

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental acak sederhana dengan menggunakan rancangan penelitian *Pre-test dan Post-test Controlled Design* (Notoatmodjo, 2002) untuk mengetahui efek anti inflamasi infusa daging buah mahkota dewa (*Phaleria Macrocarpa (Scheff.) Boerl*) pada tikus betina terinduksi karagenin.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta pada bulan Juli - Agustus 2008.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi penelitian adalah tikus putih di Unit Pengembangan Hewan Coba, Universitas Gajahmada Yogyakarta.

##### **2. Sample**

Sampel diambil sejumlah 30 ekor tikus dan dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Tikus yang digunakan memenuhi kriteria:

- a. Umur dan berat rata-rata tikus harus sama, yaitu berumur antara 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata antara 150-200 gram.

- b. Tikus yang dipilih adalah tikus yang berkelamin betina dan berasal dari ras *Norvegicus* galur Wistar dan diambil dari induk-induk bersaudara yang sehat.
- c. Sebelum penelitian dilakukan, seluruh kelompok tikus putih dipuasakan selama 12 jam untuk meniadakan variabel pengganggu yang berasal dari makanan. Selama penelitian dilakukan, seluruh kelompok tikus putih tersebut tidak diberi makan namun tetap diberi minum secukupnya.
- d. Tikus putih diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium sekitar 1 minggu, dengan perlakuan perawatan yang sama.

#### **D. Variabel Operasional**

Pada penelitian ini dapat digolongkan 3 macam variabel, yaitu:

- 1. Variabel bebas, yang meliputi pemberian infusa daging buah mahkota dewa.
- 2. Variabel tergantung, dalam hal ini adalah volume edema yang terjadi akibat penyuntikan karagenin.
- 3. Variabel pengganggu terkendali, terdiri dari:
  - a. Variabel sampel penelitian, meliputi:
    - 1) Jenis kelamin semua sampel diupayakan sama, yaitu betina.
    - 2) Umur tikus rata-rata sama, yaitu 2-3 bulan.
    - 3) Berat badan yang dipilih rata-rata sama, yaitu 150-200 gram.
    - 4) Jenis tikus diupayakan sama, yaitu yang berasal dari galur Wistar.

b. Variabel perawatan

Jenis dan kualitas makanan dan minuman setiap sampel diupayakan sama.

c. Variabel bahan coba

Infusa daging buah mahkota dewa dibuat dalam satu kali proses pembuatan dan diberikan pada setiap sampel dengan cara yang sama.

**E. Definisi Operasional**

1. Infusa daging buah mahkota dewa kering

Daging buah mahkota dewa kering dengan berat tertentu dibuat sediaan infusa dengan volume tertentu sehingga didapatkan konsentrasinya. Dari konsentrasi kemudian akan dipakai dalam penelitian.

2. Edema buatan

Edema adalah adanya sejumlah besar cairan secara abnormal dalam ruangan jaringan interseluler tubuh, biasanya istilah ini digunakan pada akumulasi cairan yang berlebihan dan nyata dalam jaringan subkutan. Jadi edema buatan adalah edema yang dibuat dengan sengaja akibat penyuntikan karagenin pada jaringan subkutan.

**F. Instrumen Penelitian**

1. Bahan penelitian

- a. Infusa daging buah mahkota dewa dosis 2,1%, dosis 4,2%, dosis 8,4%
- b. Desinfektan: alkohol 70%
- c. Ibuprofen
- d. NaCl 0,9 %

- e. Air/aquades
- f. karagenin
- 2. Alat penelitian
  - a. Pletismograph
  - b. Kandang tikus
  - c. Timbangan
  - d. Spuit injeksi subkutan 1ml
  - e. Sonde oral 10 ml
  - f. Pipet
  - g. Gelas beker
  - h. Pemanas air
  - i. Oven
  - j. Stopwatch

#### **G. Rancangan Penelitian**

Jalannya penelitian dilakukan dengan menggunakan metode Winter et al (1962) yang telah dimodifikasi.

- 1. Tahap penelitian
  - a. Tikus putih dibagi dalam 5 kelompok yang telah dipilih secara acak, masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus putih betina.
  - b. Sebelum penelitian dilakukan, seluruh kelompok tikus putih dipuasakan selama 12 jam untuk meniadakan variabel pengganggu yang berasal dari makanan. Selama penelitian dilakukan, seluruh kelompok tikus putih tidak diberi makan namun tetap diberi minum secukupnya.

