

BAB IV

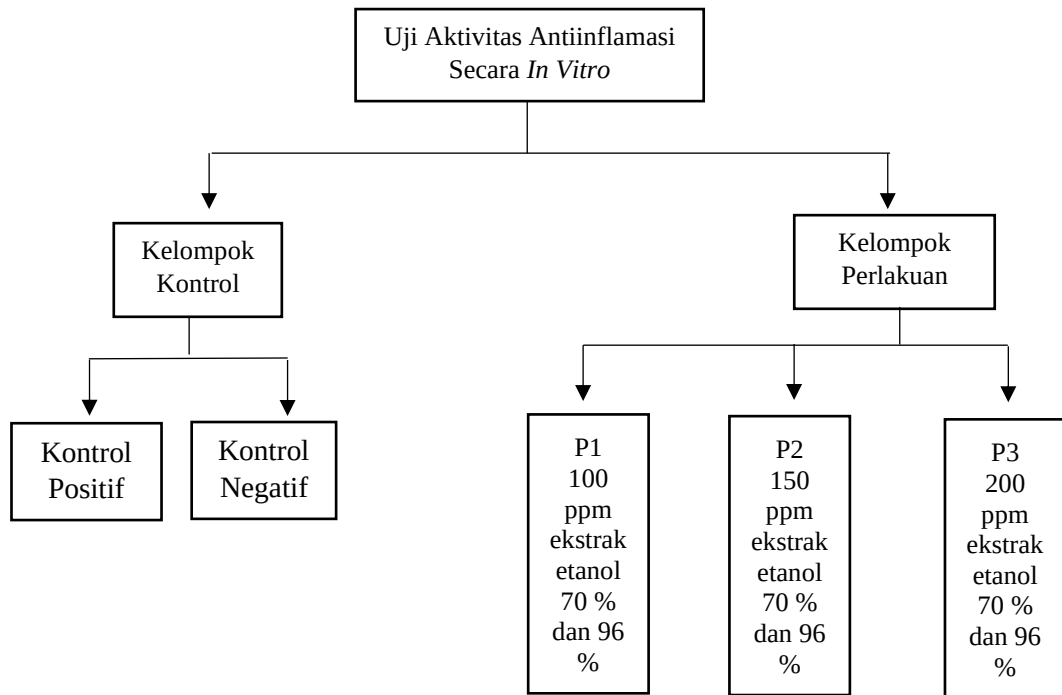
METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan desain eksperimental menggunakan rancangan *Post-Test Only Control Group Design*. Pendekatan kuantitatif dipilih karena penelitian ini berfokus pada pengukuran variabel secara objektif, terstruktur, dan berbasis angka, sehingga memungkinkan analisis statistik yang dapat menguji hipotesis secara tepat (Yurisma *et al.*, 2022). Selain itu, pada penelitian *in vitro*, pemberian *pre-test* berpotensi memengaruhi stabilitas sistem uji dan hasil pengamatan. Oleh karena itu, pengukuran yang dilakukan setelah perlakuan dinilai lebih tepat untuk menggambarkan efek antiinflamasi secara aktual (Sastroasmoro & Ismael, 2016). Subjek penelitian ini dibagi secara acak (random) ke dalam dua kelompok, yaitu:

