

III. MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 26 Januari 2024 – 26 Februari 2024 bertempat di Laboratorium Farmakologi, Terapetika Veteriner dan Farmasi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya serta pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang pemeliharaan hewan coba, tempat makan dan minum hewan coba, eppendorf 3 cc, spidol permanen, kertas label, mortar dan stemper, pengaduk, botol, gelas ukur, spuit 3 cc, sonde oral, alat bedah minor, tabung reaksi, tissue, *hand gloves*, masker, coolbox, lap kering, timbangan analitik, strip dipstick reagen dan Urit-50 *Urine Analyzer*.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan pellet rat, sekam, parasetamol 500mg, CMC Na, aquadest, air, sampel urine.

3.2.3 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini yakni menggunakan hewan coba tikus putih galur *Sprague Dawley*, yang memiliki jenis kelamin jantan dan berumur kurang lebih enam bulan dengan berat badan kurang lebih 200-300 gram.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penggunaan dosis parasetamol akut dengan pengulangan dan masing – masing perlakuan dengan teknik pengambilan sampel dilakukan secara keseluruhan. Perhitungan rata – rata rumus Federer sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 t (n - 1) & \geq 15 \\
 3 (n - 1) & \geq 15 \\
 3n - 3 & \geq 15 \\
 3n & \geq 15 + 3 \\
 N & \geq 18 : 3 \\
 N & \geq 6
 \end{aligned}$$

Keterangan = n = Ulangan, t = Kelompok

Jumlah ulangan menurut rumus Federer di atas adalah 6 ulangan.

Sedangkan untuk jumlah sampel tikus yang digunakan dalam penelitian ini yakni:

$$N = 6 \times 3$$

$$N = 18$$

Jadi sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini yakni 18 ekor tikus.

3.3.2 Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan tiga variable, yaitu variabel bebas, variabel terikat dan variabel kendali, yakni sebagai berikut:

- a. Variabel bebas : Dosis Pemberian parasetamol dosis 250 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB
- b. Variabel terikat : Nilai kimia urin dengan parameter kadar glukosa dan kadar bilirubin dalam urin
- c. Variabel kendali : Umur, berat badan, ras dan jenis kelamin tikus coba dan pakan

3.4 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini dengan menggunakan sampel urin. Pengambilan sampel urin harus sesuai yakni urin tidak terkontaminasi dengan kuman dan keadaan normal urin tidak mengandung bakteri, virus atau organisme lainnya (Brunzel., 2013). Proses pengambilan urin menggunakan manual dengan memijat bagian abdomen tikus *Sprague dawley* dan juga dilakukan laparatomi untuk diambil langsung pada bagian vesika urinari. Masing – masing urin ditampung pada eppendrof yang dilakukan pada setiap hewan coba dan diberi label masing – masing perlakuan dan hewan coba. Setelah sampel urin diambil kemudian dikoleksi kedalam wadah penyimpanan urin dan disimpan dalam coolbox dan dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba tikus putih dengan galur *Sprague Dawley* yang diperoleh dari Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma

Surabaya telah dilakukan aklimasi sebelumnya. Selama proses aklimasi hewan diberikan makan pellet yang diberikan 2 kali sehari dan minum secara ad libitum. Hewan coba ditempatkan di masing – masing kandang sesuai dengan masing – masing perlakuan pengujiannya.

3.5.2 Pembuatan Parasetamol Dosis 250 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB

Pembuatan parasetamol dengan dosis masing – masing 250 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB dengan menggunakan parasetamol tablet 500mg yang disesuaikan dengan berat badan tikus hewan coba dan digerus menggunakan mortar dan stemper. Menggunakan berat badan secara rerata 250 gram pemberian setiap hari. Maka dilakukan pengenceran pada parasetamol tablet 500mg dengan menggunakan aquadest sebagai pelarut dan penambahan CMC Na 0,1% sebagai pengental sediaan oral.

a. Perhitungan Dosis Parasetamol 250 mg/kg BB

$$\text{Parasetamol} = 250 \text{ mg} \times 250 \text{ gr} : 1.000 = 62,5 \text{ mg}$$

Diberikan selama 10 hari pertama yakni 625 mg ke kelompok penelitian dengan jumlah satu kelompok 6 tikus maka didapatkan hasil 3.750 mg.

$$\text{Penambahan aquadest sebagai pelarut} = 1 \text{ ml} \times 6 \text{ hari} \times 6 \text{ tikus} = 36 \text{ ml.}$$

Penambahan CMC Na sebagai pengental = $0,1 : 100 \times 36 \text{ ml} = 0,036 \text{ ml}$
atau 36 mg.

Semua bahan dicampur dan dimasukkan kedalam pot botol yang diberi label sesuai dosis masing – masing.

b. Perhitungan Dosis Parasetamol 400 mg/kg BB

$$\text{Parasetamol} = 400 \text{ mg} \times 250 \text{ gr} : 1.000 = 100 \text{ mg}$$

Diberikan selama 10 hari pertama yakni 1.000 mg ke kelompok penelitian dengan jumlah satu kelompok 6 tikus maka didapatkan hasil 6.000 mg.

$$\text{Penambahan aquadest sebagai pelarut} = 1 \text{ ml} \times 6 \text{ hari} \times 6 \text{ tikus} = 36 \text{ ml.}$$

Penambahan CMC Na sebagai pengental = $0,1 : 100 \times 36 \text{ ml} = 0,036 \text{ ml}$ atau 36 mg.