- c. Sesaat sebelum pemberian perlakuan dilakukan pengukuran volume awal kaki kanan tikus putih dengan pletismograph. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali.
  - d. Selama penelitian, tikus putih diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya masing-masing. Tikus putih pada tiap kelompok mendapatkan perlakuan yang sama.
  - e. Satu jam setelah pemberian perlakuan telapak kaki kanan tikus putih disuntik dengan karagenin 1% subplantar.
  - f. Kemudian sesaat setelah penyuntikan karagenin 1%, dilakukan pengukuran volume kaki kanan sebagai volume pada menit ke-0 (T0) selanjutnya dilakukan pengukuran tiap 15 menit sebagai volume pada menit ke-15 (T1) hingga menit ke-240 (T16). Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali untuk masing-masing tikus.
  - g. Masing-masing pengukuran dicatat, selanjutnya daya inflamasi dinilai dengan menghitung rerata selisih volume penghambatan edema.
  - h. Data yang diperoleh kemudian dihitung dan diuji secara statistik, dan disajikan dalam bentuk grafik dan tabel.
2. Perhitungan dosis perlakuan
- a. Kelompok I, sebagai kontrol negatif digunakan perlakuan aquades secara peroral sebanyak 3 ml sesuai dengan volume kapasitas lambung tikus.
  - b. Kelompok II, sebagai kontrol positif mendapatkan obat pembanding yaitu ibuprofen. Dosis ibuprofen yang digunakan adalah dosis sebesar

400-800 mg. Untuk dosis tikus maka dosis tersebut dikonversi terlebih dahulu. Faktor konversi untuk penentuan dosis ibuprofen dari manusia terhadap tikus putih dengan berat badan rata-rata 200 gr adalah 0,018. Faktor konversi ini dikalikan dengan dosis pada manusia dewasa dengan berat badan 70 kg (dibandingkan dengan berat badan rata-rata manusia di Indonesia adalah 50 kg) (Ngatidjan, 1991). Dengan demikian, dosis tikus adalah  $400-800 \text{ mg} \times 0,018 \times 70/50$ . Hasil yang diperoleh adalah 10,08 – 20,16 mg. digunakan dosis 15 mg/200 gr tikus.

Larutan ibuprofen yang akan dibuat adalah sebanyak 100 ml. Sehingga jumlah ibuprofen yang akan digunakan adalah  $100/3 \times 15 \text{ mg}$ . Hasil yang diperoleh adalah 500 mg atau sekitar 0,5 gr. Jadi konsentrasi larutan ibuprofen yang digunakan adalah 0,5%.

- c. Kelompok III dengan daging buah mahkota dewa kering seberat 2,5 gr. Berat daging buah mahkota dewa yang diperlukan untuk tikus putih dengan berat rata-rata 200 gram adalah  $0,018 \times 70/50 \times 2500 \text{ mg}$ . Hasil yang diperoleh adalah 63 mg/200 gr BB tikus.

Berat 200 gr tersebut merupakan standar tiap satu ekor tikus sehingga volume yang diperlukan adalah 3 ml sesuai dengan kapasitas lambung tikus. Berat yang dibutuhkan untuk membuat larutan sebanyak 100 ml adalah dosis untuk 1 tikus (mean BB 200 gr) dibagi volume dosis 1 ekor tikus dikali volume larutan yang secara matematis ditulis  $63 \text{ mg}/3 \text{ ml} \times 100 \text{ ml}$ . Hasil yang diperoleh adalah 2100 mg atau 2,1 gr. Jadi

konsentrasi infusa daging buah mahkota dewa untuk kelompok III adalah 2,1 %.

d. Kelompok IV dengan 2 kali dosis normal.

Berat daging buah mahkota dewa yang diperlukan untuk tikus putih dengan berat rata-rata 200 gram adalah  $0,018 \times 70/50 \times 5000$  mg. hasil yang diperoleh adalah 126 mg/200 gr BB tikus.

Berat 200 gr tersebut merupakan standar tiap satu ekor tikus sehingga volume yang diperlukan adalah 3 ml sesuai dengan kapasitas lambung tikus. Berat yang dibutuhkan untuk membuat larutan sebanyak 100 ml adalah dosis untuk 1 tikus (mean BB 200 gr) dibagi volume dosis 1 ekor tikus dikali volume larutan yang secara matematis ditulis  $126 \text{ mg}/3 \text{ ml} \times 100 \text{ ml}$ . Hasil yang diperoleh adalah 4200 mg atau 4,2 gr. Jadi konsentrasi infusa daging buah mahkota dewa untuk kelompok IV adalah 4,2 %.

e. Kelompok V dengan 4 kali dosis normal

Berat daging buah mahkota dewa yang diperlukan untuk tikus putih dengan berat rata-rata 200 gram adalah  $0,018 \times 70/50 \times 10000$  mg. hasil yang diperoleh adalah 252 mg/200 gr BB tikus.

