

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Objek Penelitian

Objek pada penelitian ini adalah penentuan efek aktivitas antiinflamasi ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) pada mencit putih jantan (*Mus musculus* L.). Dalam hal ini pengekstrakan bahan penelitian menggunakan metode maserasi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Politeknik Harapan Bersama Kota Tegal.

3.2. Sampel dan Teknik Sampling

Sampel dalam penelitian ini adalah rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.). Tanaman didapatkan dari Kelurahan Randugunting, Kecamatan Tegal Timur, Kota Tegal. Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) diperoleh dengan teknik sampel random acak (*Simple Random Sampling*). Penarikan sampel cara ini memberikan kesempatan yang sama bagi setiap anggota populasi untuk menjadi sampel penelitian agar mewakili populasi.

3.3. Variabel Penelitian

3.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas (Variabel independen) adalah variable yang menjadi sebab timbulnya atau perubahannya variabel terikat atau variabel dependen (Abdullah et al., 2021). Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu metode pengeringan rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) dengan menggunakan sinar matahari untuk dijadikan

serbuk, konsentrasi dan jenis pelarut yang digunakan pada proses maserasi, dan lama waktu pengadukan.

3.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat (Variabel dependen) adalah variabel yang muncul diakibatkan karena adanya variabel bebas atau variabel independen (Abdullah et al., 2021). Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu aktivitas uji antiinflamasi hasil dari ekstrak rimpang kencur (*Kaempferiae galanga L.*).

3.3.3. Variabel terkontrol

Variabel terkontrol merupakan variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan, sehingga tidak dapat mempengaruhi variabel yang diteliti (Abdullah et al., 2021). Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu berat badan mencit putih jantan, dan metode ekstraksi secara maserasi.

3.4. Teknik Pengumpulan Data

3.4.1. Cara Pengumpulan Data

1. Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah kualitatif dan kuantitatif.
 - a. Data kualitatif merupakan data informasi yang berbentuk kalimat verbal bukan berupa simbol angka atau bilangan (Abdullah et al., 2021). Dalam penelitian ini data kualitatifnya antara lain uji flavonoid, uji saponin, bebas etanol uji mikroskopis, dan uji

makroskopis.

- b. Data kuantitatif merupakan data informasi yang berupa simbol angka atau bilangan (Abdullah et al., 2021). Penelitian ini data kuantitatifnya antara lain penurunan inflamasi mencit putih jantan, perhitungan dosis.
2. Metode pengumpulan data menggunakan metode eksperimen di Laboratorium Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal.

3.4.2. Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini mencakup peralatan yang ada pada laboratorium farmasi Politeknik Harapan Bersama. Diantaranya adalah botol gelap maserasi (bejana maserasi), blender (*miyako*), corong kaca (*herma*), rotary evaporator (*scilogex*), erlenmeyer (*pyrex*), cawan porselen, gelas ukur, beaker glass, timbangan analitik (*sojikyoo*), mortir dan stemper (*onemed*), batang pengaduk (*xuebei*), waterbath (*one*), tabung reaksi (*pyrex*), bunsen dan pembakar spirtus, sendok tanduk, pipet tetes, objek glass, mikroskop, kandang hewan percobaan, spuit injeksi 1,0 ml, sonde oral, Jangka sorong digital (*rohs*), timbangan digital hewan uji (*sojikyoo*).

2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain, rimpang kencur, alkohol 70%, etanol 96% karagenan 1%, natrium diklofenak 0,1%, CMC Na 0,5%, NaCl 0,9%, H₂SO₄, CH₃COOH, HCl 2N, aquadest, dan hewan uji farmakologi yang digunakan adalah 15 ekor mencit putih jantan.

3.4.3. Prosedur Kerja

Dalam penelitian uji aktivitas antiinflamasi ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) dengan metode menggunakan alat uji jangka sorong digital, melalui beberapa tahapan terlebih dahulu diantaranya adalah:

1. Pengumpulan Sampel

Rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) digunakan dalam penelitian yang diambil di Kelurahan Randugunting, Kecamatan Tegal Timur, Kota Tegal. Pengambilan sampel dilakukan berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan oleh peneliti untuk memperoleh sampel yang mewakili karakteristik populasi tersebut.

