

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimen metode kuantitatif.

#### **B. Tempat dan waktu penelitian**

##### a. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium farmakologi dan laboratorium farmakognosi di Prodi D-III Farmasi, Kemenkes Poltekkes Kupang.

##### b. Waktu penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan April sampai Mei 2025.

#### **C. Populasi dan sampel**

##### a. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah daun kersen yang tumbuh di sekitar Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur.

##### b. Sampel dan teknik sampling.

Dilakukan pengambilan sampel secara *purposive* dengan kriteria daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang berwarna hijau dan segar dari Alak, Kecamatan Alak, Nusa Tenggara Timur, yang akan dibuat dalam bentuk simplisia.

## D. Variabel Penelitian

### 1. Variabel bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah dosis infusa daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan dosis 5%, 10%, 20%.

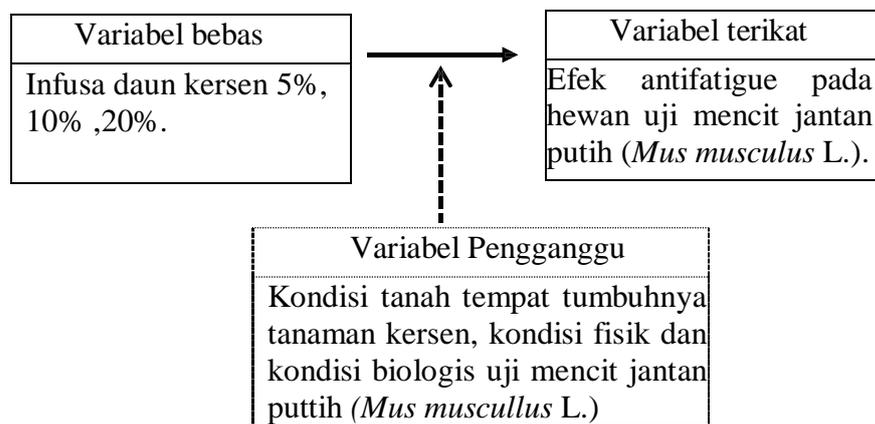
### 2. Variabel terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah aktivitas antifatigue infusa daun kersen (*Muntingia calabura* L.) pada mencit jantan putih (*Mus musculus* L.).

### 3. Variabel pengganggu

Variabel pengganggu adalah kondisi tanah tempat tumbuhnya tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.), kondisi fisik dan kondisi biologis dari mencit jantan putih (*Mus musculus* L.).

## E. Kerangka Konsep



Keterangan :

————— : Yang diteliti  
----- : Tidak diteliti

Gambar 2. Hubungan antar variabel

## F. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

No	Variabel	Defenisi Operasional	Alat Ukur	Skala
1.	Infusa daun kersen	Hasil ekstraksi simplisia daun kersen ( <i>Muntingia Calabura</i> L.) yang didapat melalui metode infusa menggunakan pelarut air pada suhu 90°C, selama 15 menit. Dengan dosis konsentrasi 5%,10%,20%	-	Nominal
2.	Mencit putih jantan ( <i>Mus muscullus</i> )	mencit putih jantan ( <i>Mus muscullus</i> L.) yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20 – 25 gram dengan kondisi sehat dan mencit dengan kemampuan berenang yang buruk tidak diikutsertakan dalam pengambilan data.	Stopwatch	Rasio
3.	Antifatigue	Aktivitas yang ditunjukkan oleh kemampuan Mencit putih jantan ( <i>Mus musculus</i> ) untuk mempertahankan ketahanan fisik dengan menggunakan parameter ketahanan waktu berenang setelah diberi perlakuan infusa daun kersen konsentrasi 5%, 10%, dan 20%	Stopwatch	Rasio
5.	Aquades	Digunakan sebagai `kontrol negatif	-	Nominal
6.	Minuman bernergi krating daeng.	Minuman berenergi komersial yang mengandung kafein dan taurin, digunakan sebagai kontrol positif dalam uji aktivitas antifatigue.	-	Nominal

## **G. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, kain flanel, *stopwatch*, gelas ukur (*pyrex*), beker gelas (*pyrex*), pemberat, timbangan digital, *disposable syringe*, kertas perkamen, batang pengaduk, sendok tanduk, *hot plate*, blender, ayakan mesh 45, *stopwatch*, sonde oral, disppo 1 cc, tisu, sarung tangan, panci infusa, *termometer*, aluminium foil, handuk, *Waterbath* buku tulis dan pulpen.

### **2. Bahan**

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian adalah daun kersen (*Muntingia calabura* L.), minuman berenergi krating daeng, aquades, Hcl pekat, etanol 70%, FeCl<sub>3</sub>, serbuk magnesium.

