

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

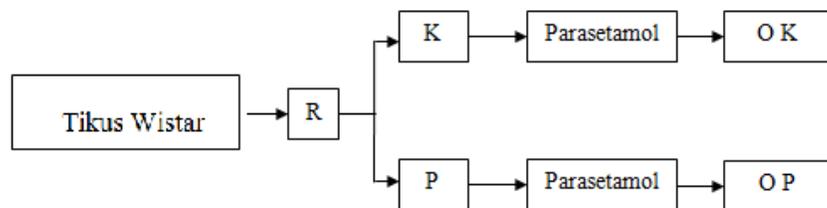
Penelitian ini adalah penelitian di bidang Ilmu Farmakologi dan Terapi

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro untuk pemeliharaan dan Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada untuk pemeriksaan kadar parasetamol. Penelitian dilakukan selama bulan Maret sampai dengan bulan Mei 2016.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini berjenis *true experimental* dengan *post test only control group design*.



Gambar 4. Rancangan Penelitian

Keterangan:

R :Randomisasi

- K :Kontrol (diet standar)
- P :Kelompok perlakuan yang diberi diet standar yang dicampur minyak goreng penggunaan berulang selama 8 minggu
- O K :Kadar parasetamol pada urin
- O P :Kadar parasetamol pada urin

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tikus jantan wistar.

3.4.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang terandomisasi yang dikandangkan secara individual dengan siklus pencahayaan 12 jam, suhu ruangan, mendapat makan dan minum *ad libitum*. Tikus wistar jantan dipilih karena tidak memiliki hormon estrogen yang mungkin dapat mempengaruhi hasil penelitian. Sampel yang digunakan memenuhi kriteria sebagai berikut:

3.4.2.1 Kriteria inklusi

- Tikus wistar jantan
- Berat badan tikus normal (150-220 gram)
- Usia 12 minggu sebelum adaptasi
- Kondisi sehat, aktif, dan tidak ada kelainan anatomis

3.4.2.2 Kriteria eksklusi

- Tikus mengalami penurunan berat badan (<100 gram)
- Tikus tidak bergerak secara aktif
- Tikus mengalami perubahan perilaku (tidak mau makan, lemas)
- Tikus mati selama masa penelitian

3.4.2.3 Cara sampling

Sampel penelitian diperoleh secara *simple random sampling*.

3.4.2.4 Besar sampel

Besar sampel ditentukan berdasarkan kriteria WHO yaitu minimal 5 ekor tiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 7 ekor tikus wistar jantan untuk setiap kelompok.

Pada penelitian ini terdapat satu kelompok kontrol dan satu kelompok perlakuan, sehingga berdasarkan kriteria tersebut total sampel pada penelitian ini adalah 14 ekor tikus wistar jantan.

3.5 Variabel penelitian

3.5.1 Variabel bebas

- 1) Minyak goreng penggunaan berulang

3.5.2 Variabel terikat

- 1) Kadar parasetamol pada urin

3.6 Definisi operasional

Tabel 2. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional dan Cara Pengukuran	Unit	Skala
1	Diet minyak goreng penggunaan berulang	Minyak goreng yang digunakan adalah minyak goreng curah. Proses pemanasan dimulai dengan memasukkan 2500 mL minyak goreng segar ke dalam ketel untuk menggoreng 1 kg kentang yang telah dikupas dengan suhu 180°C selama 10 menit. Kemudian didiamkan pada suhu ruangan selama lima jam dan diulang sampai pemanasan ke-5. Minyak yang digunakan untuk pengulangan adalah minyak yang sama. Setelah pemanasan ke-5, minyak didinginkan kemudian dicampur dengan pallet BR2 dengan perbandingan 100:15. Pellet hasil campuran yang telah kering kemudian diberikan <i>ad libitum</i> pada kelompok perlakuan P dengan takaran 20 gram/tikus/hari pada pagi hari. Setiap pagi hari yang berikutnya dilakukan pengukuran	Gram	Nominal

		sisa pellet untuk mengetahui banyaknya pellet yang telah dikonsumsi		
2	Kadar parasetamol	Pengukuran kadar parasetamol pada urin menggunakan metode Spektrofotometer UV	mg/mL	Rasio

