan menggunakan satuan persentase (%). Semakin tinggi nilai rendemen yang diperoleh, maka makin banyak jumlah ekstrak yang diperoleh. Berikut adalah rumus dalam menghitung rendemen:

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

3.6.5 Fraksi Daun Suji

Ekstrak dilakukan pelarutan pada campuran etanol serta air dengan perbandingan (1:3), setelah itu difraksinasi dengan praktisi cair-cair menggunakan n-heksana dan etil asetat masing-masing dilakukan 3 kali pengulangan sebanyak 450 mL (3 x 450 mL) dengan menggunakan alat corong pisah dengan cara dikocok kuat berkali-kali secara searah kemudian didapatkan hasil fraksi adalah fraksi air, fraksi fraksi n-heksana dan etil

asetat. Fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat dipekatkan dengan *ratory evaporator* pada suhu 50°C sedangkan fraksi air dengan cara *freeze dryer* (pengeringan beku) untuk mengeluarkan atau memisahkan hampir sebagian besar air dalam ekstrak. Rendemen fraksi dihitung dengan perhitungan :

$$\% \text{ Rendemen fraksi} = \frac{\text{Berat fraksi yang diperoleh (g)}}{\text{Berat ekstrak awal yang ditimbang (g)}} \times 100\%$$

3.6.6 Skrining Fitokimia

a. Uji Identifikasi Alkaloid

Ambil sebanyak 3 mL ekstrak etanol daun suji dan tuangkan ke dalam cawan porselen. Tambahkan 5 mL HCl 2M, kemudian bagi campuran tersebut menjadi tiga bagian, yaitu A, B, dan C. Filtrat A akan digunakan sebagai kontrol atau blanko. Filtrat B kemudian ditambahkan dengan reagen Mayer untuk mengidentifikasi adanya senyawa tertentu; reaksi positif ditunjukkan dengan pembentukan endapan berwarna kuning. Sementara itu, filtrat C ditambahkan dengan reagen Wagner; reaksi positif pada filtrat ini ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat atau hijau (Damai, 2021).

b. Uji Identifikasi Saponin

Ambil ekstrak etanol daun suji sebanyak 3 mL yang sudah ditambahkan etanol 70% kemudian dimasukkan dan tambahkan 10 mL aquadest ke dalam tabung reaksi, lalu kocok dengan kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil dan bertahan lebih dari 10 menit, hal ini mengindikasikan adanya kandungan saponin (Damai, 2021).

c. Uji Identifikasi Tanin

Ambil dan tambahkan 2 tetes larutan Fe(III) klorida 1% ke dalam ekstrak etanol daun suji cair. Jika larutan berubah warna menjadi biru tua, biru kehitaman, atau hitam kehijauan, ini menunjukkan adanya senyawa polifenol (Damai, 2021).

d. Uji Identifikasi Flavonoid

Ambil 2 mL ekstrak etanol dari daun suji dan panaskan. Tambahkan etanol ke dalam larutan, kemudian masukkan serbuk

magnesium dan tambahkan HCl. Jika larutan berubah warna menjadi merah, ini menandakan adanya flavonoid (Damai, 2021).

e. Uji Identifikasi Steroid dan Terpenoid

Ambil ekstrak etanol daun suji cair sebanyak 5 mL, masukkan pada gelas kimia, kemudian ditambahkan 2 mL kloroform dan di aduk, kemudian tambahkan pereaksi Salkowsky (H_2SO_4 pekat). Jika terbentuk larutan yang berwarna merah atau hitam kemerahan memberikan perubahan adanya steroid atau terpenoid (Damai, 2021).