2. Pembuatan Serbuk

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya bahan asing seperti tanah, kerikil dan rumput, batang daun, akar yang telah rusak, serta kotoran lain yang harus dibuang (Fatmawati, 2019). Rimpang kencur dikumpulkan dalam satu wadah, setelah itu dicuci hingga bersih

dengan air mengalir. Proses sortasi basah dapat dilihat pada skema dibawah ini:

a. Pengeringan

Agar simplisia tersebut awet dan dapat disimpan dalam jangka waktu lama, maka perlu dilakukan pengeringan. Selain itu, dengan menurunkan kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik, kualitas simplisia tidak akan menurun. Jamur dan mikroba lainnya dapat tumbuh pada simplisia jika masih ada air yang tersisa di dalamnya setelah batas waktu tertentu. Simplisia mempunyai kadar air kurang dari 10%.

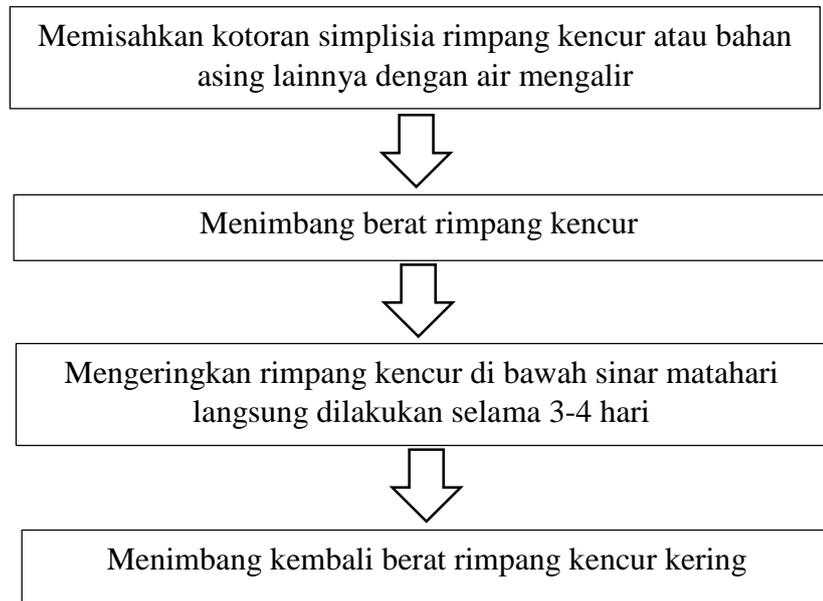
Penentuan susut pengeringan berfungsi untuk menentukan batas atas jumlah bahan kimia yang hilang selama prosedur pengeringan (Isnain, 2017). Susut pengeringan dapat dihitung menggunakan rumus berikut ini.

$$\begin{array}{l} \% \text{ Bobot kering terhadap bobot basah} \\ x 100\% = \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \end{array}$$

Gambar 3.1. Rumus susut pengeringan

Sumber : Isnain, (2017)

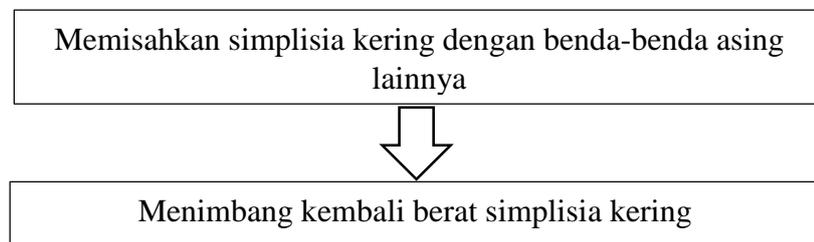
Berikut skema proses pengeringan simplisia rimpang kencur:



Gambar 3.2. Skema proses pengeringan rimpang kencur

b. Sortasi Kering

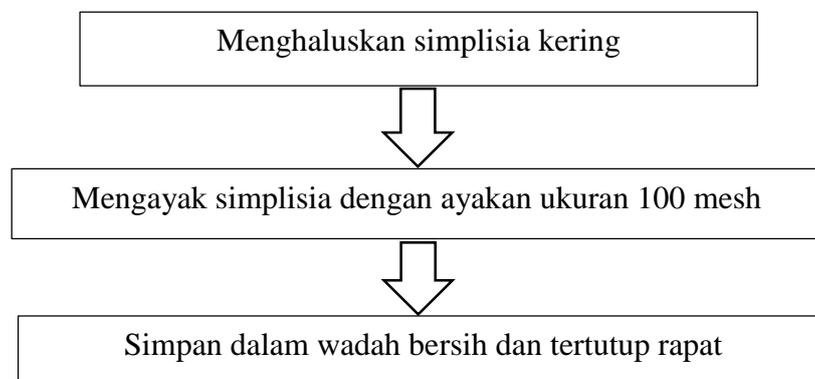
Tujuan dari sortasi kering adalah menghilangkan benda-benda asing seperti potongan tanaman yang tidak diinginkan dan kontaminan lainnya yang masih terdapat pada simplisia. Prosedure ini diterapkan pada bahan yang rusak atau bahan bermutu rendah (Atika, 2021).



Gambar 3.3. Skema sortasi kering

3. Pembuatan serbuk rimpang kencur

Rimpang kencur yang sudah dikeringkan dan murni dikumpulkan, digiling menjadi serbuk dengan blender selama 2 menit, kemudian diayak melalui ukuran ayakan 100 mesh hingga menghasilkan serbuk halus yang disebut simplisia. Serbuk simplisia yang sudah jadi disimpan dalam wadah bersih, kering dan tertutup rapat (Jusnita, 2019).

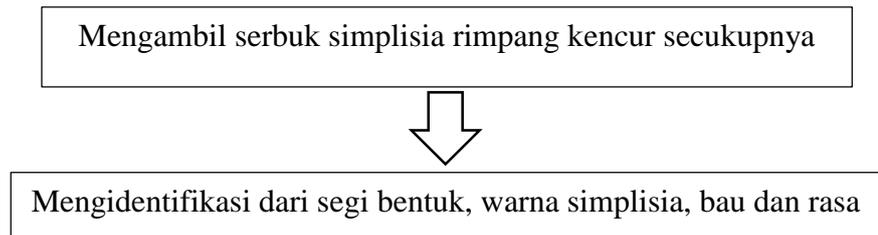


Gambar 3.4. Skema pembuatan serbuk rimpang kencur

4. Identifikasi Serbuk Simplisia

a. Uji Makroskopis

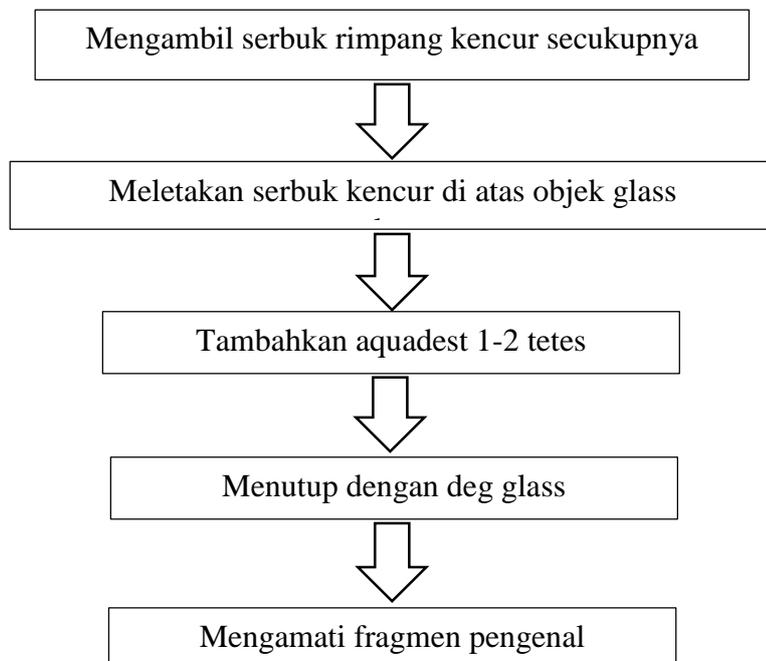
Pengujian makroskopis adalah pemeriksaan berbagai organ organisme hidup dengan mata telanjang atau menggunakan kaca pembesar. Ciri-ciri permukaan seperti warna, ukuran, bentuk, dan tekstur menentukan identitas makroskopis. Untuk mengetahui sifat fisik bahan yang diperiksa berdasarkan bentuk, warna, bau, dan rasa, dilakukan uji makroskopis. (Jusnita, 2019).