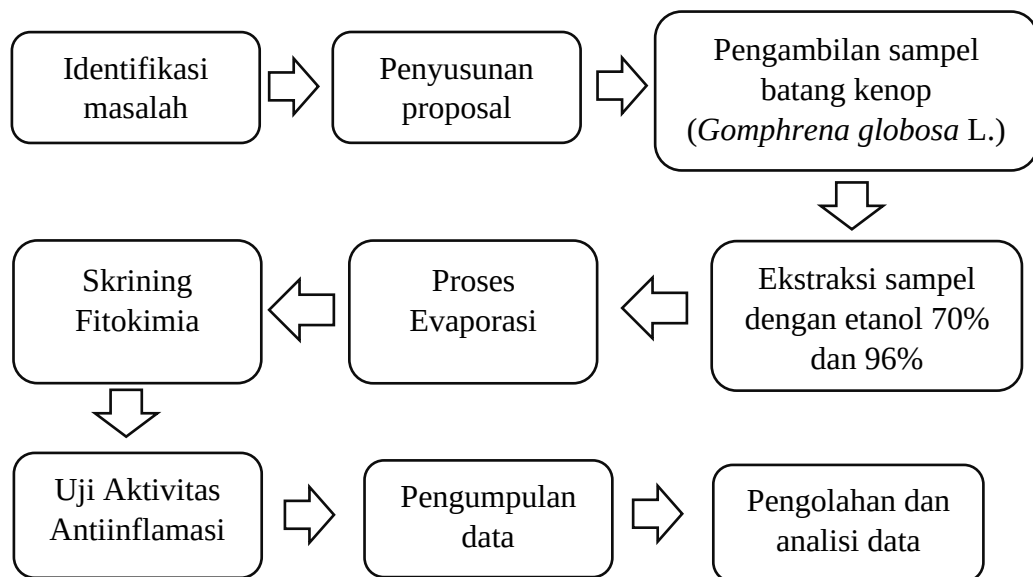
1. Kelompok perlakuan, yang menerima intervensi berupa pemberian ekstrak/larutan uji.
2. Kelompok kontrol, yang tidak menerima perlakuan atau diberikan pembanding standar.

Desain ini digunakan untuk meminimalkan bias akibat pengukuran awal, sehingga hasil akhir lebih mencerminkan pengaruh asli dari perlakuan yang diberikan.



Gambar 4 Kelompok Pengujian Antiinflamasi

B. Alur Penelitian



Gambar 5 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Sampel batang kenop (*Gomphrena globosa* L.) di peroleh di Desa Munggu, Kecamatan Mengwi, Kabupaten Badung. Pengeringan batang kenop dilaksanakan di Pusat Pengolahan Pasca Panen Tanaman Obat Provinsi Bali di Baturiti, Tabanan. Evaporasi sampel dilakukan di Laboratorium Universitas Udayana. Serta pemeriksaan fitokimia dan uji aktivitas antiinflamasi dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2026 hingga bulan April 2026, mulai dari tahapan penyusunan proposal hingga penyusunan skripsi.

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu batang kenop (*Gomphrena globosa* L.) yang diperoleh dari Desa Munggu, Kecamatan Mengwi, Badung Bali.

2. Sampel

a. Unit analisis

Unit analisis dari penelitian ini yaitu skrining fitokimia dan uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol 70% dan 96% batang tanaman kenop (*Gomphrena globosa* L.) secara *in vitro*.

b. Besar sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 18 sampel, terdiri dari dua jenis perlakuan yaitu ekstrak etanol 70% dan ekstrak etanol 96%. Setiap

perlakuan diberikan tiga tingkat konsentrasi yaitu 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm. Konsentrasi dalam rentang 100 ppm sampai 200 ppm membantu mengidentifikasi area di absorbansi yang menunjukkan perubahan respons paling tajam, yang penting untuk estimasi %inhibisi dan interpretasi biologis dari aktivitas antiinflamasi (Suryani *et al.*, 2025).

c. Teknik pengambilan sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini merupakan batang tanaman kenop (*Gomphrena globosa* L.) yang diperoleh di Munggu, Kecamatan Mengwi, Kabupaten Badung. Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Purposive Sampling*. Metode ini menggunakan kriteria yang telah ditentukan oleh peneliti.

- 1) Kriteria inklusi dari batang tanaman kenop (*Gomphrena globosa* L.) yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang tanaman kenop yang sehat dan segar, tidak cacat fisik, batang yang digunakan menyeluruh, dan berumur 2 – 3 bulan, batang yang diambil $\pm$ 3 cm diatas akar.