3.6.7 Uji Efektifitas Antiinflamasi

1. Penyiapan Hewan Uji

- a. Tikus ditempatkan dalam kandang dan dibiarkan beradaptasi selama sekitar satu minggu. Selama periode ini, pemenuhan kebutuhan makan dan minum mereka tetap diperhatikan dengan seksama.
- b. Tikus tidak diberi makan selama 12 jam sebelum perlakuan, tetapi mereka tetap diberikan akses ke air minum.
- c. Setiap tikus diberi tanda pada sendi kaki belakang kiri menggunakan spidol. Selanjutnya, berat badan masing-masing tikus diukur dan tikus tersebut dibagi secara acak menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus.

2. Pembuatan Larutan PGA 1%

Pembuatan larutan PGA (*Pulvis Gummi Arabicum*) 1% dibuat dengan menimbang sebanyak 10 mg PGA (*Pulvis Gummi Arabicum*) dan 1 mL aquadest.

3. Pembuatan Suspensi Karagen 1%

1% karagen disuspensikan dengan menggunakan natrium klorida 0,9% sampai 100 mL dengan menggunakan gelas kimia

4. Pembuatan Suspensi Natrium Diklofenak 50mg

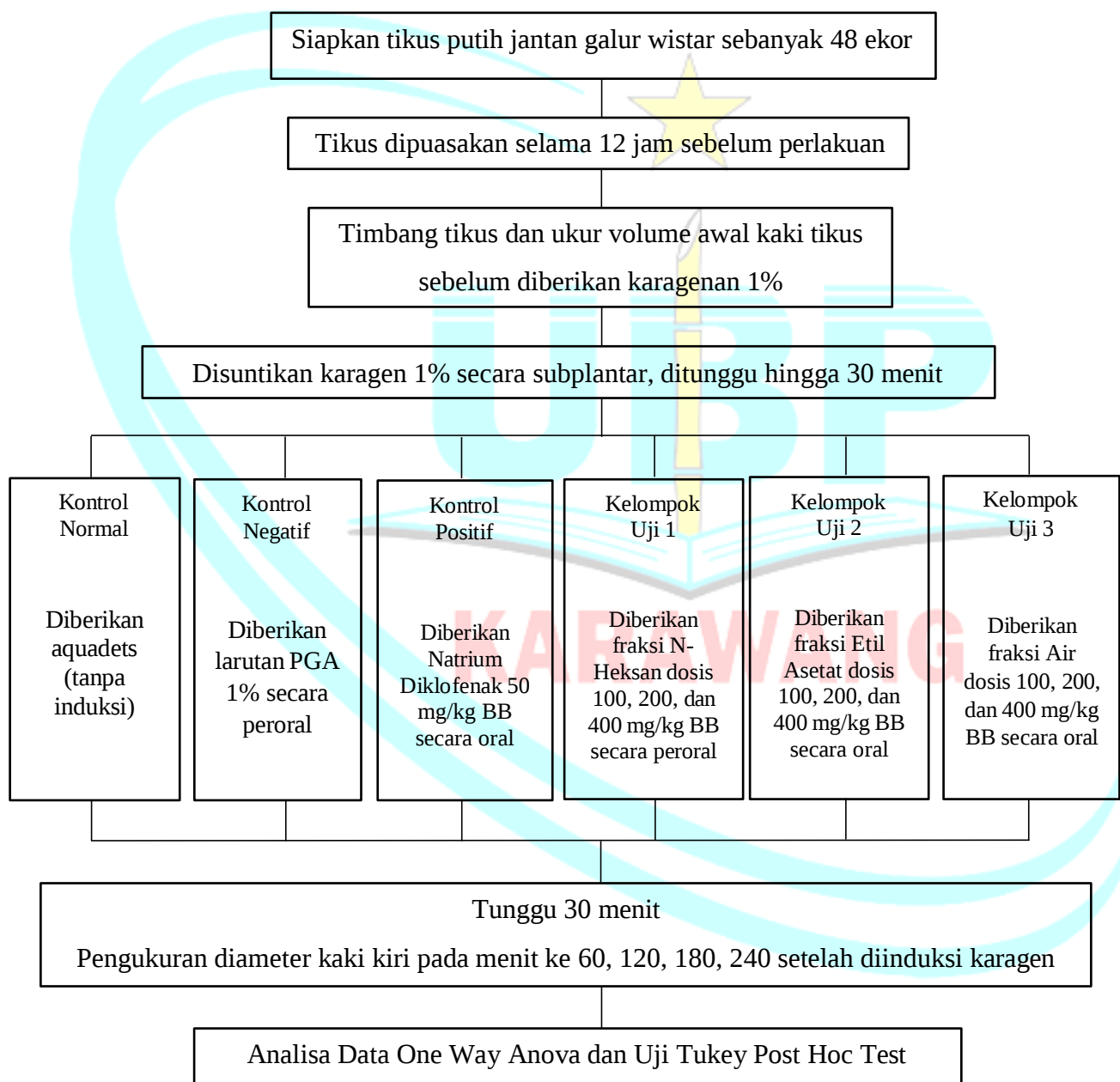
Untuk membuat suspensi natrium diklofenak, timbang 10 tablet, dengan masing-masing tablet mengandung 50 mg natrium diklofenak. Hitung bobot rata-rata dan haluskan tablet tersebut. Natrium diklofenak yang telah dihitung kemudian dicampurkan dengan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga tercampur rata. Setelah itu, tuangkan campuran tersebut ke dalam labu ukur 100 mL dan tambahkan larutan hingga mencapai volume 100 mL.

