

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2024-Juni 2024 di Laboratorium Farmakologi Farmasi Prodi Farmasi S1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat refluks, *rotary evaporator* (biobase), oven (biobase), *water bath* (biobase), timbangan analitik, Chamber, erlenmeyer (pyrex), spatula (pyrex), pengaduk kaca (pyrex), kertas saring, *stopwatch*, gelas beaker (pyrex), gelas ukur (pyrex), labu takar (pyrex), pipet, spuit injeksi 1 mL dan 5 mL, dan sonde oral berujung bulat.

##### **3.2.2 Bahan**

Ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.), ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*), aquadest (Cv. Kimia Jaya Labora), etanol 70% (Cv. Nurul Jaya Mdecallabsains), Na-CMC 1%, asam mefenamat 500 mg (*Indofarma*), HCl 2N, aquades, pereaksi mayer, FeCl<sub>3</sub> 1%, magnesium, pereaksi wegner, dan dragendrof.

##### **3.2.3 Hewan Uji**

Hewan uji yang digunakan yaitu mencit jantan putih dengan galur *swiss webster* yang berumur 1-4 bulan dengan bobot 20-40 g yang telah dilakukan penyesuaian lingkungan (Mutiarahmi et al., 2021).

### **3.3 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan metode eksperimental dengan menggunakan variabel sebagai berikut:

#### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas merupakan variabel yang berpengaruh terhadap variabel lain. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dan ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) yang di ekstraksi dengan pelarut etanol 70%.

#### **3.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat merupakan variabel yang diukur untuk mengetahui besar pengaruh dari variabel lain. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu jumlah geliat pada mencit jantan putih.

#### **3.3.3 Variabel Terkontrol**

Variabel terkendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel terikat. Pada penelitian ini variabel terkendalinya yaitu :

- a) Hewan uji mencit
- b) Waktu Pemejanaan pada hewan uji

### **3.4 Prosedur Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan serangkaian kegiatan yang dilaksanakan oleh peneliti untuk mencapai tujuan dari penelitian ini. Adapun prosedur pada penelitian ini meliputi :

#### **3.4.1. Pengambilan sampel**

Pengambilan sampel kulit bawang merah di dapatkan dari produsen bawang goreng di Desa Adiwerna, Kecamatan Adiwerna

Kabupaten Tegal dan untuk bawang yang digunakan yaitu bawang brebes, tanaman kayu manis di peroleh dari Wisata Kesehatan Jamu Di Kalibakung.

### **3.4.2. Determinasi**

Determinasi bertujuan untuk memastikan keberadaan dan kebenaran dari tanaman yang akan digunakan pada penelitian (Klau & Hesturini, 2021). Determinasi dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Farmasi S1 Universitas Bhamada Slawi.

### **3.4.3. Pengolahan sampel**

#### **3.4.3.1 Pencucian**

Pencucian kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) sebanyak 2.000 gram dan kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) 1.000 gram menggunakan air mengalir yang ditujukan agar bebas dari partikel asing yang terdapat pada tanaman (Kiko et al., 2023).

#### **3.4.3.2 Perajangan**

Perajangan pada penelitian ini bertujuan untuk mempermudah pada saat proses pengeringan agar cepat mengering. Perajangan dilakukan dengan menggunakan pisau yang berbahan *stainless* (Kiko et al., 2023)

#### **3.4.3.3 Pengeringan**

Proses pengeringan dilakukan dengan cara dioven dengan suhu 50° agar kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dan

kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) kering (Kiko et al., 2023).

#### 3.4.3.4 Penghalusan

Proses penghalusan setelah sampel kering maka selanjutnya dilakukan proses penghalusan dengan menggunakan blender agar sampel yang di dapat bisa halus secara merata (Kiko et al., 2023).

#### 3.4.4. Pembuatan ekstrak etanol kulit bawang merah (*Allium cepa* L.)

Sebanyak 200 gram serbuk kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) di masukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 2000 mL dengan perbandingan (1:10) etanol 70% hingga terendam sempurna kemudian masukkan ke dalam bejana lalu diamkan selama 1 jam setelah itu di aduk lagi selama 15 menit dan di diamkan selama 1 jam proses di ulangi hingga 5 kali, kemudian di diamkan dalam 3 hari. Selanjutnya di lakukan penyaringan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang di peroleh dikumpulkan kemudian diuapkan atau dikeringkan dengan menggunakan *water bath* sampai di peroleh ekstrak kental (Setiani et al., 2017). Kemudian dihitung rendemen etanol ekstrak kulit bawang merah (*Allium Cepa* L.) dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\%$$

