

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1. Jenis penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium

III.2. Lokasi penelitian

Adapun penelitian ini akan dilaksanakan di laboratorium Farmakologi dan lab Bahan Alam UNIMUDA Sorong.

III.3. Hewan uji

Hewan uji percobaan adalah mencit (*mus musculus*) sebanyak 15 ekor yang masing-masing memiliki berat antara 20 hingga 30 gram. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit.

III.4. Klasifikasi variabel

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan dengan ekstrak kulit batang kayu akway yang dibuat dengan etanol 96% yang diberikan pada mencit dengan berbagai dosis.

2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek analgesik pada mencit

3. Variabel Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah:

1. Mencit: sehat, umur 2-3 bulan, berat badan 20-30 gram
2. Kulit akway : tempat dan waktu pengambilan kulit batang kayu akway (*Drymis sp*)

III.5. Defenisi operasional

- a. Uji efek analgesik kulit batang kayu akway (*Drymis Sp*) adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui adanya efek dari ekstrak etanol kulit batang kayu akway (*Drymis Sp*) dalam mengurangi nyeri pada hewan uji dengan melihat persen proteksi.

- b. Ekstrak etanol kulit batang kayu akway (*Drymis Sp*) adalah ekstrak kental yang diperoleh dari hasil ekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, dengan, seri konsentrasi 25 mg/KgBB, 50 mg/KgBB dan 100 mg/kgBB
- c. Hot Plate merupakan alat yang digunakan untuk menguji efek analgesic dari ekstrak etanol kulit batang kayu akway (*Drymis Sp*). Sebagai sampel yang digunakan pada hewan uji dengan mengamati daya respon dari mencit sebagai hewan uji.
- d. Respon mencit berupa lompatan dan atau jilatan merupakan reaksi nyeri yang ditimbulkan oleh rangsangan panas

III.6. Metode Penelitian

Hewan uji ditempatkan pada *Hot Plate* yang telah dipanaskan sampai suhu tertentu sebagai bagian dari alat *Hot Plate* penelitian. Hewan merespons dengan melompat, menjilati, dan menggoyangkan kaki mereka—perilaku yang disebut sebagai "metode hot plate". Tes ini dapat digunakan untuk menentukan apakah obat analgesik yang diberikan efektif (Mishra dkk, 2011).

Untuk menentukan efektivitas metode ini, peneliti mengukur seberapa sering hewan uji dalam kelompok hewan tertentu melompat, menjilat kaki, dan menggoyangkan kaki dalam kaitannya dengan seberapa sering hewan uji di setiap kelompok diberi standar—obat yang telah diuji. terbukti memiliki efek analgesik—dan plasebo (kontrol). Kapasitas suatu bahan kimia yang memiliki efek analgesik dalam meningkatkan ambang nyeri ditunjukkan dengan berkurangnya frekuensi gerakan melompat, menjilat kaki, dan gemetar pada kaki hewan uji (Cahyaningsih dkk, 2019).

III.7. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan antara lain: cawan porselin (*Iwaki Pirex*), eksikator (*Normax*), gelas kimia (*Iwaki Pirex*), gelas ukur (*Iwaki Pirex*), kandang hewan, kanula (*New Blunt Cannula*), kertas saring, labu ukur (*Iwaki Pirex*), lumpang (*RRC*), mangkok maserasi, pipet tetes (*Pudak*), rotavapor

(*Scilogex*), stopwatch, timbangan analitik (*Ohaus*), wadah maserasi (*toples*) dan *Hot plate*.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Aluminium Foil (Klinpak), Kulit kayu akway, Etanol 96%, Paracetamol, Mencit (*Mus musculus*), Na CMC 1%, Aquadest