5. Pengujian Terhadap Hewan Uji

- a. Sebelum memulai perlakuan, diameter kaki belakang kiri setiap tikus diukur menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran ini dicatat sebagai diameter awal.
- b. Pada menit ke-30, suntikkan 1 mL larutan karagen 1% ke telapak kaki belakang kiri tikus secara subplantar.
- c. Tikus pada masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut : Dibuat 3 variasi konsentrasi dosis yang akan diperoleh melalui orientasi:
 1. Kelompok I : 4 ekor tikus hanya diberikan aquadest (tanpa induksi).
 2. Kelompok II : 4 ekor tikus diberikan larutan PGA 1% secara peroral.
 3. Kelompok III : 4 ekor tikus diberikan suspensi natrium diklofenak 50 mg/kg BB secara peroral (kontrol positif).
 4. Kelompok uji IV : masing-masing dosis fraksi n-heksan dari daun suji 100, 200, dan 400 mg/kg BB dengan menggunakan 4 ekor tikus dan diberikan secara peroral.
 5. Kelompok uji V : masing-masing dosis fraksi etil asetat dari daun suji 100, 200, dan 400 mg/kg BB dengan menggunakan 4 ekor tikus dan diberikan secara peroral.

6. Kelompok uji VI : masing-masing dosis fraksi air dari daun suji 100, 200, dan 400 mg/kg BB dengan menggunakan 4 ekor tikus dan diberikan secara peroral.
- d. ada menit ke-60, ke-120, ke-180, dan ke-240 setelah penyuntikan karagen, ukur diameter kaki belakang kiri tikus memakai jangka sorong. Hasil dicatat sebagai diameter akhir.

3.7 Skema Penelitian



Gambar 3.1 Skema Penelitian

3.8 Analisis Data

Data hasil pengukuran besarnya edema pada telapak kaki tikus untuk setiap periode pengamatan di semua kelompok disajikan pada tabel. Untuk menentukan adanya efek antiinflamasi, hitunglah persentase edema pada setiap waktu pengamatan.

$$\% \text{ Edema} : \frac{X_t - X_o}{X_o} \times 100\%$$

Keterangan : X_t : volume edema pada waktu t

X_o : volume edema sebelum diberi perlakuan

Data yang diperoleh dari perhitungan selanjutnya dianalisis menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas. Setelah memastikan data terdistribusi normal dan homogen ($P > 0,01$), langkah berikutnya adalah melakukan uji statistik parametrik *One Way Anova* dengan menggunakan GraphPad Prism Versi 10 dan uji *Tukey HSD Post Hoc*.