Gambar 6 Sampel Batang Tanaman Kenop (*Gomphrena globosa* L.)

- 2) Kriteria eksklusi, yaitu batang yang terserang hama atau penyakit, batang yang sudah layu, membusuk, atau terkontaminasi pestisida, dan batang dari tanaman yang ditanam dari lokasi berbeda yang lingkungan tanahnya berbeda drastis.

Sehingga, sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan sampel yang memenuhi kriteria inklusi.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : oven listrik, blender, labu ukur 10 mL, labu ukur 100 mL, labu ukur 250 mL, tabung reaksi (pyrex) ukuran 16 x 100 mm, tabung centrifuge 50 mL, satu set alat rotary vacuum evaporator, pipet volume 1 mL, pipet volume 10 mL, pipet volume 100 mL, pipet tetes, incubator, spektrofotometer UV – Vis, centrifuge, kompor listrik, neraca analitik.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu batang tanaman kenop, aquadest, pelarut etanol 70%, etanol 96%, kloroform, H₂SO₄, pereaksi mayer, pereaksi dragendorff, bubuk Mg, asam sulfat pekat, HCl 2N, buffer posfat pH 7,4, larutan ferri klorida 0,1%, NaCl, natrium diklofenak, suspensi 10%, asam asetat.

3. Prosedur Kerja

a. Pra – analitik

Bahan yang telah dikumpulkan dibersihkan terlebih dahulu, kemudian ditimbang dan dipotong menjadi bagian – bagian kecil. Selanjutnya, bahan ditimbang kembali dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan atau menggunakan oven pada suhu sekitar 40°C - 50°C. Setelah benar-benar kering, bahan ditimbang dan dihaluskan. Serbuk kering yang diperoleh kemudian dibagi menjadi dua bagian dan direndam menggunakan pelarut etanol 70% dan etanol 96% sebelum proses maserasi. Maserasi dilakukan selama 3 hari pada suhu ruang dalam kondisi terlindung dari cahaya dan diaduk sesekali, setelah 3 hari maserat yang

dihasilkan disaring, lalu lakukan remaserasi dengan menambahkan pelarut setengah dari maserasi awal. Di hari ketujuh maserat yang dihasilkan disaring dan diuapkan menggunakan evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak tersebut selanjutnya ditimbang dan dihitung nilai rendemennya menggunakan rumus yang ditetapkan.

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

b. Analitik

1) Pembuatan larutan konsentration bertingkat

Pembuatan larutan konsentration bertingkat dilakukan dengan metode pengenceran dari larutan stok menggunakan rumus pengenceran:

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

di mana M_1 adalah konsentrasi larutan stok, V_1 volume larutan stok yang diambil, M_2 konsentrasi yang diinginkan, dan V_2 volume akhir larutan. Metode ini lazim digunakan dalam uji bioaktivitas ekstrak tanaman karena menjamin ketepatan dan reproduktibilitas konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm (Sukandaryah *et al.*, 2025).

a) Pembuatan larutan konsentration 100 ppm

Pipet 1,0 mL larutan stok ekstrak 1000 ppm ke dalam labu ukur, tambahkan pelarut hingga mencapai tanda batas 10 mL, tutup labu ukur dan homogenkan dengan membalik perlahan beberapa kali, beri label “Ekstrak Batang Kenop 100 ppm”.

b) Pembuatan larutan konsentrasasi 150 ppm

Pipet 1,5 mL larutan stok ekstrak 1000 ppm ke dalam labu ukur, tambahkan pelarut hingga mencapai tanda batas 10 mL, tutup labu ukur dan homogenkan dengan membalik perlahan beberapa kali, beri label “Ekstrak Batang Kenop 150 ppm”.

c) Pembuatan larutan konsentrasasi 200 ppm

Pipet 2,0 mL larutan stok ekstrak 1000 ppm ke dalam labu ukur, tambahkan pelarut hingga mencapai tanda batas 10 mL, tutup labu ukur dan homogenkan dengan membalik perlahan beberapa kali, beri label “Ekstrak Batang Kenop 200 ppm”.