III.8. Prosedur penelitian

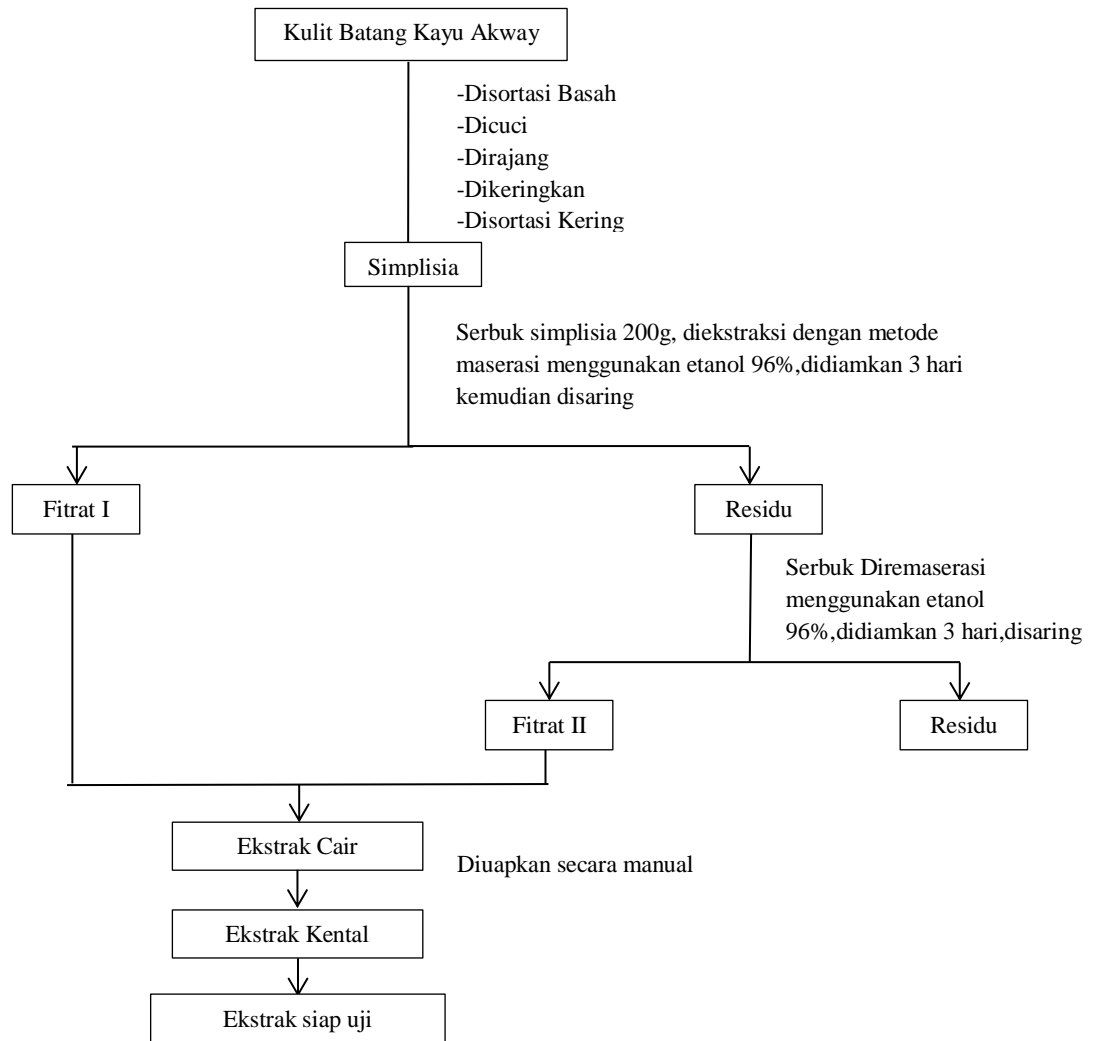
III.8.1. Pembuatan serbuk simplisia kulit kayu akway (*Drymis Sp*)

Setelah dikumpulkan, sampel dipotong dadu, dibersihkan dengan air mengalir, dan dibiarkan kering. Setelah itu digiling hingga menjadi bubuk, dimasukkan ke dalam ayakan 45 mesh, dan ditimbang.

III.8.2. Pembuatan ekstrak etanol kulit kayu akway (*Drymis Sp*)

Sebanyak 200 gram serbuk simplisia ditimbang kemudian diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 1 L selama 3 hari sambil diaduk setiap satu kali 24 jam. Setelah itu, menyaring dan mengumpulkan maserat untuk dilakukan penguapan pelarut menggunakan rotary vacuum evaporate dengan suhu 50°C sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak etanol sebanyak 15 mg dipartisi menggunakan corong pisah dengan pelarut yang etil asetat. Ekstrak etanol dilarutkan dengan menggunakan etanol:air (1:1) sebanyak 120 ml lalu dimasukkan ke dalam corong pisah dan dipartisi etil asetat sebanyak 20 ml dengan pengulangan 3 kali sehingga total pelarut yang digunakan sebanyak 60 ml. Fraksi yang didapat dipisahkan menggunakan rotary vacuum evaporator serta disempurnakan pengeringannya dengan menggunakan penangas air sehingga didapatkan Fraksi kental fraksi etil asetat. (Rini D, 2020)

III.8.3 Kerangka Ekstrak



III.8.4. Pembuatan Natrium CMC 1%

Ditimbang Natrium CMC 1 gram, kemudian dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam 50 mL aquades (70°C) sambil diaduk hingga membentuk larutan koloidal dan tambahkan hingga volumenya 100 ml.