Gambar 3.5. Skema uji makroskopis

b. Uji Mikroskopis

Mikroskop digunakan untuk identifikasi karena tujuan pengujian ini adalah untuk menunjukkan bahwa sampel sebenarnya adalah sampel dari rimpang kencur. Simplisia rimpang kencur yang telah dihaluskan diletakan pada objek glass kemudian ditetesi dengan 1-2 tetes air. Setelah itu, ditutup dengan deg glass, dan diamati menggunakan mikroskop (Tridharma, 2019). Berikut skema uji mikroskopis dilihat pada gambar 3.6.

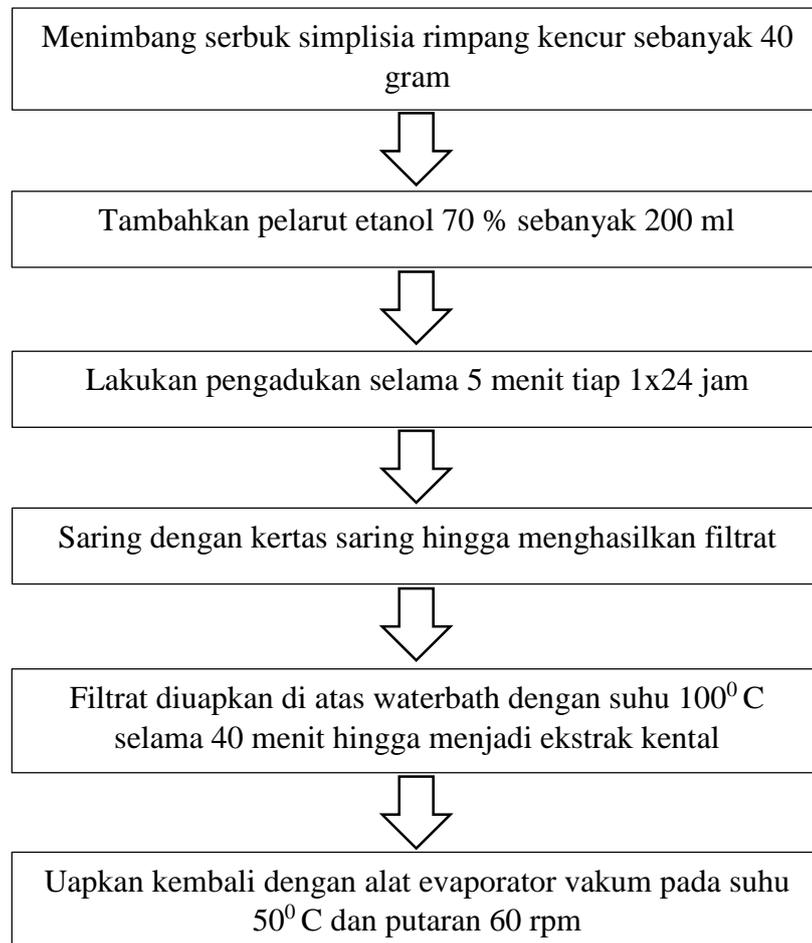


Gambar 3. 6. Skema uji mikroskopis

5. Pembuatan Ekstrak (Maserasi)

Rimpang kencur yang masih segar 1 kg dibersihkan, cuci dengan air mengalir serta dilakukan perajangan menggunakan pisau dengan ketebalan 1 mm. Setelah itu dikeringkan dengan menggunakan sinar matahari langsung ditutup dengan kain hitam selama 3-4 hari. Setelah kering, haluskan selama dua menit dalam blender. kemudian diayak dengan ayakan simplisia berukuran 100 mesh (Anief, 2007). Ekstraksi rimpang kencur dilakukan dengan metode maserasi perbandingan 1:5 dengan simplisia sebanyak 40 gram dan pelarut etanol 70% sebanyak 200 ml dan dilakukan pengadukan selama 5 menit setiap 1x24 jam, kemudian disaring dengan kertas saring (Handayani et al., 2018). Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan di atas waterbath dengan suhu 100⁰ C selama 40 menit hingga ekstrak mengental (Mutiar et al., 2019). Selain itu, penguapan kembali dilakukan dengan menggunakan evaporator vakum berputar selama lima jam pada suhu 50⁰C dan putaran 60 rpm. Selanjutnya ekstrak etanol tersebut dilakukan Uji antiinflamsi.