## **H. Prosedur Penelitian**

### **1. Persiapan bahan uji dan Determinasi**

Sampel daun kersen (*Muntingia calabura* L.) diambil di Alak, Kecamatan Alak, Kota Kupang kemudian di determinasi. Diambil daun kersen yang tua masih segar, berwarna hijau, tidak berlubang dan tidak kotor. Lalu disortasi basah dengan dicuci pada air yang mengalir, dirajang, dikeringkan, dilakukan sortasi kering, dan dihaluskan menjadi serbuk simplisia.

### **2. Pembuatan simplisia daun kersen**

Daun kersen yang diambil merupakan yang tua dan masih hijau, segar dan tidak berlubang. Sampel diambil sebanyak 1 kg lalu disortasi dengan

dicuci menggunakan air mengalir guna membersihkan kotoran di daun. Kemudian dirajang dan dilakukan pengeringan oven suhu 50°C dalam waktu 120 menit, kemudian diukur kadar air memakai alat *moisture balance* (Hely dkk.,2018). Sampel yang telah kering kemudian diblender untuk memperbesar luas permukaan kontak dengan pelarut. Selanjutnya, diayak memakai ayakan mesh 45 sampai halus dan homogen. (Alouw dkk., 2022).

### **3. Pembuatan infusa daun kersen**

#### **a. Infusa daun kersen 5%**

Infusa daun kersen 5% b/v timbang 5 gram serbuk simplisia, dimasukkan dalam panci infus bagian atas, ditambahkan aquades 100 ml, panaskan 15 menit sejak suhu mencapai 90°C, diaduk sesekali. Kemudian disaring saat masih panas menggunakan kain flanel bersih, air panas dituangkan seperlunya melewati ampas sampai volume 100 ml dan dimasukkan dalam botol kaca yang sudah diberi label (Ajrina dkk., 2021).

#### **b. Infusa daun kersen 10%**

Infusa daun kersen 10 % b/v timbang 10 gram serbuk simplisia, dimasukkan dalam panci infus bagian atas, tambahkan aquades 100 ml, panaskan 15 menit saat suhu mencapai 90°C, diaduk sesekali. Kemudian disaring saat masih panas menggunakan kain flanel bersih, air panas dituangkan seperlunya melewati ampas sampai volume 100 ml dan dimasukkan dalam botol kaca yang sudah diberi label. (Ajrina

dkk., 2021).

c. Infusa daun 20 %

Infusa daun kersen 20 % b/v timbang 20 gram serbuk simplisia, dimasukkan dalam panci infus bagian atas, ditambahkan aquades 100 ml, panaskan 15 menit sejak suhu mencapai 90°C, diaduk sesekali. Kemudian disaring saat masih panas menggunakan kain flanel bersih, air panas dituangkan seperlunya melewati ampas sampai volume 100 ml dan dimasukkan dalam botol kaca yang sudah diberi label. (Ajrina dkk., 2021).

#### 4. Penentuan dosis

a. Infusa daun kersen 5 %

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dalam 100 ml.

$$\frac{5 \text{ g}/100\text{ml} \times 0,0026}{20 \text{ g BB}} = 0,013 \text{ g} / 0,26 \text{ ml} / 20 \text{ g BB}$$

Volume pemberian terhadap tikus yakni 0,26 ml.

b. Infusa daun kersen 10 %.

Sebanyak 10 gram serbuk simplisia dalam 100 ml.

$$\frac{10\text{g}/100\text{ml} \times 0,0026}{20 \text{ g BB}} = 0,026 \text{ g} / 0,26 \text{ ml} / 20 \text{ g BB}$$

Volume pemberian terhadap tikus yakni 0,26 ml

c. Infusa daun kersen 20 %.

Sebanyak 20 gram serbuk simplisia dalam 100 ml.

$$\frac{20 \text{ g} / 100\text{ml} \times 0,0026}{20 \text{ g BB}} = 0,052\text{g} / 0,26 \text{ ml} / 20 \text{ g BB}$$

Volume pemberian terhadap tikus yakni 0,26 ml.

$$\frac{25 \text{ g BB}}{20 \text{ g BB}} \times 0,26 \text{ ml} = 0,32 \text{ ml}$$

## 5. Identifikasi kandungan senyawa

### a. Uji flavonoid

Diambil 5 ml infusa, ditambahkan serbuk magnesium 0,5 gram, dipanaskan kurang lebih 2 menit, disaring. Kemudian filtrat tambahkan 3 tetes HCl pekat dan ditambah 2 mL etanol 70% kemudian diaduk. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna jingga sampai merah (Farah dkk 2019).

### b. Uji tanin

Diambil infusa sebanyak 4 ml spereaksi FeCl<sub>3</sub>. Dilihat perubahan warna yang muncul, jika warnanya berubah menjadi biru atau hijau kehitaman maka sampel mengandung tanin (Ginting., 2023).