### 3.4.5. Pembuatan ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*)

Sebanyak 300 gram kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dimasukkan ke dalam bejana lalu ditambahkan dengan etanol 70% hingga terendam sempurna dengan perbandingan 1 : 3. Kemudian diamkan selama 1 jam setelah itu di aduk lagi selama 15 menit dan di diamkan selama 1 jam proses di ulangi hingga 5 kali, kemudian di diamkan dalam 3 hari. Selanjutnya di lakukan penyaringan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang di peroleh dikumpulkan kemudian diuapkan atau dikeringkan dengan menggunakan *water bath* sampai di peroleh ekstrak kental (Setiani et al., 2017). Kemudian dilakukan perhitungan rendemen etanol ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\%$$

### 1.4.6 Uji Standarisasi Non Spesifik

#### 1.4.6.1 Organoleptis

Uji organoleptis bertujuan untuk mengetahui suatu sampel dari fisik seperti bentuk, bau, warna, dan (Novitasari et al., 2021)

#### 1.4.6.2 Susut Pengerinan

Sebanyak 1 g bahan dipanaskan dengan 105<sup>0</sup>C selama 30 menit. Kemudian dikeringkan dan ditimbang. Syarat yang

baik untuk susut pengeringan yaitu >10%, hitung presentasinya sesuai dengan rumus (Wijanarko, 2020) :

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{\text{massa awal} - \text{massa akhir}}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

#### 1.4.6.3 Kadar Air

Sebanyak 1 g sampel ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam alat *Moisture meter*. Syarat uji kadar air yang baik yaitu tidak boleh 5-30% (Depkes RI, 1995).

### 1.4.7 Uji Standarisasi Spesifik

#### 1.4.7.1 Organoleptis

Uji organoleptis ditujukan untuk mengetahui bentuk, warna, dan bau dari suatu sampel (Novitasari et al., 2021).

#### 1.4.7.2 Kadar Larut Etanol

Ditimbang 5 gram ekstrak kemudian direndam dengan etanol, dilakukan pengadukkan sesekali dalam 6 jam kemudian dilakukan perendaman selama 18 jam dan di saring. Sebanyak 20 mL filtrat di evaporasi pada suhu 105°C hingga diperoleh bobot tetap. Syarat untuk uji kadar larut etanol yaitu  $\geq 16.0\%$  dan  $>4.0$  (Maryam et al., 2020). Selanjutnya di hitung kadarnya dengan rumus:

$$\text{Kadar larut etanol (\%)} = \frac{\text{massa sari (g)}}{\text{massa sampel (g)}} \times \frac{100}{20} \times 100\%$$

## 1.4.8 Skrining Fitokimia

### 1.4.8.1 Identifikasi Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan cara masukkan 1 gram ekstrak ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan etanol, lalu ditambahkan dengan serbuk magnesium serta diteteskan HCl pekat, hasil positif jika menunjukkan warna merah (Prasetiyo, 2023).

### 1.4.8.2 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan cara masukkan 1 gram ekstrak, kemudian ditambahkan 10 mL aquades panas, dikocok kurang lebih 10 detik, akan menimbulkan busa lalu dibiarkan selama 10 menit, jika busa tetap ada maka hasil dinyatakan positif (Prasetiyo, 2023).

### 1.4.8.3 Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan 1 gram ekstrak kemudian tambahkan 1 mL HCl 2%, lalu tambahkan 2-3 tetes pereaksi mayer, dragendroff hasil dinyatakan positif apabila terdapat endapan berwarna kuning hingga jingga pada pereaksi dragendroff sedangkan pada pereaksi mayer hasil positif jika endapan berwarna putih (Prasetiyo, 2023).

### 1.4.8.4 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan 1 gram ekstrak tambahkan aquadest sampai tidak berwarna kemudian ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  10% pada larutan ekstrak. Hasil positif

jika terbentuk larutan berwarna biru tua atau hijau kehitaman (Prasetiyo, 2023).

### 1.5 Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu menggunakan mencit jantan putih yang berumur 2-3 bulan dan bobot 20-40 g dengan jumlah 25 ekor. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok yang dipilih secara acak dengan masing-masing kelompok terdapat 5 mencit. Sebelum dilakukan pengujian efek analgesik mencit diadaptasikan terlebih dahulu dengan lingkungan selama 1 minggu untuk penyesuaian lingkungan. Semua hewan uji tetap diberikan makanan, dan minuman. Pembagian kelompok mencit menggunakan rumus federer yaitu sebagai berikut :

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

Keterangan :

t = Perlakuan

n = Jumlah sampel

### 3.6 Penetapan dosis

#### 3.6.1. Penetapan dosis Ekstrak kulit bawang merah

Pada penelitian ini dosis yang digunakan yaitu 1 mg/kg BB untuk melihat apakah pada konsentrasi 1 mg/kg BB dapat efektif untuk menangani nyeri (Analgesik) (Taufiq, 2020).