Berikut skema pembuatan ekstrak rimpang kencur pada gambar 3.7.



Gambar 3.7. Skema pembuatan ekstraksi rimpang kencur

6. Perhitungan Rendemen

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dihitung rendemennya menggunakan rumus :

$$Rendemen = \frac{\text{Berat Ekstrak Kental (y)}}{\text{Berat Sampel (x)}} \times 100\%$$

Gambar 3. 8. Rumus Rendemen

Sumber : Fauzi, (2021)

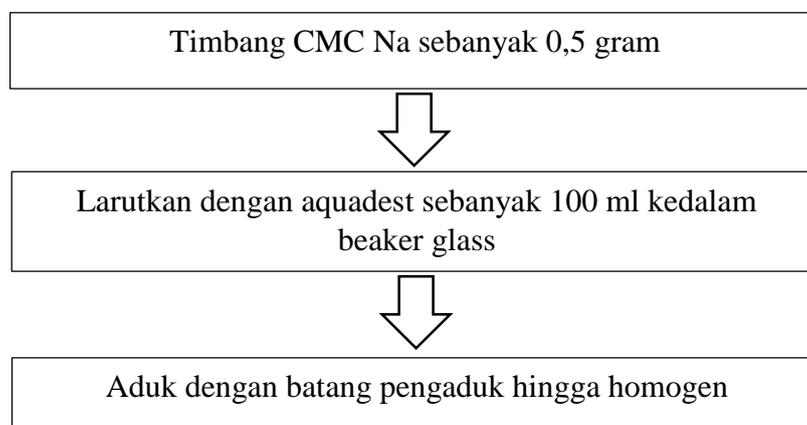
7. Persiapan hewan uji

Dalam penelitian ini hewan uji yang digunakan adalah mencit yang diadaptasikan pada lingkungan laboratorium, hewan uji masing-masing diperlakukan dalam kondisi yang serupa dengan pemberian makan dan minum. Sebelum diberikan perlakuan, hewan uji dipuaskan selama 8 jam namun tetap diberi air minum.

8. Pembuatan Suspensi CMC Na 0,5 %

Timbang 0,5 g CMC Na, larutkan pada 100 ml air suling yang telah dipanaskan didalam beaker glass, aduk dengan batang pengaduk hingga tercampur rata. Kontrol negatif digunakan suspensi CMC Na 0,5% (Cahyaningsih et al., 2018).

Berikut skema pembuatan suspensi CMC Na 0,5 %:

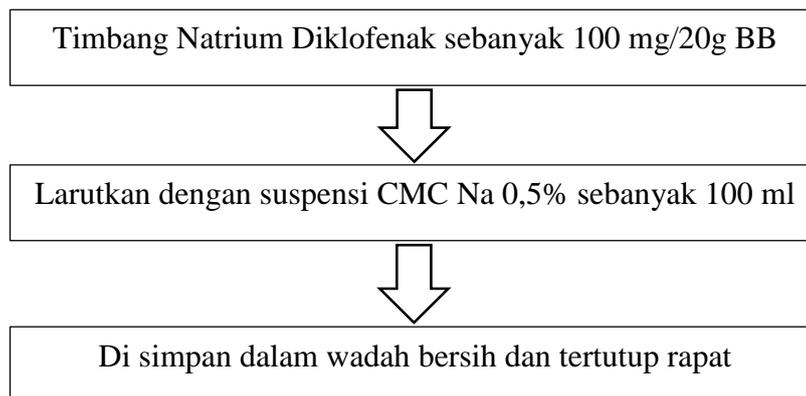


Gambar 3.9. Skema pembuatan suspensi CMC Na 0,5 %

9. Pembuatan Suspensi Natrium Diklofenak

Dosis natrium diklofenak untuk mencit dalam penelitian ini adalah 0,13 mg/20g BB yang dilarutkan dengan suspensi CMC Na 0,5%. Hal ini dicapai dengan menggunakan faktor konversi sebesar

0,0026 untuk mengubah dosis natrium diklofenak manusia sebesar 50 mg menjadi dosis ke mencit dengan berat 20 gram (Drs. Priyanto, Apt, 2008 : 15) Sebagai kontrol positif digunakan suspensi natrium diklofenak (Cahyaningsih, 2018).