2) Skrining Fitokimia

a) Uji alkaloid

1) Mayer

2 mL ekstrak tambahkan ke tabung reaksi, lalu tambahkan beberapa tetes HCl 2N dan tambahkan 7 tetes reagen mayer. Hasil positif menunjukkan terbentuknya endapan putih kekuningan yang mengidentifikasikan adanya senyawa alkaloid mayer pada sampel (Shaikh *et al.*, 2020).

2) Wagner

2 mL ekstrak tambahkan ke tabung reaksi, lalu tambahkan beberapa tetes HCl 2N dan tambahkan 7 tetes reagen wagner. Hasil positif menunjukkan terbentuknya endapan coklat kemerahan yang mengidentifikasikan adanya senyawa alkaloid wagner pada sampel (Shaikh *et al.*, 2020).

3) Dragendorf

2 mL ekstrak tambahkan ke tabung reaksi, lalu tambahkan beberapa tetes HCl 2N dan tambahkan 7 tetes reagen dargendorf. Hasil positif menunjukkan terbentuknya endapan merah jingga yang mengidentifikasi adanya senyawa alkaloid pada sampel (Ratih dan Habibah, 2024).

b) Uji flavonoid

2 mL ekstrak etanol batang kenop masukkan ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan serbuk Mg seujung spatula, kemudian tambahkan 0,4 mL amil alkohol, dan tambahkan 4 mL alkohol, kemudian dikocok. Hasil positif jika terbentuk warna merah, kuning atau jingga mengidentifikasi adanya senyawa flavonoid pada sampel (Ratih dan Habibah, 2024).

c) Uji tanin

10 tetes ekstrak ditetaskan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 2 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil Positif ditandai dengan perubahan warna menjadi biru, yang mengidentifikasi adanya senyawa tanin pada sampel (Syamsul *et al.*, 2020).

d) Uji terpenoid

2 mL ekstrak tambahkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 2 mL kloroform, lalu tambahkan 3 tetes asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan pada lapisan tengah, yang mengidentifikasi bahwa adanya senyawa terpenoid pada sampel (Shaikh *et al.*, 2020).

e) Uji saponin

2 mL ekstrak tambahkan ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan 10 mL air panas, kemudian kocok kuat selama 5 menit. Amati busa yang stabil selama 10 menit. Apabila busa tetap terlihat setelah 10 menit maka hal ini menunjukkan adanya senyawa saponin di dalam sampel (Shaikh *et al.*, 2020).

3) Pembuatan larutan uji

Buffer fosfat pH 7,4 dengan konsentrasi 0,15 M disiapkan dengan melarutkan 13,35 gram dinatrium hidrogen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ke dalam 500 mL air suling. Larutan natrium dihidrogen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) dibuat dengan melarutkan 4,14 gram senyawa tersebut dalam 200 mL air suling. Kedua larutan kemudian dicampurkan, yaitu 80,8 mL larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,15 M) dengan 19,2 mL larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,15 M), pada suhu kamar hingga diperoleh buffer fosfat pH 7,4. Larutan isosalin disiapkan dengan melarutkan 2,125 gram NaCl ke dalam 250 mL buffer fosfat pH 7,4, sedangkan larutan hiposalin dibuat dengan melarutkan 0,625 gram NaCl dalam buffer fosfat dengan pH yang sama. Seluruh larutan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Larutan kontrol positif dibuat dengan melarutkan 0,1 gram natrium diklofenak ke dalam 100 mL larutan isosalin Burhannuddin dan Karta (2023).

