

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah studi ekperimental yang menggunakan tikus putih jantan galur wistar sebagai hewan percobaan dan menggunakan metode *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini meliputi pengumpulan dan pengolahan sampel, pembuatan dari ekstrak etanol meniran, skrining fitokimia dan pengujian efek antiinflamasi terhadap penurunan ukuran edema hewan uji. Digunakan 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif diberikan karagenan 1% dan suspensi PGA 1%, kelompok kontrol positif diberikan karagenan 1% dan suspensi diklofenak 50mg/kgBB, dan kelompok uji diberikan f dengan dosis 100 mg/kgBB, dosis 200 mg/kgBB, dan dosis 300 mg/kgBB dari masing-masing ekstrak etanol yang diperoleh melalui orientasi serta karagenan 1%.

#### 3.2 Populasi dan Sampel

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

#### 3.3 Bahan Dan Alat yang Digunakan

##### 3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L) sebanyak 500 gr yang didapat dari Kecamatan Lemahabang , Kabupaten Karawang. Provinsi Jawa Barat.), 20 ekor tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*), etanol 70%, aquadest, PGA 1%, karagenan 1%, Natrium Diklofenak, API.

##### 3.3.2 Alat

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

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu variasi dosis 100 mg/kgBB, dosis 200 mg/kgBB, dan dosis 300 mg/kgBB dari etanol *Phyllanthus niruri* L.

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu pengujian penurunan ukuran inflamasi edema pada tikus putih jantan galur wistar.

#### 3.4.1 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
<b>Variabel Bebas</b>					
1.	Dosis ekstrak meniran	5 kelompok perlakuan dengan menggunakan obat Na diklofenak dan ekstrak men dengan 3 kelompok uji		Nominal	1. Kontrol negatif PGA 1% 2. Kontrol positif Na diklofenak 50mg KgBB 3. Kelompok uji 1 ekstrak etanol meniran 100 mg/BB secara peroral 4. Kelompok uji 2 ekstrak etanol meniran 200 mg/KgBB secara peroral

- 
5. Kelompok uji 3 ekstrak etanol meniran 300 mg/KgBB secara peroral
- 

Variabel Terikat					
2.	Pengukuran ukuran edema tikus	Mengukur edema tikus dengan menggunakan jangka sorong	Jangka sorong	Interval	1. Volume edema tikus

---

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Preparasi sampel

##### 1. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Biosistemika dan Molekul, Departemen Biologi FMIPA Universitas Padjajaran untuk mengetahui identitas dari tanaman *Phyllanthus niruri* L.

##### 2. Penyiapan Simplisia

Sampel tanaman daun *Phyllanthus niruri* Linn. diambil dari Kecamatan Lemahabang, Kabupaten Karawang. Tanaman tersebut kemudian disortasi basah, dibersihkan dengan air mengalir, dan dikeringkan selama 24 jam. Setelah itu, daun meniran diiris-iris dan dikeringkan kembali dengan cara dibiarkan terkena udara hingga kering, lalu disortasi kering. Simplisia kering dari daun meniran disimpan dalam wadah yang kedap udara.

### 3. Pembuatan Ekstrak

Ekstrak dibuat dengan metode maserasi melalui langkah-langkah berikut: Pertama, daun meniran kering sebanyak 500 gram dihancurkan menjadi serbuk menggunakan blender. Serbuk simplisia tersebut kemudian direndam dalam pelarut etanol 70% pada suhu kamar, dengan mengganti pelarut yang sama setiap 24 jam. Setelah proses maserasi selesai, serbuk yang telah direndam diperas dengan saringan puring untuk mendapatkan maseratnya. Selanjutnya, maserat tersebut dikonsentrasikan menggunakan alat rotary evaporator untuk menghasilkan ekstrak kental.

Rendemen yang diperoleh dihitung dan dicatat :

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

### 4. Skrining Fitokimia

#### a. Pemeriksaan Alkaloid

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

#### b. Pemeriksaan Flavonoid

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

#### c. Pemeriksaan 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. Pemeriksaan Steroid

Sebanyak 5 mL ekstrak ditambah dengan pereaksi Liebermann-Burchard yang terdiri dari 5 mL asam asetat anhidrat dan 5 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna merah yang berubah menjadi hijau, ungu, dan akhirnya biru menunjukkan hasil positif untuk steroid.

e. Pemeriksaan Tanin

Sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dalam 20 mL air panas dan ditambah 1 mL natrium klorida 10%. Campuran tersebut kemudian disaring, dan filtratnya dibagi ke dalam dua tabung. Tabung pertama ditetesi dengan 3 tetes gelatin, hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan. Tabung kedua ditetesi dengan 3 tetes larutan besi (III) klorida; perubahan warna menjadi biru hitam atau biru hijau menunjukkan adanya tanin.

f. 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.

g. Pembuatan Pulvis Gummi Arabic 1%

Supensi PGA dibuat dengan cara di timbang sebanyak 0,01 gram, kemudian dimasukan sedikit demi sedikit aquadest sebanyak 1mL. ke dalam mortal kemudian digerus sampai menjadi supensi.

h. Pembuatan suspensi diklofenak 50mg

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

### 3.5.2 Prosedur Pengujian Antiinflamasi

#### 1. Penyiapan Hewan Uji

Dalam penelitian ini, Tikus Putih Jantan Galur Wistar digunakan sebagai subjek uji, dengan berat sekitar 200–300 gram dan usia antara 2–3 bulan. Sebelumnya, tikus ditempatkan dalam kondisi yang sama dengan laboratorium selama 1 minggu agar mereka dapat beradaptasi dengan lingkungan dan mengurangi stres yang mungkin terjadi selama perjalanan, dengan tetap diberikan makanan dan minuman secara rutin sebelum diberikan perlakuan. Sebanyak 20 ekor tikus diacak secara randomisasi menjadi 5 kelompok perlakuan, dengan setiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Dalam satu kelompok, tikus ditempatkan dalam kandang yang sama.

