

## **BAB III**

### **PENGAMATAN PENELITIAN**

#### **A. JENIS PENELITIAN**

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni dengan pendekatan *pretest-posttest control group design*.

#### **B. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN**

##### 1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

##### 2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan sekitar bulan 15 s.d. 22 Februari 2009.

#### **C. SUBYEK PENELITIAN**

Subyek penelitian adalah tikus putih Strain Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Subyek yang diteliti memiliki kriteria sebagai berikut:

1. Usia sekitar 2 bulan.
2. Memiliki berat badan antara 150-200 gram
3. Jenis kelamin jantan

Jumlah sampel dalam penelitian adalah 25 ekor, dibagi menjadi 5 kelompok secara random. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor subyek dan mendapat perlakuan sebagai berikut:

### 1. Kelompok kontrol negatif

Pada pengamatan pengurangan volume udem, injeksi karagenin dilakukan satu hari sebelumnya pada kaki kiri belakang tikus, setelah 12-18 jam kelompok kontrol negatif diberi aquades sebanyak 3 ml dengan sonde oral kemudian pengukuran volume udem pada kaki kiri belakang tikus menggunakan plestimograph dilakukan tiap 30 menit selama 4 jam.

Pada pengamatan penghambatan volume udem, kelompok kontrol negatif sebelumnya diberikan aquades sebanyak 3 ml dengan sonde oral kemudian dilakukan injeksi karagenin pada kaki kanan belakang tikus. Pengukuran volume udem pada kaki kanan belakang tikus menggunakan plestimograph dilakukan setelah 30 menit injeksi karagenin dan diulangi berturut-turut tiap 30 menit selama 4 jam.

### 2. Kelompok kontrol positif

Pada pengamatan pengurangan volume udem, injeksi karagenin dilakukan satu hari sebelumnya pada kaki kiri belakang tikus, setelah 12-18 jam kelompok kontrol positif diberikan ibuprofen dengan dosis 15 mg menggunakan sonde oral kemudian pengukuran volume udem pada kaki kiri belakang tikus menggunakan plestimograph dilakukan tiap 30 menit selama 4 jam.

Pada pengamatan penghambatan volume udem, kelompok kontrol positif sebelumnya diberikan ibuprofen dengan dosis 15 mg dengan sonde oral kemudian dilakukan injeksi karagenin pada kaki kanan belakang tikus. Pengukuran volume udem pada kaki kanan belakang tikus menggunakan

plestimograph dilakukan setelah 30 menit injeksi karagenin dan diulangi berturut-turut tiap 30 menit selama 4 jam.

### 3. Kelompok Uji

Pada pengamatan pengurangan udem, injeksi karagenin dilakukan satu hari sebelumnya pada kaki kiri belakang tikus, setelah 12-18 jam kelompok uji diberikan minyak ikan sesuai dengan dosis berturut-turut adalah 75,6 mg, 126 mg dan 201,6 mg dengan sonde oral kemudian pengukuran volume udem pada kaki kiri belakang tikus menggunakan plestimograph dilakukan tiap 30 menit selama 4 jam.

Pada pengamatan penghambatan volume udem, kelompok uji sebelumnya diberikan minyak ikan sesuai dengan dosis berturut-turut adalah 75,6 mg, 126 mg dan 216,6 mg dengan sonde oral kemudian setelah itu dilakukan injeksi karagenin pada kaki kanan belakang tikus. Pengukuran volume udem pada kaki kanan belakang tikus menggunakan plestimograph dilakukan setelah 30 menit injeksi karagenin dan diulangi berturut-turut tiap 30 menit selama 4 jam.

## D. IDENTIFIKASI VARIABEL PENELITIAN

### 1. Variabel Bebas

Minyak ikan diberikan per oral sesuai dengan dosis yang telah ditentukan.

### 2. Variabel Tergantung

Udem buatan pada kaki kanan dan kiri belakang tikus putih yang ditimbulkan akibat induksi karagenin.

### 3. Variabel Terkendali

#### a. Variabel subyek berbeda

- 1). Usia. Usia diatasi dengan pemilihan subyek penelitian sekitar 2 bulan.
- 2). Jenis Kelamin. Jenis kelamin diatasi dengan pemilihan subyek penelitian yang mempunyai jenis kelamin jantan.
- 3). Berat Badan. Berat badan diatasi dengan pemilihan subyek penelitian sekitar 150-200 gram.

#### b. Variabel Perawatan

Jenis kualitas dan kuantitas makanan dan minuman tikus diusahakan sama.

#### c. Variabel Bahan Coba

Minyak ikan didapatkan dari sumber bahan dan cara pemberian yang sama.

### **E. DEFINISI OPERASIONAL**

#### 1. Minyak ikan

Minyak ikan adalah minyak yang berasal dari ikan berupa kapsul berwarna kuning.

#### 2. Antiinflamasi

Salah satu tanda klasik inflamasi adalah udem maka efek antiinflamasi yang diharapkan muncul pada percobaan ini adalah penurunan volume udem pada kaki kanan belakang tikus dan penghambatan volume udem pada kaki kanan belakang tikus yang ditimbulkan akibat injeksi karagenin.

## F. INSTRUMEN PENELITIAN

### 1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak ikan (dosis 75,6 mg, 126 mg dan 201,6 mg), Ibuprofen (dosis 15 mg), Karagenin 1 %, NaCl 0,9 %, Aquades (3 ml per tikus secara oral) dan Desinfektan (Alkohol 70 %).