3.7 Cara pengumpulan data

3.7.1 Bahan

- 1) Tikus wistar jantan
- 2) Pellet BR2
- 3) Minyak goreng curah
- 4) Kentang
- 5) Etil asetat
- 6) Metanol
- 7) Baku pembanding parasetamol
- 8) Parasetamol generik
- 9) Aquades

3.7.2 Alat

- 1) Gelas laboratorium
- 2) Timbangan analitik
- 3) Kandang hewan uji
- 4) Pipa
- 5) Effendrof

- 6) Spektrofotometer UV
- 7) Sentrifuge
- 8) Mikropipet
- 9) Hot plate
- 10) Holder
- 11) *Vortex mixer*
- 12) Oven
- 13) Termometer

3.7.3 Jenis data

Kadar parasetamol pada urin setelah pemberian diet minyak goreng penggunaan berulang merupakan data primer.

3.7.4 Cara kerja

- 1) Pembuatan minyak goreng penggunaan berulang

Minyak goreng yang digunakan adalah minyak goreng curah. Proses pemanasan dimulai dengan memasukkan 2500 mL minyak goreng segar ke dalam ketel untuk menggoreng 1 kg kentang yang telah dikupas dengan suhu 180°C selama 10 menit. Kemudian didiamkan pada suhu ruangan selama lima jam dan diulang sampai pemanasan ke-5. Minyak yang digunakan untuk pengulangan adalah minyak yang sama. Setelah pemanasan ke-5. Minyak yang digunakan untuk pengulangan adalah minyak yang sama. Setelah pemanasan ke-5, minyak didinginkan kemudian dicampur dengan pallet BR2 dengan perbandingan berat pallet dengan minyak adalah 100:15.

Pellet hasil campuran yang telah kering kemudian diberikan *ad libitum* pada kelompok perlakuan P dengan takaran 20 gram/tikus/hari pada pagi hari. Setiap pagi hari yang berikutnya dilakukan pengukuran sisa pallet untuk mengetahui banyaknya pallet yang dikonsumsi tikus.

2) Penetapan panjang gelombang maksimum parasetamol

Digunakan larutan baku parasetamol dengan kadar 6 ppm dan diukur resapannya pada panjang gelombang 200 nm sampai 300 nm.

3) Pembuatan kurva baku parasetamol

Ditimbang baku pembanding parasetamol sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan metanol 15 mL dalam gelas beaker, larutan dimasukkan kedalam labu takar 100 mL kemudian ditambahkan akuades hingga 100 mL dan diperoleh larutan induk baku para-setamol dengan kadar 10 mg/100 mL atau setara dengan 100 ppm. Dari larutan induk tersebut dibuat variasi konsentrasi sebesar 4, 6, 8, 10, 12 dan 14 ppm.

4) Linearitas dan rentang

Dihitung Persamaan regresi linear parasetamol menggunakan model²⁸: $y=bx+a$.

5) Pengambilan cuplikan

Dua ekor tikus jantan dipuasakan selama 18 jam kemudian diberi larutan parasetamol dosistunggal 12,5 mg/200 gBB secara oral (konversi dari dosis perasetamol dewasa dengan tabel konversi perhitungan dosis antar jenis hewan, Laurence dan Bacharach).^{29,30} Sample urin diambil setelah penampungan selama 24 jam dan volume urin dicatat. Sampel urindiproses

sesuai dengan prosedur penetapan kadar parasetamol dalam urin yang digunakan pada penelitian ini.

6) Perlakuan terhadap hewan coba

Seluruh hewan coba dikandangkan secara individual di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Sebelum perlakuan, wistar diadaptasikan selama 7 hari dengan diberi diet dan minum standar yang sama setiap harinya secara *ad libitum*.

Pada hari ke-8, wistar dibagi secara acak ke dalam 2 kelompok:

K : Tikus wistar mendapat diet standar *ad libitum*

P : Tikus wistar mendapat diet minyak jelantah selama 8 minggu

Setelah 8 minggu, hewan uji dipuaskan selama 18 jam, kemudian diberikan parasetamol tunggal secara oral sebanyak 12,5 mg/200gBB.²⁹ Kemudian tikus ditempatkan ke dalam metabolit case untuk penampungan urin. Pengambilan sampel urin lakukan dengan mengambil urin setelah penampungan selama 24 jam.