Berat 200 gr tersebut merupakan standar tiap satu ekor tikus sehingga volume yang diperlukan adalah 3 ml sesuai dengan kapasitas lambung tikus. Berat yang dibutuhkan untuk membuat larutan sebanyak 100 ml adalah dosis untuk 1 tikus (mean BB 200 gr) dibagi volume dosis 1 ekor tikus dikali volume larutan yang secara matematis ditulis 252

mg/3 ml x 100 ml. Hasil yang diperoleh adalah 8400 mg atau 8,4 gr. Jadi konsentrasi infusa daging buah mahkota dewa untuk kelompok V adalah 8,4 %.

### 3. Pembuatan infusa daging buah mahkota dewa

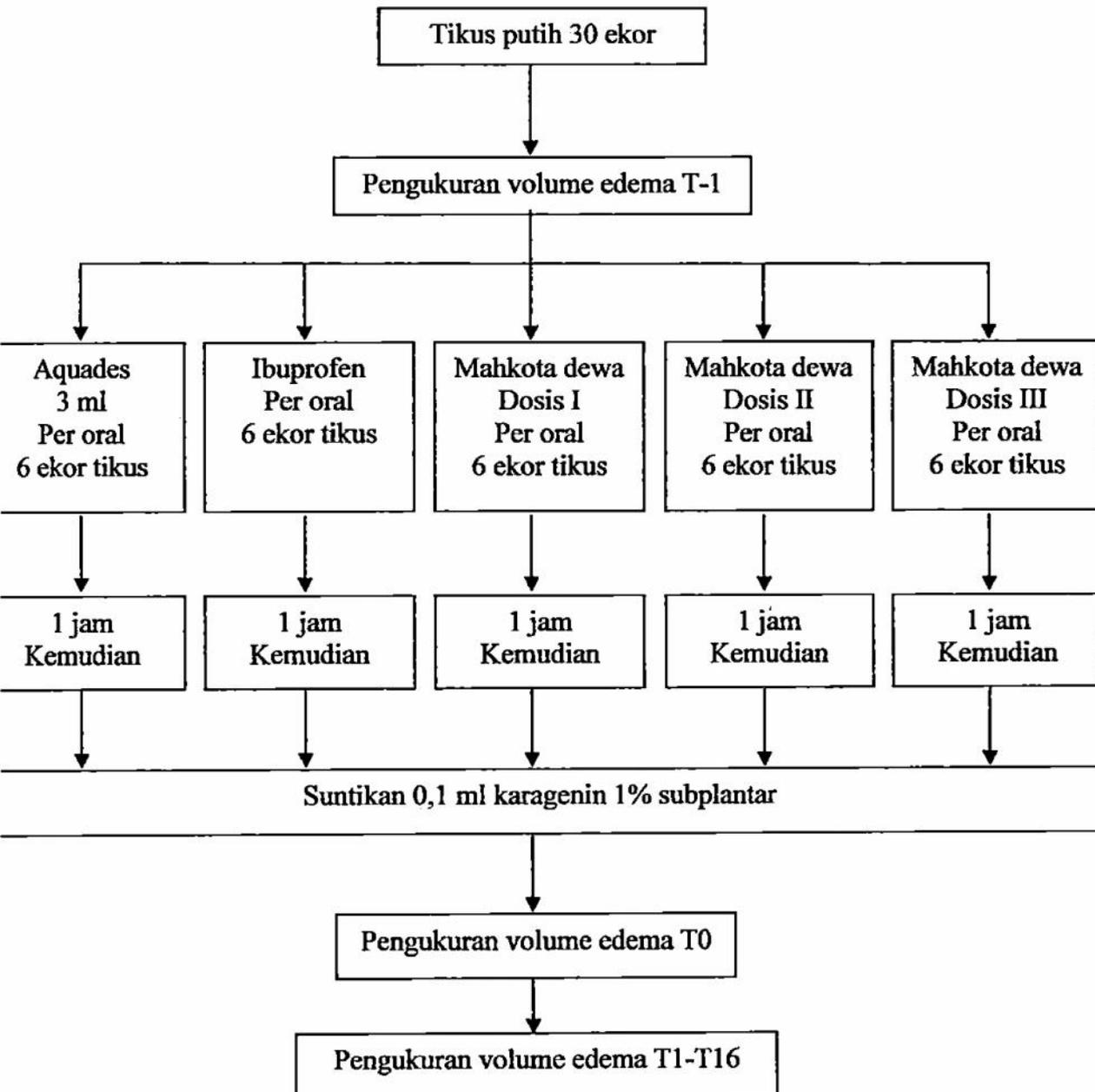
Sebelumnya, daging buah mahkota dewa matang diiris-iris halus tanpa mengenai bagian biji. Kemudian irisan dilakukan pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan cara dijemur atau dioven dan berlangsung sekitar 3-4 hari. Sebelum dijemur atau dioven, irisan daging buah dianginkan terlebih dahulu. Ciri khusus daging buah yang sudah kering adalah beratnya menyusut 70-80%. Setelah kering daging buah mahkota dewa disangrai selama 5 menit di atas api kecil untuk menghilangkan bakteri yang menempel selama penjemuran.

