

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

1. Metode penelitian

a. Uji Fitokimia

Tujuan dari bagian ini adalah untuk memberikan gambaran tentang kelas senyawa yang ada dalam sampel. Madu dan propolis *Trigona* spp. disaring fitokimia untuk kehadiran alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Kelas metabolit sekunder ini diakui menawarkan banyak manfaat biologis, termasuk sifat antioksidan. Analisis fitokimia madu dan propolis *Trigona* spp, termasuk evaluasi flavonoid (Simaremare, 2014).

b. Uji Flavonoid

Untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid, 0,1 g ekstrak dimasukkan ke dalam cawan, kemudian ditambahkan 10 mL etanol 96%, diaduk, dan disaring. Sebanyak 2 mL filtrat ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 3 tetes HCl 2 N. Jika terbentuk warna kuning, jingga, merah, atau biru, itu menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid.

c. Uji Alkaloid

Untuk mengetahui keberadaan senyawa alkaloid, diambil fraksi etil asetat sebanyak 5 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL HCL pekat dan 1 mL larutan dragendorf. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga atau merah, itu menunjukkan bahwa fraksi mengandung senyawa alkaloid.

d. Uji Tanin

Untuk mengetahui keberadaan senyawa tanin, diambil fraksi etil asetat sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan pb 1%.

Jika terdapat endapan kuning pada tabung, itu menunjukkan adanya senyawa tanin.

e. Uji Saponin

Untuk mengetahui keberadaan senyawa saponin, diambil fraksi etil asetat sebanyak 1 mL, ditambahkan 2 mL aquades, kemudian direbus selama 10 menit. Campuran tersebut disaring menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan aquades hingga 10 mL dan dikocok selama 2 menit. Jika campuran tersebut menghasilkan buih, itu menunjukkan adanya senyawa saponin

f. Ekstraksi propolis

Ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 90% terhadap propolis lebah kelulut (*Heterotrigona itama*). Pada tahap ini, propolis lebah dan pelarut dimasukkan ke dalam wadah, kemudian didiamkan selama 48 jam. Setelah itu propolis dengan pelarut dipisahkan menggunakan kertas saring. Lalu ekstrak ditimbang dan siap digunakan untuk pengujian.

2. Kombinasi madu Propolis Lebah Kelulut:

Tabel 3.1 Kombinasi Madu dan propolis lebah kelulut

Kombinasi	Madu	Propolis
Formula I	100	0
Formula II	75	25
Formula III	50	50
Formula IV	0	100

a. Karagenan

Dalam proses inflamasi akut, karagenan digunakan sebagai iritan untuk mencari obat-obat antiinflamasi yang efektif. Karagenan dipilih karena mampu menstimulasi pelepasan prostaglandin setelah diberikan pada hewan uji.

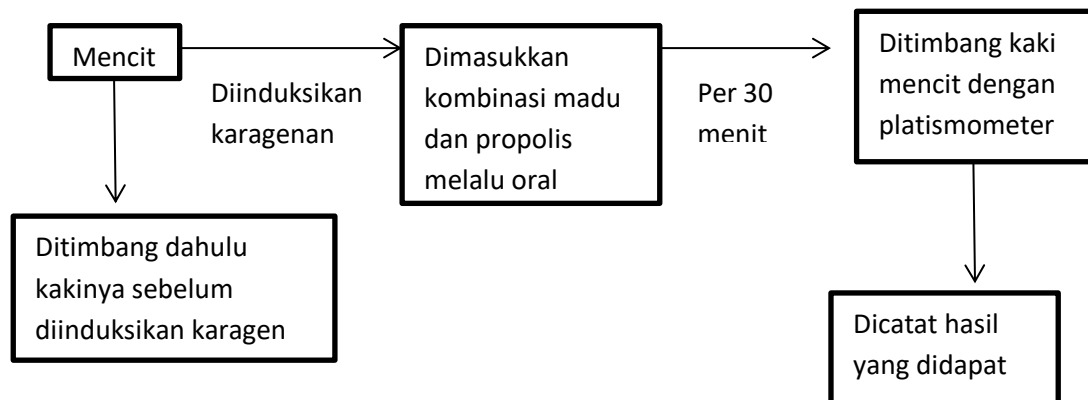
Penelitian mengenai obat-obat antiinflamasi yang efektif memfokuskan pada kemampuan obat untuk menghambat sintesis prostaglandin. Karagenan memiliki tiga fase pembentukan edema, yaitu pelepasan histamin dan serotonin pada 90 menit pertama, pelepasan bradikinin pada 1,5-2,5 jam kemudian, dan pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi. Pada fase terakhir, edema akan cepat berkembang dan mencapai volume maksimal sekitar 5 jam setelah induksi. (Winter *et al.*, 1962: 111).