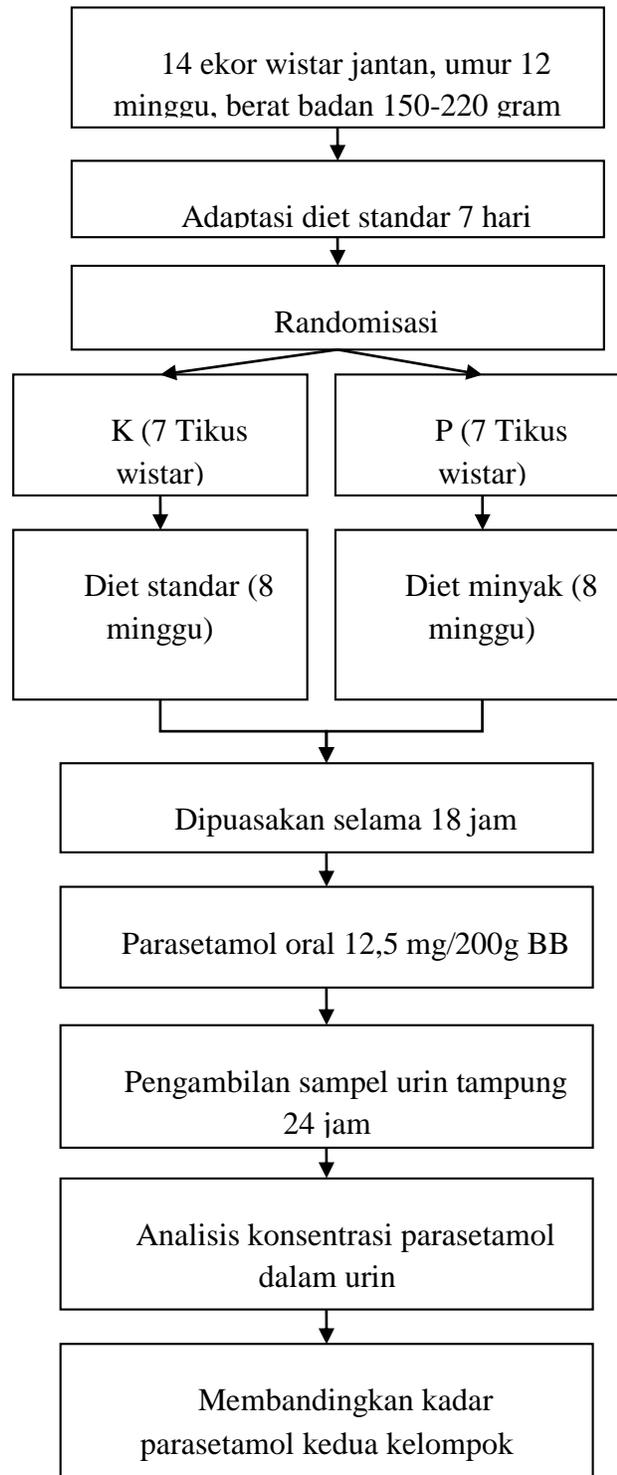
3.7.5 Pengambilan Data

Penetapan kadar parasetamol dalam urin

Urin sebanyak 1 mL disentrifugasi selama 5 menit kecepatan 2500 RPM, diambil beningan. Beningan ditambahkan dengan 2 mL etil asetat kemudian divortex, bagian beningannya diambil, diuapkan etil asetatnya sampai diperoleh residu parasetamol. Residu dilarutkan kembali dengan 2 mL metanol, diukur absorbansi larutan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV pada panjang gelombang yang didapatkan dari hasil

penetapan panjang gelombang maksimum parasetamol.³⁰ Dari data absorbansi, didapatkan kadar parasetamol murni dalam urin.

3.8 Alur penelitian



Gambar 5. Alur penelitian

3.9. Analisis data

Data pada penelitian ini dianalisis menggunakan program komputer. Normalitas distribusi data diuji dengan uji *Saphiro-Wilk*. Kesamaan varians data diuji dengan uji varians (*Levene's test*). Jika syarat uji parametrik terpenuhi, uji perbedaan pengaruh dari masing-masing kelompok perlakuan dianalisis menggunakan uji t tidak berpasangan. Jika syarat uji parametrik tidak terpenuhi, dilakukan transformasi data. Apabila syarat uji parametrik masih tidak terpenuhi, maka dilakukan uji non parametrik *Mann Whitney*.

3.10 Etika penelitian

Ethical clearance diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang/RSUP Dr. Kariadi.