

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah dari tanaman bidara yang terdapat di daerah Surakarta.

##### **2. Sampel**

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) yang di peroleh didaerah Surakarta. Sampel yang diambil secara acak.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) dan efek analgetik yang ditunjukkan sebagai respon geliat oleh mencit.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama memuat identitas dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama yang telah identifikasi terdahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

Variabel bebas adalah variabel utama yang di rencanakan untuk di ubah-ubah, variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk..)

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria dalam penelitian ini. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah efek analgetik yang di tunjukan oleh geliat mencit jantan (*Mus musculus*).

Variabel terkendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak mudah ditiru oleh peneliti lain. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kondisi fisik hewan uji seperti berat badannya, lingkungan hidup, tempat tinggal, jenis kelamin.

### **3. Definisi operasioanl variabel utama**

1. Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk..) yang didapat didaerah Surakarta
2. Ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk..) merupakan sari daun yang di dapat dari proses maserasi. Ekstrak adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan etanol 96% selama 3-5hari.
3. Hewan uji mencit jantan (*Mus musculus*) adalah anggota Muridae (tikus-tikusan) yang berukuran keci, mudah di jumpai di rumah-rumah dikenal sebagai hewan pengganggu karena kebiasaan menggigit mebel, dan barang-barang kecil lainnya.
4. Metode geliat (*Writhing Tes*) merupakan respon geliat yang berupa tarikan kaki kebelakang, penarikan kembali abdomendan kejang tetani dengan membengkokan kepala dan kaki kebelakang.

5. Obat analgetik merupakan kelompok obat yang mengurangi atau menghilangkan rasa sakit dengan menghambat prostaglandin yang bertanggung jawab terhadap terjadinya rasa sakit, inflamasi atau demam.

### **C. Alat dan Bahan**

#### **1. Alat**

Alat yang digunakan adalah peralatan pembuatan simplisia yaitu penggilingan, blender, dan ayakan nomor 14. Peralatan pembuatan ekstrak yaitu botol reagen, corong dan kain flanel, peralatan untuk uji analgetik adalah batang pengaduk, spuit injeksi dengan jarum oral, beaker glas, gelas ukur, wadah pengamatan geliat, stop watch, timbangan untuk hewan uji dan timbangan analitik.

#### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bidara yang di ambil di daerah Surakarta. Bahan kimia yang digunakan adalah asam asetat dan aquadest.

Hewan uji yang di gunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan dengan berat badan antara 18-20 gram dan berumur 2-3 bulan. Hewan uji di peroleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi.

### **D. Jalannya Penelitian**

#### **1. Pengambilan sampel**

Sampel daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk..) diperoleh di daerah Surakarta daun yang digunakan adalah daun yang tidak rusak dan bebas jamur.