Ada tiga fase produksi edema yang diinduksi karagenin. Histamin dan serotonin dilepaskan pada fase pertama, yang berlangsung hingga 90 menit. 1,5 sampai 2,5 jam setelah induksi, fase kedua adalah pelepasan bradikinin. Pada fase ketiga, pelepasan prostaglandin dimulai tiga jam setelah induksi, setelah itu edema meningkat dengan cepat dan mencapai volume maksimal sekitar lima jam kemudian (Morris, 2003: 115)

b. Uji Antiinflamasi

Penelitian untuk mengevaluasi kemampuan anti-inflamasi dilakukan pada 16 ekor mencit yang dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok. Hewan-hewan yang digunakan dalam uji coba diberi tanda pada ekor mereka dengan menggunakan spidol, kemudian ketebalan kaki mereka diukur.

Pemberian induksi 0,1 mL karagenin 1% untuk induksi dilakukan pada kaki belakang kiri mencit. Ketebalan kaki mencit kemudian diukur dengan pletismometer, sebagai ketebalan awal (Co). Setelah ini, pengukuran dilakukan setiap 30 menit selama 360 menit berikutnya. Dari data yang diperoleh ditentukan perbedaan ketebalan telapak kaki sebelum dan sesudah induksi karagenan 1%.



Bagan 3.1 Alur Penelitian

B. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah Madu dan propolis lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) yang telah diekstrak menggunakan pelarut etanol 90%.

2. Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah mencit (*mus musculus*) yang diinduksikan karagenin hingga terjadinya edema lalu disuntikkan dengan kombinasi yang telah di formulasikan.

C. Tempat dan Waktu Penelitian

Adapun tempat dan waktu penelitian sebagai berikut :

1. Tempat Penelitian

Adapun penelitian ini dilaksanakan dari bulan juli sampai dengan desember, yang bertepatan di laboratorium Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur, Samarinda, Kalimantan Timur.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini berlangsung dalam kurun waktu selama 6 bulan, dimulai bulan juli sampai dengan desember.

D. Pengumpulan Data dan Intrumen Penelitian

Instrumen Adapun rancangan pengumpulan data dan instrumen penelitian adalah sebagai berikut:

1. Pengumpulan Data

Pada tahap ini dilakukan penggalian informasi melalui jurnal terdahulu yang telah dipublikasi melalui media seperti *google scholar*, dan *pubmed*.

2. Tahap Pengumpulan Sampel

Tahap pengumpulan sampel dilakukan ke peternak lebah lempake untuk pengambilan bahan madu dan propolis lebah kelulut (*Heterotrigona Itama*).

3. Tahap Penelitian

Dilakukan penelitian terhadap Madu dan propolis lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) yang telah diekstrak dan telah dibuat menjadi kombinasi yang paling efektif untuk efek antiinflamasi dan uji antiinflamasi.

E. Teknik Analisis Data

Pengolahan data diuraikan secara deskriptif. Data yang diolah meliputi data pendukung seperti aktifitas kombinasi madu dan propolis lebah kelulut (*Heterotrigona itama*) pada mencit yang telah diinduksikan karagenan lalu diberi beberapa kombinasi madu dan propolis, setelah itu di lihat aktivitas antiinflamasinya setiap 30 menit sekali hingga 120 menit.

F. Alur jalannya penelitian

Alur jalannya penelitian dalam penelitian ini mengacu pada tahap-tahap sebagai berikut:

Pada fase ini, peneliti mengidentifikasi masalah yang akan diteliti, melakukan penelitian pendahuluan, merumuskan masalah, menetapkan tujuan dan manfaat, mencari landasan teori, merumuskan hipotesis, menentukan metodologi penelitian, dan mencari sumber yang dapat mendukung jalannya penelitian.

G. Jadwal Penelitian

Tabel 3.2 Jadwal Penelitian

NO	JENIS KEGIATAN	BULAN					
		JUN	JUL	AGU	SEP	OKT	NOV
1	Persiapan (Pengajuan Proposal Penelitian)						
2	Pengumpulan Bahan						
3	Ekstraksi						
4	Uji Fitokimia						
5	Uji Antiinflamasi						
6	Pengolahan Data						
7	Penyusunan Skripsi						