### c. Uji saponin

Sampel sebanyak 5 ml dicampur dengan 10 ml akuades. Selanjutnya dikocok kuat 1 menit, biarkan 10 menit. Setelah itu, diteteskan 1-2 tetes HCl 2 N. Munculnya busa stabil menandakan positif saponin. (Sentat & Pangestu., 2016).

## 6. Penentuan dosis minuman berenergi

perhitungan dosis ini didasarkan pada tabel perbandingan luas permukaan tubuh hewan uji, di mana mencit berbobot 20 gram setara dengan 0,0026 dari dosis manusia ( Nugrahani, 2012). Setiap sajian dalam 1 botol minuman berenergi Krating Daeng berisi 150 ml, dan volume minuman berenergi yang dikonversi untuk mencit yang setara dengan 150 ml

minuman berenergi yaitu  $0,0026 \times 150$  ml adalah 0,39 ml.

## 7. Pemeliharaan hewan uji

Hewan uji yang akan digunakan adalah mencit putih jantan (*Mus musculus L.*) dengan berat badan berkisar antara 20 - 40 gram sebanyak 15 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit. Sebelumnya, hewan uji dipelihara selama 7 hari dan kandangnya selalu dibersihkan dan mencit dilatih selama 5 hari dengan peningkatan intensitas latihan (Oematan dkk., 2023)

## 8. Uji efek antifatigue

- a. Perhitungan jumlah mencit putih jantan yang digunakan dengan rumus *festing* (Hamid, 2017)

$E = \text{Jumlah total sampel} - \text{Jumlah total kelompok}$

$E = (n \times t) - a$

$10 = (n \times 5) - 5$

$15 = 5n$

$n = 3$

Keterangan:

$E = \text{Nilai rentang yang harus dicapai} (10 - 20)$

$n = \text{Jumlah sampel tiap kelompok}$

$t = \text{Jumlah total kelompok} (t)$

- b. Mencit dikelompokkan dan diatur dalam kelompok sesuai dengan tabel bawah ini dan diberi perlakuan.

Tabel 2. Tabel Kelompok Perlakuan

Kelompok	N.H.U	Perlakuan	Vol. Pemberian ( ml)
<b>K I (Negatif)</b>	3	Aquades	0,26 ml
<b>K II (Positif)</b>	3	Minuman Berenergi	0,39 ml
<b>K III (IDK 5%)</b>	3	Infusa Daun Kersen 5%	0,26 ml
<b>K IV (IDK 10%)</b>	3	Infusa Daun Kersen 10%	0,26 ml
<b>K V ( IDK 20%)</b>	3	Infusa Daun Kersen 20%	0,26 ml

Ket:

N.H.U = Jumlah hewan uji perkelompok

MB = Minuman Berenergi

IDK = Infusa daun kersen dosis 5%, 10%, 20%

- c. Mencit dilatih selama 5 hari dengan peningkatan latihan renang. Pada hari pertama, hewan berenang selama 3 menit; hari kedua, 5 menit; hari ketiga, 7 menit; hari keempat, berenang dengan beban 1 gram; dan pada hari kelima, beban dinaikkan 2 gram. Tujuan latihan ini adalah untuk membiasakan mencit dengan uji anti-fatigue dan mencegah cedera pada organ motorik, sehingga hasil ketahanan berenang dapat maksimal (Lukman & Vivi, 2013).
- d. Diberikan sediaan uji selama 7 hari dengan frekuensi pemberian 1x sehari. Sebelum di berikan selama 7 hari dilakukan pengukuran ketahanan renang pada hari 0 untuk data pre-test dan hari ke 8 untuk data post-test waktu ketahanan renang.
- e. Mencit diberi beban sebesar 10% dari bobot tubuh pada pangkal ekor, lalu direnangkan dalam wadah. Kelelahan ditentukan berdasarkan ketidakmampuan mencit sebelum dan sesudah renang, dimana pendeknya lama waktu berenang menunjukkan tingkat kelelahan yang

di indikasikan dengan gagal mencapai permukaan air dan bernapas dalam waktu 2 detik selama uji renang (Oematan dkk., 2023).

- f. Efek antifatigue dapat diamati dari selisih durasi ketahanan berenang mencit, yang diperoleh dengan mengurangi waktu ketahanan berenang setelah perlakuan (tt) dengan waktu ketahanan berenang sebelum perlakuan ( $t = 0$ ) (Lukman & Vivi., 2013).

#### **I. Analisis Data**

Data yang didapatkan dianalisis menggunakan uji T berpasangan (*Paired T Test*) untuk melihat perbedaan waktu berenang mencit. Kemudian dianalisis menggunakan *One way ANOVA post hoc* untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok pengujian.