Infusa daging buah mahkota dewa dibuat dalam berbagai konsentrasi (dosis) dengan cara pengenceran. Cara pembuatan infusa daging buah mahkota dewa adalah sebagai berikut: campur 16,8 gram daging buah mahkota dewa kering yang telah dihaluskan sampai derajat kehalusan tertentu ke dalam panci dengan aquades sebanyak 200 ml. Dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit sambil sekali-sekali diaduk. Setelah dingin disaring dengan kertas saring dan ditambah aquades melalui ampas hingga diperoleh volume infusa sebanyak 200 ml, sehingga diperoleh konsentrasi harapan sekitar 8,4 % (dalam 100 ml). Dibuat pengenceran bertingkat sehingga diperoleh konsentrasi infusa 2,1 %, 4,2 %, dan 8,4 %.

#### 4. Perhitungan dosis karagenin

Karagenin ditimbang secara seksama lalu dilarutkan ke dalam NaCl 0,9% sampai volume tertentu (100 ml) hingga diperoleh konsentrasi 1%. Dosis yang diberikan adalah sebesar 0,1 ml (Winter et al, 1962).

#### H. Pelaksanaan Penelitian



Bagan 3. Skema pelaksanaan penelitian

## **I. Pengukuran hasil penelitian**

Alat yang digunakan untuk mengukur volume telapak kaki belakang tikus putih adalah pletismograph. Cara pengukurannya adalah dengan menandai kaki belakang tikus putih sebelah kanan sebatas lutut dan diukur volumenya dengan memasukkan telapak kaki tersebut sampai batas tanda di lutut ke dalam air raksa pada alat pletismograf. Volume edema adalah selisih volume telapak kaki tikus sebelum dan sesudah dibuat inflamasi dengan 0,1 ml karagenin 1%.

## **J. Validitas dan Reliabilitas**

Validitas suatu pengukuran menunjukkan keadaan alat ukur yang digunakan untuk pengukuran. Untuk mendapatkan uji validitas yang baik dalam penelitian ini, maka alat yang akan digunakan untuk pengukuran ditera terlebih dahulu. Pletismograf yang akan digunakan untuk mengukur volume telapak kaki tikus ditera di bagian air raksa pada skala 0 sebagai validitas alat ukur. Disamping itu perlu diperhatikan validitas pengukuran dengan baik dan teliti. Validitas pengukur juga perlu diupayakan dari peneliti dan petugas laboratorium yang sudah terlatih.

Reliabilitas menunjukkan sejauh mana hasil pengukuran tetap sama bila pengukuran dilakukan dua kali atau lebih terhadap gejala yang sama dan alat ukur yang sama. Untuk mendapatkan reliabilitas yang baik pada penelitian ini maka penghitungan dosis perlakuan, pengukuran volume telapak kaki tikus, pemberian perlakuan dengan bahan uji serta pencatatan dilakukan secara benar dan teliti.

## **K. Analisis Hasil Penelitian**

Untuk keperluan statistik, data yang diperoleh dari hasil penelitian dihitung dan diuji secara statistik dengan Anova dengan interval kepercayaan 95%. Dilanjutkan dengan pengujian hasil dengan menggunakan uji Post Hoc Analysis – Multiple Comparison tipe LSD. Data disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.