III.8.5. Penentuan dosis Paracetamol

Dosis dewasa penggunaan Paracetamol untuk mengurangi nyeri ringan hingga sedang adalah 500 mg. Faktor konversi dari manusia (70 kg) ke mencit (20 gram) yaitu 0,0026. Dosis Paracetamol yang dapat diberikan pada mencit:

= dosis untuk manusia x faktor konversi

= 500 mg x 0,0026 = 1,3 mg/ 20 g BB mencit

Dosis Kg/BB mencit adalah : $\frac{1000 \times 1,3}{20 \text{gBB}} = 65 \text{mg/kgBB}$

III.8.6 Dosis ekstrak etanol kulit batang kayu akway (*Drymis sp*)

Berdasarkan hasil pengujian efek tonikum kulit kayu akway pada mencit didapatkan dosis efektif 50 mg/KgBB dan 10 mg/KgBB (Guyton 1990).

Dosis untuk Mencit :

Dosis I Efektif = 25mg/ KgBB

Dosis II Efektif = 50mg/KgBB

Dosis III Efektif = 100mg/KgBB

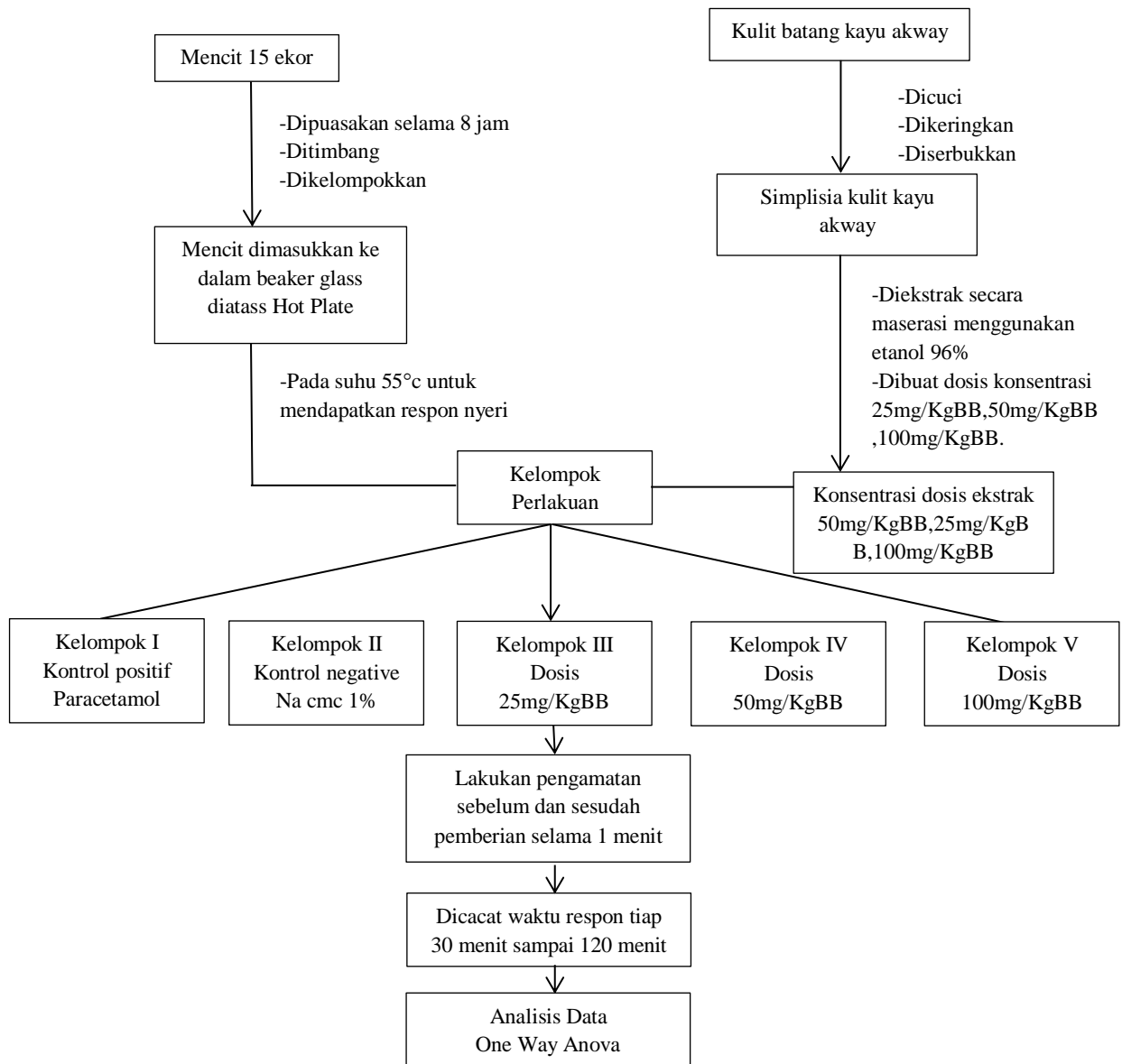
III.8.7 Pembuatan suspensi ekstrak etanol kulit batang kayu akway