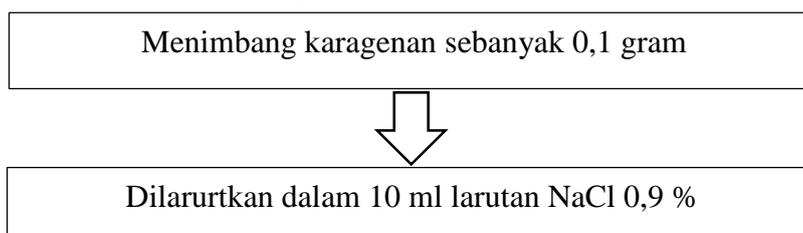
Gambar 3.10. Skema pembuatan suspensi natrium diklofenak

10. Pembuatan Suspensi Ekstrak Rimpang Kencur

Tiga dosis ekstrak etanol rimpang kencur 50 mg/kg BB, 150 mg/kg BB, dan 250 mg/kg BB disiapkan dan dilarutkan dalam larutan CMC Na 0,5% (Cahyaningsih et al., 2018). Suspensi ekstrak rimpang kencur akan diberikan kepada masing-masing mencit.

11. Pembuatan Karagenan

Larutan Karagenan 1 % dibuat dengan cara menimbang 0,1 gr karagenan, selanjutnya larutkan dengan 10 ml larutan fisiologis NaCl 0,9 % (Cahyaningsih et al., 2018).

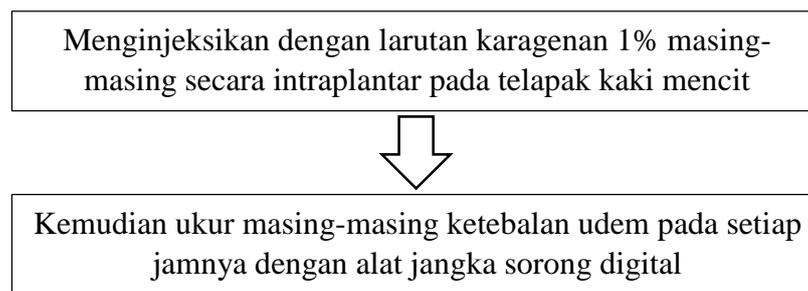


Gambar 3.11. Skema pembuatan larutan karagenan 1 %

12. Pembuatan Udem

Udem dibuat dengan cara menginjeksikan dengan larutan karagenan 1% sebanyak 0,1 ml secara intraplantar pada telapak kaki mencit. Kaliper digital digunakan untuk mengukur ketebalan edema. Lima pengukuran edema dilakukan sebelum pengobatan dan lima jam setelah karagenan diberikan. Selanjutnya, ketebalan edema telapak kaki mencit dinilai masing-masing saat jam pertama sampai jam kelima (Neman et al., 2022).

Berikut skema pembuatan udem pada telapak kaki mencit:



Gambar 3.12. Skema pembuatan udem telapak kaki mencit

3.5. Analisis Data

Analisis data secara deskriptif dengan melihat persen daya hambatan inflamasi. Persentase Penghambatan Inflamasi (Neman et al., 2022).

$$\% \text{ Daya Hambat} = \frac{(Ct - Co)_{Kontrol} - (Ct - Co)_{Perlakuan}}{(Ct - Co)_{Kontrol}} \times 100\%$$

Gambar 3.13. Rumus persentase penghambatan inflamasi

Sumber : Neman et al., (2022)

Keterangan :

Ct = Tebal telapak kaki pada jam ke-n setelah induksi karagenan

Co = Tebal telapak kaki sebelum induksi karagenan (normal)