### 3.6.2. Penetapan dosis ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*)

Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 3 mg/Kg BB mencit untuk mengetahui apakah konsentrasi tersebut dapat efektif untuk menangani nyeri (Analgesik) (Hafid & Farid, 2023).

### 3.6.3. Penetapan Dosis N-.CMC 1%

Dosis Na-CMC yang digunakan yaitu 1% dengan cara memasukkan Na-CMC 1 gram sedikit demi sedikit dalam 50 mL air suling panas sambil diaduk dengan batang pengaduk hingga terbentuk suspensi. Cukupkan volume dengan air hingga 100 mL (Taufiq, 2020).

$$\frac{1}{100} \times 100 \text{ mL}$$

= 1 gram → dalam 100 mL air suling

### 3.6.4. Penetapan Dosis Asam Mefenamat

Dosis asam mefenamat yang digunakan yaitu 500 mg dengan menimbang 10 tablet asam mefenamat kemudian dihitung bobot rata-rata,. Gerus di dalam mortir kemudian ditimbang dengan hasil jumlah rata-rata lalu di suspensikan dengan Na-CMC 1% sedikit demi sedikit lalu masukkan dalam labu ukur cukupkan hingga volume 10 mL (Taufiq, 2020).

### 3.6.5. Penetapan Dosis Asam Asetat

Dosis asam asetat yang digunakan yaitu 1% dibuat dari larutan asam asetat galcial 100% v/v (Hafid & Farid, 2023).

### 3.7 Uji Aktivitas Analgesik

Metode yang digunakan pada uji efek analgesik yaitu menggunakan induksi rangsangan kimia/*writhing test*. Hewan uji yang akan digunakan adalah mencit jantan putih (*Mus Muscullus*) sebanyak 25 mencit dengan dibagi menjadi 5 kelompok yang dibagi secara acak.

**Tebal 3 1 Kelompok Perlakuan**

Kelompok Uji	Perlakuan	Jumlah Mencit	Keterangan
I	Na-CMC 1%	5	Kontrol negatif
II	Asam Mefenamat	5	Kontrol positif
III	Ekstrak etanol kulit bawang merah 1 mg/BB mencit	5	perlakuan ekstrak
IV	Ekstrak etanol 70% kayu manis 3mg/BB mencit	5	Perlakuan ekstrak
V	Kombinasi ekstrak etanol 70% kulit bawang merah 1mg/BB mencit dan kayu manis 3mg/BB mencit	5	Perlakuan ekstrak kombinasi

Kelompok hewan uji I, II, III, IV, dan V yang telah diberikan perlakuan kemudian di diamkan selama 30 menit, kemudian diberikan rangsangan nyeri menggunakan asam asetat 1% secara intraperitoneal yang ditujukan agar obat yang disuntikan dalam rongga peritonium akan cepat diabsorpsi dan reaksi obat akan cepat terlihat. Kemudian diliat respon geliat pada mencit yang ditandai dengan pergerakan yang berupa kontraksi perut atau terjadi tarikan pada perut hingga bagian perut menyentuh dasar kaki tempat berpijak, kedua kaki ditarik kebelakang, badan meliuk. Di amati

dengan selang waktu 10 menit dalam 1 jam dengan menghitung daya analgesik dari masing-masing kelompok yang dinyatakan dalam nilai protektif menggunakan rumus:

$$\% \text{ Proteksi} = 100 - \frac{P}{K} \times 100\%$$

Keterangan :

P = Jumlah geliat mencit pada kelompok perlakuan

K = Jumlah geliat pada kelompok kontrol negatif (Prambudi, 2020).

Selanjutnya dilakukan perhitungan % efektifitas analgesik dengan

menggunakan rumus:

$$\% \text{ daya analgesik} = \frac{P}{K} \times 100\%$$

Keterangan:

P : Jumlah proteksi kelompok perlakuan

K : Jumlah komulatif kelompok kontrol positif

### 3.8 Analisis Data

Pada penelitian uji efek analgesik dari ekstrak kulit bawang merah (*Allium Cepa* L.) dan ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap mencit jantan putih ini menggunakan Program *Statistical Package For The Social Sciences* (SPSS). Dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Saphiro-Wilk* dilanjutkan dengan uji homogenitas kemudian uji ANOVA dan yang terakhir uji *post hoc LSD*.