Ditimbang 25 mg, 50 mg dan 100 mg ekstrak etanol kulit batang kayu akway (*Drymis Sp*) lalu ditambahkan 10 ml larutan suspensi Na cmc lalu diaduk hingga homogen.

III.9. Pengujian efek analgesik

- a. Setelah beradaptasi, mencit dipuasakan selama delapan jam sambil diberi air hingga pengujian.
- b. Masing-masing mencit ditimbang, dan dikelompokkan secara acak
- c. Setelah hot plate mencapai suhu 50°C, letakkan gelas kimia di atasnya. Mencit dimasukkan ke dalam gelas kimia setelah suhunya mencapai 50°C.
- d. Reaksi mencit yaitu menjilat kaki atau melompat terlihat saat dimasukkan ke dalam gelas kimia. Selama satu menit, observasi dilakukan.
- e. Setiap kelompok masing-masing diberikan secara oral dengan dosis dan volume pemberian yang ditentukan.
- f. Pengamatan dilakukan saat sebelum pemberian bahan uji dan setelah pemberian bahan uji diamati selama 1 menit
- g. Diamati dan dihitung respon nyeri dari hewan uji berupa lompatan, jilatan kaki sebagai respon nyeri tiap 30 menit sampai 120 menit .

III.10. Kerangka Kerja



III.11. Analisis Data

Data dari hasil penelitian kemudian dikumpulkan dan dibuat dalam bentuk tabel dan menggunakan uji statistic *One Way Anova*. Sebelum dilakukan uji *One way anova* terlebih dahulu dilakukan uji normalitas untuk mengetahui data berdistribusi normal yang merupakan syarat yang harus dipenuhi sebelum melakukan uji *One Way Anova*. Menurut (Ghozali 2006). Uji normalitas bertujuan untuk menguji apakah dalam model statistika, variabel pengganggu atau residual memiliki distribusi normal. Kriteria pengujiannya yaitu berdistribusi normal apabila nilai sig > 0,05 dan tidak terdistribusi normal apabila nilai sig < 0,05 (Ilhamzen, 2013).

Setelah dilakukan uji normalitas selanjutnya dilakukan uji Homogenitas menurut (Hakim, 2002) uji homogenitas dilakukan untuk menguji apakah dua (atau lebih) populasi adalah homogen (sama) sehubungan dengan satu distribusi sifat tertentu. Uji *One Way Anova* dapat dilakukan jika data memiliki varians yang sama. Varians data dapat diuji Levene Test. Bila nilai sig > 0,05 maka data diasumsikan memiliki varians yang sama, Bila nilai sig < 0,05 maka data diasumsikan memiliki varians yang tidak sama (Ilhamzen, 2013).

Setelah uji homogenitas didapatkan hasil yang signifikan maka dilakukan pengujian hipotesis. Pengujian hipotesis dilakukan dengan alat uji statistik yaitu analisis varians. Menurut (Hakim, 2002) Analisis varian merupakan uji hipotesis mean (Rata-rata) lebih dari dua populasi. Analisis varians yang digunakan adalah *One Way Anova*. Menurut (Ilhamzen, 2013) Uji *One Way Anova* adalah jenis uji statistik parametrik yang bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata antara lebih dari dua grup sampel. Hipotesis yang digunakan adalah :

H₀ = Ketiga kelompok memiliki nilai rata-rata tes yang sama

H₁ = Ketiga kelompok memiliki nilai rata-rata tes yang berbeda

Jika nilai sig > 0,05 maka H₀ diterima

Jika nilai sig < 0,05 maka H₀ ditolak

Setelah didapatkan nilai signifikan dari hasil uji *One Way Anova* dari pengujian ekstrak kulit batang kayu akway (*Drymis Sp*) pada mencit (*Mus*

Musculus) Maka dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui signifikan dari rata-rata perlakuan kelompok.