

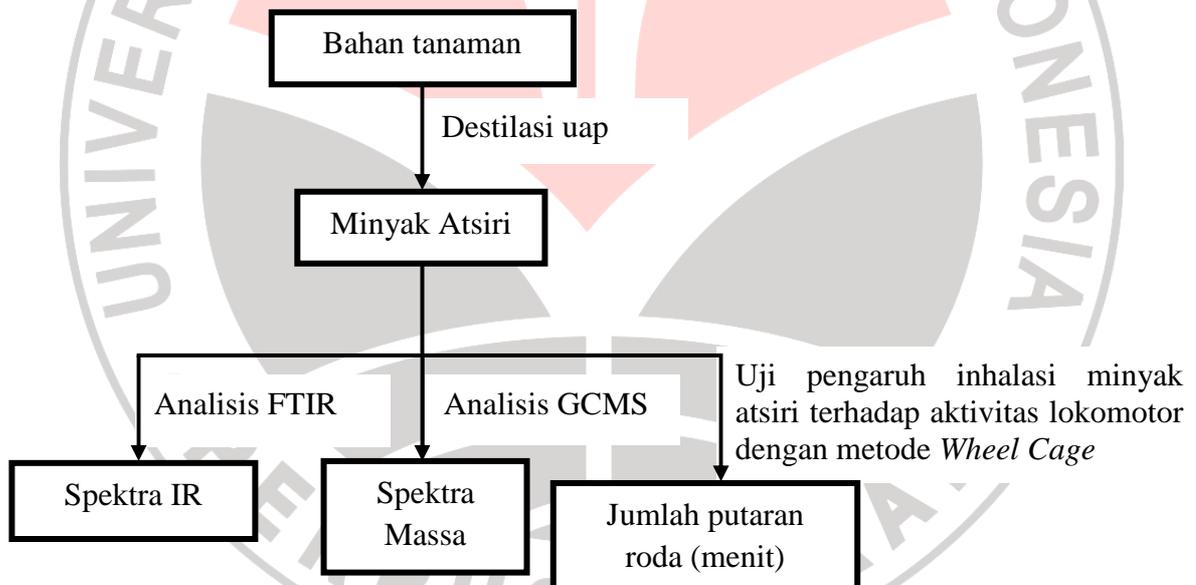
BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Deskripsi Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap yaitu tahap pertama adalah destilasi uap menggunakan pelarut air. Tahap kedua adalah analisis FTIR, spektrum GC-MS, dan uji pengaruh inhalasi minyak atsiri terhadap aktivitas lokomotor mencit dengan metode *Wheel Cage*.

Tahap penelitian di atas sesuai dengan bagan alir yang ditunjukkan pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Desain Penelitian Isolasi Minyak Atsiri dan Analisis Hasil Isolasi

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan adalah satu set destilator uap, FTIR (*Fourier Transform Infrared*) Shimadzu 8400, spektrometer GCMS (*Gas*

Chromatography-Mass Spectrometer) Shimadzu QP5050A, inhalator, roda putar (*wheel cage*), Digital Mikro pipet SIBATA, kamera digital Olympus VG-120, mini tripod, timbangan, kertas saring dan seperangkat alat gelas lainnya.

3.2.2 Bahan

Pada penelitian ini tanaman yang digunakan adalah daun selasih (*Ocimum gratissimum* L.), daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth), minyak rosemary (*Rosemary oil*), minyak akar wangi (*Vertiver oil*), minyak serai dapur (*lemongrass oil*) yang diperoleh dari BALITTRO Manoko (Lembang), minyak kayu putih (*Cajeput oil*) yang berasal dari Buton, mencit putih jantan galur Swiss Webster diperoleh dari rumah hewan Departemen Biologi FMIPA ITB. Bahan-bahan yang digunakan air ledeng, Na₂SO₄ anhidrat.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Preparasi

Selasih dan nilam yang digunakan pada penelitian ini merupakan tanaman yang masih muda. Selasih maupun nilam yang masih basah ditimbang. Selanjutnya dikeringkan tanpa terkena matahari langsung ± 2 minggu. Setelah cukup kering, lalu ditimbang.

3.3.2 Isolasi Minyak Atsiri

3.3.2.1 Proses Penyulingan

Proses penyulingan diawali dengan memasukkan air terlebih dahulu kedalam dasar ketel hingga mendekati batas saringan atau 1/3 bagian ketel. Selanjutnya daun nilam dimasukan kedalam ketel sulingan. Set alat destilator uap ditunjukkan pada Gambar 3.2



Gambar 3.2 Set Alat Destilator uap

3.3.2.2 Pemisahan Hasil Penyulingan

Minyak atsiri daun dan batang selasih, daun nilam hasil penyulingan ditampung dalam botol, dimasukan Na_2SO_4 anhidrat. Kemudian masing-masing minyak atsiri tersebut didekantasi kedalam botol coklat. Botol disimpan dalam lemari pendingin.