4) Pembuatan suspensi 10%

Sebanyak 10 mL darah dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi dan disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit. Supernatan kemudian dibuang menggunakan pipet steril, dan endapan sel darah dicuci dengan larutan isosalin sebelum disentrifugasi kembali. Proses pencucian ini diulang sebanyak empat kali hingga larutan isosalin tampak jernih. Selanjutnya, volume sel darah

diukur dan disuspensikan kembali dengan isosalin untuk memperoleh suspensi sel darah merah dengan konsentrasi 10% v/v (Burhannuddin dan Karta (2023).

5) Pembuatan larutan kontrol positif

Sebanyak 1 mL dapar fosfat pH 7,4 dengan konsentrasi 0,15 M dicampurkan dengan 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan natrium diklofenak, serta 2 mL larutan hiposalin.

6) Pembuatan larutan kontrol negatif

Sebanyak 1 mL dapar fosfat pH 7,4 dengan konsentrasi 0,15 M dicampurkan dengan 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan isosalin yang digunakan sebagai pengganti larutan sampel, serta 2 mL larutan hiposalin.

7) Pembuatan larutan kontrol uji

Sebanyak 1 mL larutan sampel dicampurkan dengan 1 mL dapar fosfat, 2 mL larutan hiposalin, serta 0,5 mL suspensi sel darah merah 10%.

8) Pembuatan larutan uji

Sebanyak 1 mL larutan sampel dicampurkan dengan 1 mL dapar fosfat, 2 mL larutan hiposalin, serta 0,5 mL suspensi sel dengan konsentrasi 10%.

9) Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak batang kenop

Setelah seluruh larutan dipersiapkan, campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya, larutan disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian diambil dan kadar hemoglobinnya diukur menggunakan spektrofotometer UV–Vis pada panjang gelombang 560 nm. Efek antiinflamasi ditentukan berdasarkan nilai serapan yang diperoleh dan dihitung menggunakan rumus yang telah ditetapkan.

$$\%Inhibisi = 100 - \left(\frac{abs\ sampel\ uji - abs\ larutan\ kontrol\ larutan\ uji}{abs\ larutan\ kontrol\ negatif} \right) \times 100\%$$

(Burhanuddin & Karta, 2023)

F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Merujuk pada Syahza (2021), data primer merupakan data yang didapat langsung oleh peneliti dari sumber aslinya. Dalam penelitian ini, data tersebut bersumber dari hasil percobaan laboratorium berupa profil skrining fitokimia dan aktivitas antiinflamasi dari ekstrak batang tanaman kenop.

b. Data sekunder

Data sekunder merupakan data yang diperoleh peneliti melalui laporan hasil observasi pihak lain (Syahza, 2021). Dalam penelitian ini, sumber sekunder dikumpulkan melalui studi pustaka dari penelitian terdahulu, termasuk buku dan jurnal ilmiah yang relevan dengan topik tanaman kenop, kandungan senyawa fitokimia, penggunaan pelarut, serta teknik ekstraksi.

2. Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data yang diterapkan dalam penelitian ini meliputi pengamatan (observasi) dan penelitian di laboratorium. Pengamatan adalah metode pengumpulan informasi yang didasarkan pada pengamatan dan pencatatan. Dalam penelitian ini, dilakukan pengamatan untuk memahami bahan alami yang sedang diteliti. Di sisi lain, penelitian di laboratorium memberikan data terkait hasil dari uji skrining fitokimia serta pengujian antiinflamasi secara *in vitro* pada batang kenop.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen merupakan perangkat yang mendukung peneliti dalam mengumpulkan data. Dalam hal ini, terdapat keterkaitan yang kuat antara metode penelitian yang dipilih dengan alat ukur yang digunakan. Hasil yang diperoleh dari penelitian biasanya sangat dipengaruhi oleh mutu alat ukur yang dipakai, karena data yang dikumpulkan merupakan bagian penting dalam proses penelitian dan juga memengaruhi kualitas keseluruhan dari hasil penelitian. Instrumen yang digunakan untuk mengumpulkan data dalam penelitian ini berupa, alat tulis, kamera, dan alat yang digunakan untuk melakukan pengujian skrining fitokimia dan aktivitas antiinflamasi.