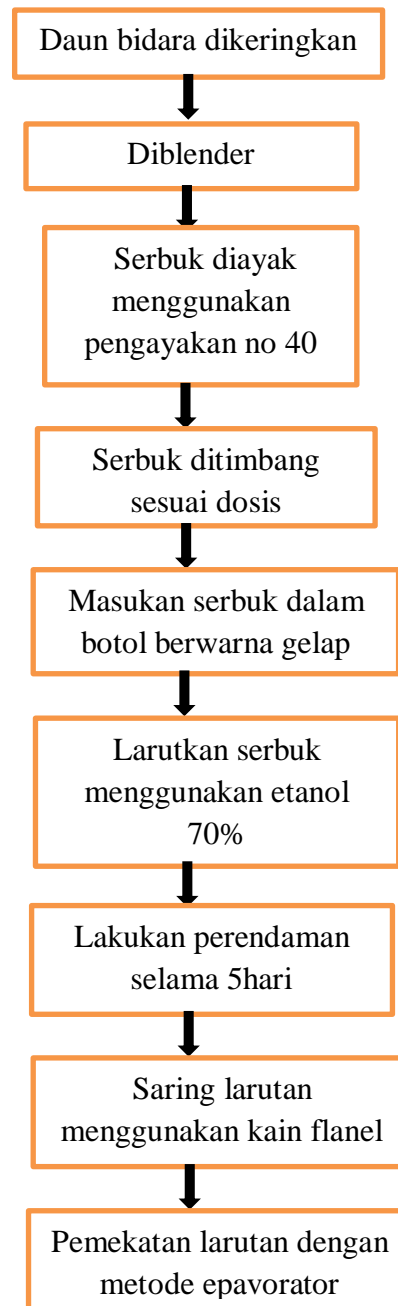
## 2. Pengolahan sampel

Daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk..) yang di ambil dari perumahan di Surakarta pada bulan desember 2018. Daun bidara yang telah di ambil adalah daun yang masih segar, berwarna hijau, kemudian daun bidara dicuci bersih dengan air mengalir, dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung dan di tutup dengan kain yang tipis untuk menghindari dari kotoran maupun serangga. Daun bidara yang sudah kering dicuci bersih kemudian dihaluskan dengan penggilingan sampel. Serbuk yang dihasilkan kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 hingga didapatkan serbuk halus.

## 3. Ekstraksi sampel

Setelah didapatkan serbuk kemudian serbuk di timbang 150gr, selanjutnya serbuk di masukan kedalam botol reagen berwarna hitam larutkan serbuk dengan menambahkan etanol 70%. Botol maserasi disimpan pada dalam suhu ruangan, dihindari dari sinar matahari langsung dan digojog secara konstan setiap 3kali sehari, perendaman dilakukan selama 5 hari, Setelah 5 hari hasil rendemen di saring dengan menggunakan kain flanel dan kertas saring, kemudian ampas ditambah etanol 70% kemudian disaring dengan kain flanel dan kertas saring. Ekstrak cair dipekatkan dengan *ratary evaporator* pada suhu 40°C sampai didapatkan ekstrak kental, kemudian dihitung (%) rendemen, dengan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$



Gambar 2. Skema kerja pembuatan ekstrak daun bidara.

#### 4. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun bidara

**4.1 Flavonoid.** Ekstrak daun bidara ditimbang sebanyak 5 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas, ditambah 0,1 gram serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol: HCL (1:1) dan pelarut amil

alkohol, kemudian dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Reaksi hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1995).

**4.2 Tanin.** Sejumlah ekstrak ditambah 10 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit, setelah dingin disaring. Sebanyak 5 ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi larutan besi (III) klorida 1 %. Jika hasil positif maka akan terbentuk warna hijau kehitaman (Franswort 1996; Noer & Pratiwi 2016).

**4.3 Saponin.** Ekstrak dari daun bidara ditimbang sebanyak 5 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan air panas sebanyak 10 ml, didinginkan lalu dikocok kuat dan ditambahkan 2 tetes HCL, jika terdapat buih menunjukkan positif saponin (Maligan 2014)

## **5. Pembuatan larutan sediaan uji**

**5.1 Larutan asam asetat** dibuat dengan konsentrasi 0,2% (V/V) yang berarti 0,2 ml larutan asam asetat dengan konsentrasi 100% diambil menggunakan pipet volume, kemudian di larutkan dalam aquadest steril hingga volume 100 ml. Pemberian asam asetat di lakukan secara intra peritoneal.

**5.2 Pembuatan suspensi ibuprofen.** Larutan ibuprofen dibuat dengan menimbang serbuk asam mefenamat sebanyak 200mg dan ditambahkan sedikit demi sedikit aquadest sambil diaduk hingga volume 100 ml.

## **6. Pengujian efek analgetik**

Mencit yang telah di puasakan selama 18 jam dikelompokan secara acak menjadi 5 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Setelah hewan

uji di beri obat sesuai kelompoknya, 30 menit kemudian hewan uji di beri larutan asam asetat 0,2% secara intra peritoneal. Hitung jumlah kumulatif geliat mencit selang waktu 10 menit selama 1 jam.

Kelompok uji sebagai berikut:

1. Kelompok I, yaitu kontrol negatif yang diberikan aquadest secara oral dan asam asetat 0,2% secara intra peritoneal.
2. Kelompok II, yaitu kontrol positif yang diberikan Ibuprofen secara oral dan asam asetat 0,2% secara intra peritoneal.
3. Kelompok III, di induksi dengan asam asetat 0,2% kemudian diberikan 100mg/KgBB mencit ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk..)
4. Kelompok IV, di induksi dengan asam asetat 0,2% kemudian diberikan 150mg/KgBB mencit ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk..)
5. Kelompok V, di induksi dengan asam asetat 0,2% kemudian diberikan 200mg/KgBB mencit ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk..)

### **E. Analisis Hasil**

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan software SPSS dengan uji *Analysis of Variance (ANOVA)*.