### 2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kandang Tikus, Timbangan, Spuit injeksi (Terumo 1 ml), Sonde oral 10 ml, Pipet, Gelas Beker, Stopwatch (Olympic) dan Plestimograph (IWAKI Pyrex).

Pengukuran volume udem kaki belakang tikus menggunakan alat pengukur yang disebut plestimograph. Pengukuran dimulai dengan memberikan tanda berupa garis pada tabung diplestimograph, kemudian peneliti menarik pompa pada plestimograph untuk mengeluarkan udara sehingga air raksa pada plestimograph tepat mengisi tabung sampai batas yang telah diberi tanda. Pada plestimograph bagian skala, pompa ditarik sehingga air raksa tepat diangka nol (0). Dalam kondisi ini, plestimograph siap untuk digunakan.

Cara mengukur volume udem kaki belakang tikus adalah memasukkan (atau mencelupkan) kaki belakang tikus sampai batas antara bagian yang mengalami udem dan yang tidak terjadi udem (sebelumnya telah diberi tanda berupa garis pada bagian tersebut) ke dalam tabung plestimograph yang berisi air raksa sehingga air raksa dalam tabung akan naik melebihi tanda (garis)

yang tertera dalam tabung plestimograph. Selisih air raksa sebelum kaki belakang tikus dicelupkan dan setelah dicelupkan ini, merupakan volume udem pada subplantar kaki tikus. Untuk mengetahui besarnya selisih ini, maka pompa pada plestimograph ditarik sehingga udara keluar dan air raksa pada tabung akan masuk ke bagian skala. Air raksa tersebut ditarik sampai kembali pada posisi awal di tabung yaitu pada tanda berupa garis. Air raksa yang telah ditarik akan mengisi pada bagian skala sehingga dapat terbaca volume udem pada skala tersebut.

#### **G. CARA PENGUMPULAN DATA**

1. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (aquades), kelompok kontrol positif (ibuprofen), kelompok uji I (minyak ikan 75,6 mg), kelompok uji II (minyak ikan 126 mg) dan kelompok uji III (minyak ikan 201,6 mg). Pembagian dilakukan secara acak dan setelah itu tikus dimasukkan ke dalam kandangnya sesuai dengan kelompok masing-masing.
2. Tikus ditempatkan pada kandang selama 1 minggu dengan lingkungan dan diet yang sama. Hal ini bertujuan agar saat penelitian, tikus dalam kondisi yang sama.
3. Setelah satu minggu adaptasi, dilakukan persiapan untuk penelitian, yaitu persiapan alat dan bahan.
4. Sebelum penelitian dilakukan, seluruh kelompok tikus putih dipuasakan selama 12 -18 jam untuk meniadakan variabel pengganggu yang berasal dari makanan. Selama penelitian dilakukan, seluruh

kelompok tikus tersebut tidak diberi makan namun tetap diberi minum secukupnya.

5. Penelitian dilakukan selama 2 hari, pada hari pertama pukul 16.00 WIB, pada pengamatan pengurangan udem, volume kaki belakang tikus pada semua kelompok diukur dengan plestimograph sebagai volume kaki sebelum udem selanjutnya tikus disuntikkan karagenin 1%. Kemudian tikus dibiarkan selama 15 jam.
6. Pada hari kedua (keesokan harinya pukul 07.00 WIB), kaki kiri belakang tikus yang telah udem diukur dengan plestimograph sebagai volume udem awal kaki kiri belakang tikus. Tigapuluh menit setelah pengukuran, tikus diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya (aquades 3 ml, ibuprofen 15 mg, atau minyak ikan dengan dosis berturut-turut yaitu 75,6 mg, 126 mg dan 201,6 mg). Selanjutnya tiap 30 menit selama 4 jam, masing-masing kelompok tikus diukur volume udem kaki kiri belakangnya sebagai volume udem.
7. Pada pengamatan penghambatan udem, penelitian dilakukan hanya satu hari. Injeksi karagenin diberikan setelah pemberian perlakuan pada masing-masing kelompok. Sebelumnya kaki kanan belakang tikus diukur menggunakan plestimograph sebagai volume kaki sebelum udem. Selanjutnya tikus diberi perlakuan sesuai dengan kelompok masing-masing (aquades 3 ml, ibuprofen 15 mg, atau minyak ikan dengan dosis berturut-turut yaitu 75,6 mg, 126 mg dan 201,6 mg). Masing-masing kelompok tikus diinjeksikan karagenin 1 %

pada kaki kanan belakang tikus. Setelah 30 menit injeksi karagenin, kaki kanan belakang tikus diukur sebagai volume udem awal. Selanjutnya tiap 30 menit selama 4 jam dilakukan pengukuran volume kaki kanan belakang tikus sebagai volume udem. Tigapuluh menit ke-1 sebagai volume udem 1 (V1), 30 menit ke-2 sebagai volume udem 2 (V2), dan seterusnya sampai 30 menit terakhir sebagai volume udem 8 (V8).

8. Selanjutnya hasil dicatat dan dilakukan analisa data.

#### **H. ANALISA DATA**

Pada penelitian ini, untuk mengetahui kebermaknaan antar kelompok maka data dianalisis menggunakan seperangkat komputer dengan menggunakan pengamatan *repeated* ANOVA kemudian dilanjutkan dengan *post hock test*.

## I. DIAGRAM PENELITIAN