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data yang telah terkumpul akan melalui tahap penyimpanan, pengolahan, dan penyajian dalam format tabel serta laporan ilmiah. Penelitian ini mengombinasikan metode analisis deskriptif dan kuantitatif. Analisis deskriptif digunakan untuk memaparkan hasil skrining fitokimia, khususnya terkait keberadaan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, dan tanin pada ekstrak batang kenop. Sementara itu, data aktivitas antiinflamasi dengan metode HRBC dianalisis secara kuantitatif untuk menghasilkan interpretasi data berbasis angka hasil perhitungan.

2. Analisis data

Data hasil eksperimen dalam penelitian ini dianalisis menggunakan pendekatan kuantitatif guna mengevaluasi aktivitas antiinflamasi dengan perbedaan konsentrasi pelarut etanol 70% dan 96%. Tahapan analisis diawali dengan uji *Shapiro – Wilk*

untuk memverifikasi normalitas distribusi data. Selanjutnya, dilakukan uji t tidak berpasangan (*independent t – test*) untuk menentukan signifikansi perbedaan aktivitas antiinflamasi dari kedua jenis pelarut tersebut.

H. Etika Penelitian

Etika penelitian merupakan seperangkat prinsip moral dan pedoman perilaku ilmiah yang harus dijunjung tinggi oleh setiap peneliti untuk menjamin bahwa proses dan hasil penelitian dilakukan secara bertanggung jawab, akurat, dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah maupun sosial (Putra *et al.*, 2021). Prinsip-prinsip etika yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

1. Kejujuran (*Honesty*)

Peneliti wajib menyampaikan semua data, prosedur, dan hasil penelitian secara jujur tanpa manipulasi, fabrikasi, atau penciptaan data yang tidak benar. Kejujuran ilmiah merupakan pilar utama integritas penelitian karena mendasari kepercayaan komunitas ilmiah dan publik terhadap temuan yang dipublikasikan.

2. Objektivitas (*Objectivity*)

Peneliti harus menghindari bias dalam rancangan penelitian, pengambilan data, analisis, dan interpretasi hasil. Objektivitas memastikan bahwa hasil yang diperoleh merupakan representasi yang sah atas fenomena yang diamati, bukan hasil dari preferensi atau asumsi peneliti.

3. Integritas (*Integrity*)

Peneliti mempertahankan konsistensi antara tujuan, metode, dan pelaporan penelitian. Integritas menuntut peneliti berpegang pada standar akademik yang tinggi, tidak melakukan plagiarisme, serta tidak menyalahgunakan data atau

metode ilmiah untuk mencapai hasil yang diinginkan.

4. Tanggung Jawab Sosial (*Social Responsibility*)

Penelitian harus dilakukan dengan mempertimbangkan dampak sosialnya. Peneliti bertanggung jawab memastikan bahwa penelitian memberikan manfaat ilmiah untuk masyarakat, serta tidak berdampak negatif terhadap lingkungan atau pihak yang berkepentingan. Meskipun penelitian ini bersifat *in vitro* dan tidak melibatkan subjek manusia, prinsip tanggung jawab sosial tetap relevan karena komplikasi ilmiah dan integritas data berpengaruh pada pemahaman yang luas.

5. Keadilan (*Justice*)

Prinsip ini menekankan perlakuan yang adil atas data dan pelaporan, serta ketidakberpihakan terhadap kelompok atau kepentingan tertentu dalam menyebarkan hasil penelitian. Hambatan akses, bias publikasi, atau diskriminasi informasi harus dihindari dalam proses ilmiah (Putra *et al.*, 2021).