

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Untuk mengetahui potensi antiinflamasi serbuk bonggol nanas dengan melakukan pengukuran volume edema menggunakan gelas ukur pada tikus yang telah dibuat inflamasi dengan cara mengukur dan membandingkan ukuran kaki tikus sebelum dan sesudah dilakukan perlakuan dengan carrageenan 1% 0,1 ml (0.2 cc/ekor). Carrageen digunakan pada penelitian ini karena metode ini cukup efektif dan sering di gunakan untuk menilai inflamasi akut pada hewan coba.

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *pre dan post test dengan control group*. Karena dalam penelitian ini yang diamati adalah efek antiinflamasi yang diamati setelah diberi bahan serbuk bonggol nanas (bromelain) atau aspirin dan dibandingkan hasilnya dengan tikus tanpa perlakuan. Dalam penelitian ini, bahan yang akan diuji adalah serbuk bonggol nanas (bromelain) dan aspirin.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Hewan Coba

Populasi yang digunakan adalah tikus (*Rattus novergicus*) strain wistar yang diperoleh dari lab Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, berjenis kelamin betina, berumur 2-3 bulan dengan berat 150-200 gram.

4.2.2 Estimasi Jumlah Pengulangan

Penelitian ini dibagi dalam 5 kelompok perilaku, dan banyaknya anggota pada tiap kelompok perlakuan ditentukan menggunakan rumus sebagai berikut (Sastroasmoro, 1999):

$$\{(np-1)-(p-1)\} \geq p^2$$

$$\{(5n-1)-(5-1)\} \geq 5^2$$

$$(5n-1)-(4) \geq 25$$

$$5n-5 \geq 25$$

$$5n \geq 30$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

p = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah sampel tiap kelompok

Perkiraan jumlah sampel yang dibutuhkan adalah sebanyak 30 ekor tikus yang kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Jadi, setiap kelompok perlakuan terdiri dari 6 ekor tikus.

4.3 Variabel Penelitian

1. Variable bebas atau independennya adalah serbuk bonggol nanas dengan berbagai konsentrasi (dosis 1 10mg/kgBB, dosis 2 20mg/kgBB, dosis 3 40mg/kgBB),
2. Variable tergantung atau dependennya adalah volume edema dari pada telapak tikus inflamasi yang di ukur dengan gelas ukur.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dengan waktu pelaksanaan bulan 15 Juni – 26 Juli 2013.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang diperlukan antara lain:

- Serbuk bonggol nanas
- Aspirin
- Carrageen
- Alkohol 70%
- *tissue*

4.5.2 Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan antara lain:

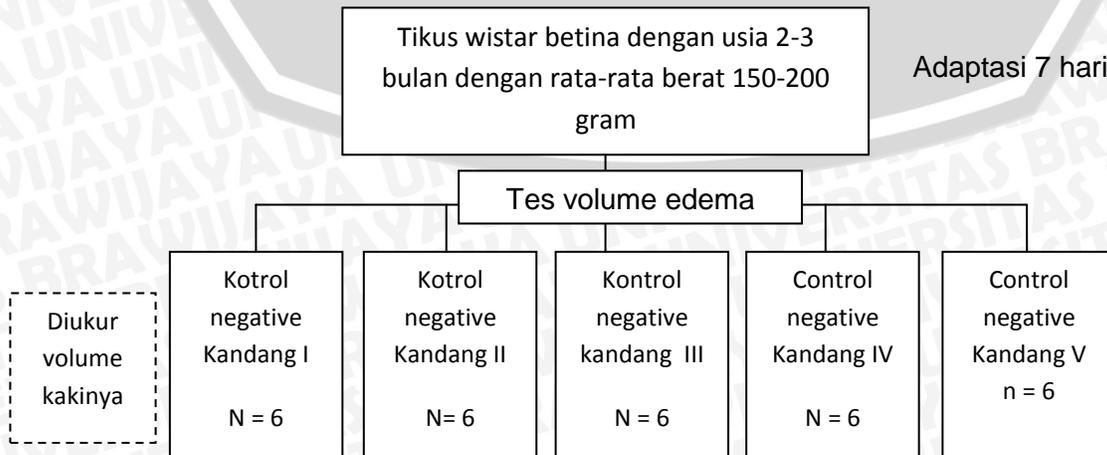
- Gelas ukur
- Kandang tikus (*Restricted cage*)
- Spuit
- Sonde
- *Rat fixator*
- Lakban
- Gunting
- 3 botol tempat bromelain, aspirin dan carrageen yang telah dilarutkan.