#### 2. Pengujian Antiinflamasi

Hewan uji dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam namun tetap diberikan air mineral untuk minum, bertujuan untuk mengurangi dampak makanan terhadap penyerapan sampel yang diberikan. Setelah itu, masing-masing hewan uji ditimbang berat badannya. Semua hewan uji diukur ukuran edemanya sebelum diberikan induksi dengan karagenan 1% dalam 1ml Aqua Pro Injeksi. Hewan uji kemudian diinduksi dengan karagenan 1%. Penginduksian menggunakan metode winter dengan menginduksi pada edema bagian kanan tikus. Keuntungan metode Winter ini adalah mudah dan membutuhkan biaya yang sedikit. 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. 20 tikus galur wistar dibagi menjadi 5 kelompok, masing masing kelompok terdiri dari 4 tikus sebagai berikut:

Berdasarkan pembagian perlakuan adalah sebagai berikut:

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

Kelompok 2: Kelompok positif disuntikan penginduksi yaitu larutan

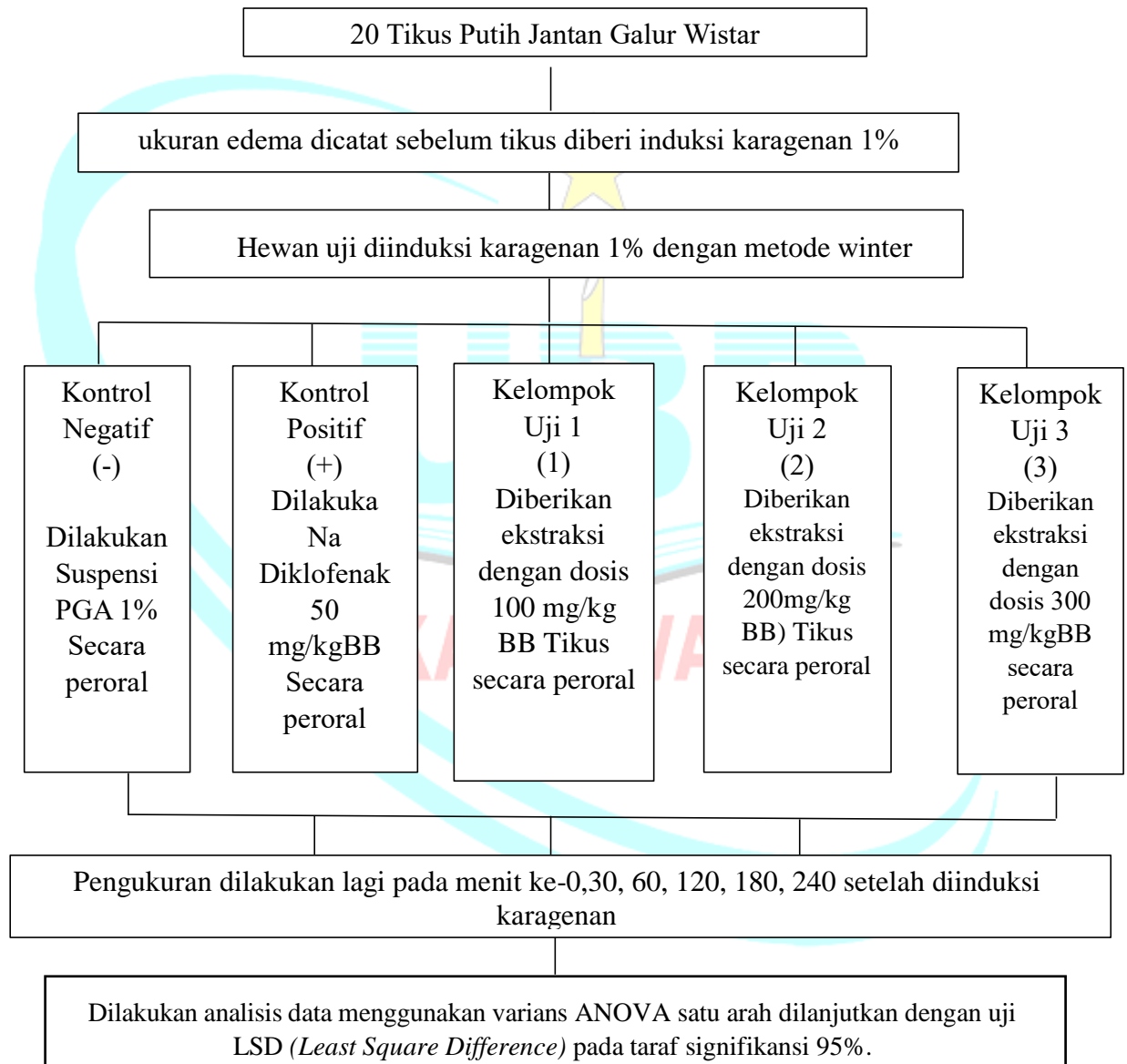
karagenan kemudian diberi larutan natrium diklofenak 50mg/kg BB  
Secara peroral.

Kelompok 3: Kelompok ekstrak etanol daun meniran dosis 100 mg/kg BB

Kelompok 4: Kelompok ekstrak etanol daun meniran dosis 200 mg/kg BB

Kelompok 5: Kelompok ekstrak etanol daun meniran dosis 300 mg/kg BB

### 3.6 Diagram Alir Penelitian



**Gambar 3.1** Diagram Alir Penelitian