3.3.3 Analisis Profil Senyawa

Analisis dilakukan dengan FTIR dan GCMS. Dari analisis ini diperoleh spektrum berupa puncak bilangan gelombang (cm^{-1}) dan massa senyawa yang terdapat pada minyak atsiri. Adapun kondisi yang digunakan pada saat analisis GCMS yaitu sebagai berikut:

Metode : Terprogram

Detektor : DB 5 MS

Suhu kolom : 60°C

Suhu detektor : 300°C

Waktu analisa : 29 menit

Volume injeksi: $0,2 \mu\text{L}$

3.4 Uji Pengaruh Inhalasi Minyak Atsiri Terhadap Aktivitas Lokomotor Mencit

3.4.1 Desain Eksperimen

Desain Eksperimen ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Desain ini sering digunakan jika percobaan bersifat homogen seperti percobaan dalam laboratorium (Nasir, 1999). Secara acak mencit-mencit dikelompokkan pada setiap kelompok perlakuan. Tiap kelompok berjumlah 5 ekor mencit. Adapun kelompok perlakuan dibagi dalam dua puluh kelompok perlakuan yaitu:

1. Tiga kelompok perlakuan dengan sampel minyak selasih disingkat MS (MS0,1; MS0,3; MS0,5)
2. Tiga kelompok perlakuan dengan sampel minyak nilam disingkat MN (MN0,1; MN0,3; MN0,5)
3. Tiga kelompok perlakuan dengan sampel minyak rosemary disingkat MR (MR0,1; MR0,3; MR0,5)
4. Tiga kelompok perlakuan dengan sampel minyak akar wangi disingkat MAW (MAW0,1; MAW0,3; MAW0,5)
5. Tiga kelompok perlakuan dengan sampel minyak kayu putih disingkat MKP (MKP0,1; MKP0,3; MKP0,5)
6. Tiga kelompok perlakuan dengan sampel minyak serai dapur disingkat MSD (MSD0,1; MSD0,3; MSD0,5)
7. Dua kelompok kontrol yaitu satu kelompok tanpa pemberian minyak atsiri serta tanpa perlakuan stres (K-), dan satu kelompok tanpa pemberian minyak atsiri dengan perlakuan stres (K+).

3.4.2 Populasi dan Sampel

Populasi yang dijadikan objek dalam penelitian ini adalah seluruh mencit jantan berumur sekitar 2-3 bulan dengan kisaran berat badan antara 30-40 gram yang diaklimatisasi di Laboratorium Riset Kimia Lingkungan UPI. Mencit yang digunakan dalam pengujian sebanyak 100 ekor yang diperoleh dari Rumah Hewan Departemen Biologi FMIPA ITB.

3.4.3 Pemeliharaan Hewan Uji

Sebelum dilakukan pengujian, perlakuan hewan uji mencit melalui tahap aklimatisasi yaitu pengkondisian hewan uji terhadap kondisi tempat uji berlangsung. Mencit-mencit diaklimatisasi pada suhu ruangan rata-rata 23-26°C.

Periode ini dilaksanakan selama 1 minggu dengan tujuan untuk mengaklimasi mencit uji ke kondisi percobaan. Mencit-mencit dikelompokkan dalam kandang berdasarkan perlakuan yang diberikan dengan kepadatan 5 ekor setiap kandang. Mencit ditempatkan dalam ruang laboratorium dengan kondisi siklus 12:12 jam terang/gelap. Aklimasi biasanya digunakan untuk menghadapi faktor-faktor yang terjadi dalam lingkungan terkontrol di laboratorium (Kramadibrata, 1995).

Selama aklimatisasi, mencit-mencit tersebut diberi makan pakan CP 551 dan air minum dalam botol secara *ad libitum*. Makanan diberikan setiap hari dan botol minuman dibersihkan setiap tiga hari sekali dan diganti airnya, atau diisi ulang dengan air apabila sudah kosong. Sekam sebagai alas kandang diganti apabila sudah kotor agar mencit menjadi lebih nyaman.

3.4.4 Cara Kerja

Aktivitas lokomotor didasarkan pada jumlah gerak mencit untuk memutar roda putar. Kelompok perlakuan dibuat stres dengan cara menggantung ekor tikus (*tail suspension test*) selama ± 6 menit. Setelah menginhulasi minyak atsiri selama 30 menit, mencit diletakkan pada alat roda putar. Jumlah putaran roda dicatat selama 90 menit, dengan interval waktu 15 menit dimulai sejak 5 menit setelah mencit ditempatkan pada alat. Jumlah putaran kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol.