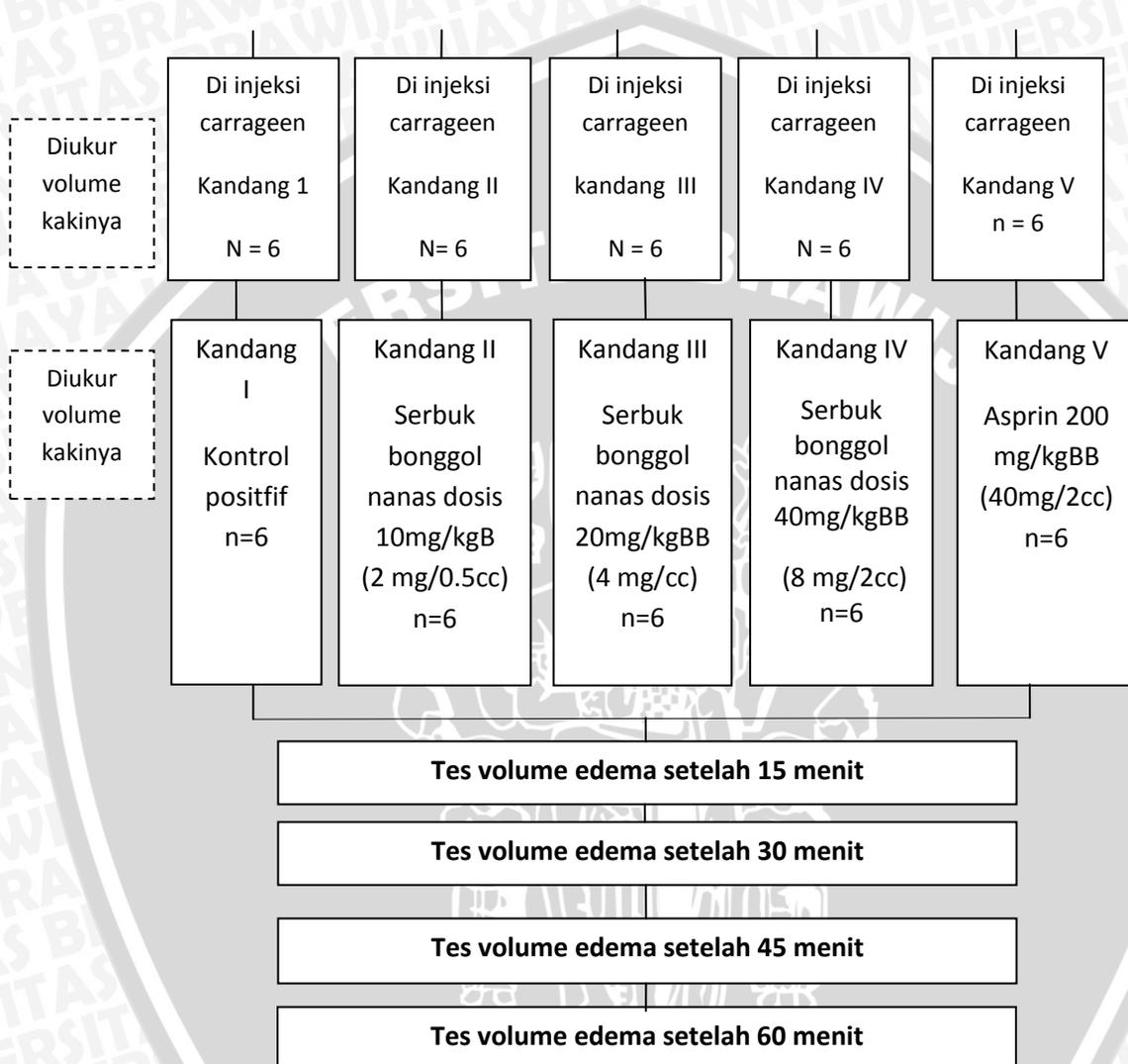
4.6 Definisi Operasional

1. Serbuk bonggol nanas adalah bagian tengah nanas yang biasanya dibuang dan tidak dikonsumsi, dilarutkan menggunakan air dengan penghitungan volume (lampiran 6). Bahan tersebut diperoleh dari PT GGP Terbang Besar Kabupaten Lampung Tengah Provinsi Lampung Indonesia.
2. Suspensi carrageen 1% 0.1 ml/gram (0.2cc/ekor) disuntikkan pada salah satu telapak kaki tikus secara subplantar untuk menginduksi inflamasi.
3. Aspirin yang digunakan dosisnya sebesar 200 mg/kgBB (Khatib *et al.*, 2010), Dilarutkan dengan air(lampiran 6).
4. Parameter reaksi inflamasi adalah volume pembengkakan telapak kaki tikus yang mengalami edema setelah disuntik dengan carrageen 1% 0,1 ml (0.2cc/ekor), volume edema diukur dengan cara mencelupkan kaki tikus kedalam measuring cylinder hingga batas atas malleolus lateral yang ditandai spidol.

4.7 Prosedur penelitian dan pengumpulan data

4.7.1 Skema rancangan penelitian





4.7.2 Proses adaptasi

Pengadaptasian hewan coba tikus dengan cara ditaruh dikandang yang terpisah tiap kandang atau kelompok, dimana setiap satu kandang berisi

6 tikus, diletakkan dalam laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang selama satu minggu.

4.7.3 Perlakuan

Terdapat 5 kelompok tikus perlakuan dalam penelitian ini, dengan pembagian sebagai berikut:

1. Pada kandang I adalah kelompok kontrol positif, Diukur volume edema terlebih dahulu sebagai kontrol negatif. Kemudian telapak kaki tikus dibuat inflamasi dengan menyuntikan larutan carrageen 0.1 ml/gram (0.2 cc/ekor tikus) secara subkutan dan diukur volume edema kakinya setelah 15, 30, 45, 60 menit disuntikan carrageen. Volume odemanya di ukur dengan menggunakan gelas ukur.
2. Pada kandang II adalah kelompok perlakuan yang diberi bromelain dengan dosis 10 mg/kgBB (2 mg/0.5 cc/ekor). diukur volume edema terlebih dahulu sebagai kontrol negatif, kemudian dibuat inflamasi secara subkutan pada telapak kaki belakang tikus dengan larutan carrageen 0.1 ml/gram (0.2 cc/ekor) dan diukur volume edemanya setelah 15 menit disuntikan carrageen. Selanjutnya diberi larutan bromelain dengan dosis 10 mg/kgBB (2 mg/0.5 cc/ekor), setelah itu dilakukan pengukuran volume edemanya pada menit 15, 30, 45, 60 setelah pemberian larutan bromelain dengan menggunakan gelas ukur.
3. Pada kandang III adalah kelompok perlakuan yang diberi

bromelain dengan dosis 20 mg/kgBB (4 mg/1cc/ekor). Diukur volume edema terlebih dahulu sebagai kontrol negatif, kemudian dibuat inflamasi secara subkutan pada telapak kaki belakang tikus dengan larutan carrageen 0.1 ml/gram (0.2 cc/ekor) dan diukur volume edemanya setelah 15 menit disuntikan carrageen. Selanjutnya diberi larutan bromelain dengan dosis 20 mg/kgBB (4 mg/1cc/ekor), setelah itu dilakukan pengukuran volume edemanya pada menit 15, 30, 45, 60 setelah pemberian larutan bromelain dengan menggunakan gelas ukur.

4. Pada kandang IV adalah kelompok perlakuan yang diberi bromelain dengan dosis 40 mg/kgBB (8 mg/2 cc/ekor). Diukur volume edema terlebih dahulu sebagai kontrol negatif, kemudian dibuat inflamasi secara subkutan pada telapak kaki belakang tikus dengan larutan carrageen 0.1 ml/gram (0.2 cc/ekor) dan diukur volume edemanya setelah 15 menit disuntikan carrageen. Selanjutnya diberi larutan bromelain dengan dosis 40 mg/kgBB (8 mg/2cc/ekor), setelah itu dilakukan pengukuran volume edemanya pada menit 15, 30, 45, 60 setelah pemberian larutan bromelain dengan menggunakan gelas ukur.
5. Pada kandang V adalah kelompok pembanding yang diberi aspirin dengan dosis 200 mg/kgBB (40 mg/2 cc/ekor). Diukur volume edema terlebih dahulu sebagai kontrol negatif, kemudian dibuat inflamasi secara subkutan pada telapak kaki belakang tikus

dengan larutan carrageen 0.1 ml/kgBB (0.2 cc/ekor) dan diukur volume edemanya setelah 15 meneit disuntikan carrageen . selanjutnya diberi aspirin dosis 200 mg/kgBB (40 mg/2cc/ekor), setelah itu dilakukan pengukuran volume edemanya pada menit 15, 30, 45, 60 setelah pemberian aspirin dengan menggunakan gelas ukur.

4.7.4 Proses Pengukuran Derajat Inflamasi

Penentuan hasil derajat inflamasi adalah dengan cara mengukur volume edema telapak kaki tikus sebelum dan sesudah dilakukan perlakuan untuk mengukur volume awal telapak kaki tikus diberi tanda dengan tinta spidol malleolus lateralnya, lalu dilakukan pengukuran awal dengan menggunakan gelas ukur dengan cara mencelupkan kaki tikus setinggi malleolus lateral tadi kedalam gelas ukur yang telah terisi air 20 ml.

4.8 Analisis Data

Hasil pengukuran derajat nyeri telapak kaki tikus di analisis secara statistik dengan menggunakan program SPSS 22 untuk windows dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dengan menggunakan uji statistik non parametrik.