Semua bahan dicampur dan dimasukkan kedalam pot botol yang diberi label sesuai dosis masing – masing.

3.5.3 Pemberian Parasetamol

Pemberian parasetamol dengan dosis masing – masing 250 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB diberikan dengan cara pemberian rute secara per oral ke setiap hewan coba per kelompok. Dengan menggunakan 3 ml parasetamol terlarut sonde per oral. Pemberian pada tikus dilakukan setiap hari pada setiap tikus sesuai dengan kelompok perlakuan selama 10 hari.

3.5.4 Penentuan Kelompok Penelitian

Pembagian kelompok perlakuan dari penelitian ini adalah dengan 3 perlakuan dengan masing – masing 9 kali pengulangan terdiri dari:

- a. Perlakuan I (Kontrol) : tidak ada perlakuan pemberian parasetamol

- b. Perlakuan II (P2) : Dosis paracetamol 250 mg/kg
BB
- c. Perlakuan III (P3) : Dosis paracetamol 400 mg/kg
BB

3.5.5 Pengujian dan Pengukuran Kadar Glukosa dan Bilirubin

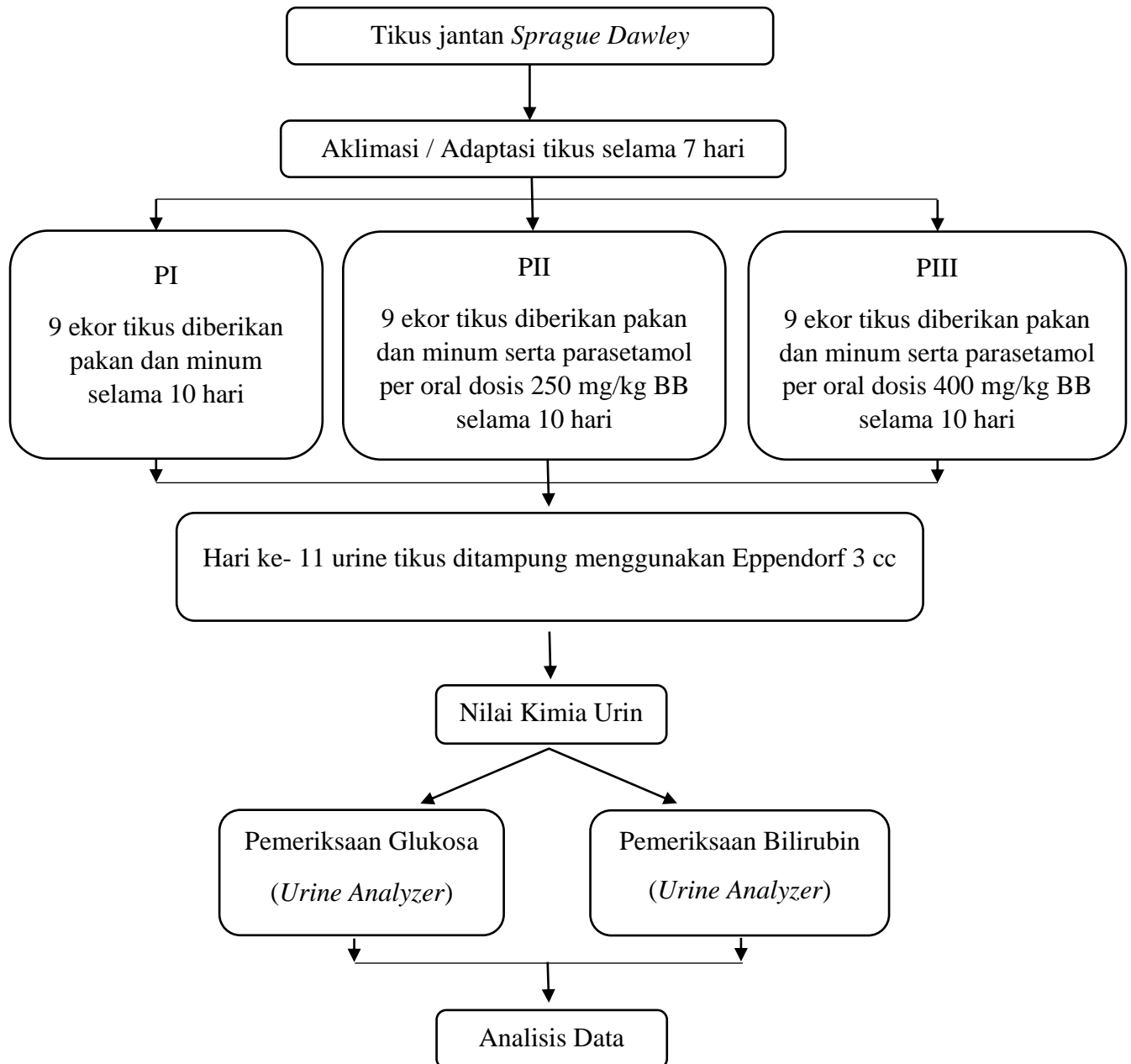
Pengujian dan pengukuran kadar glukosa dan bilirubin dilakukan pada urine yang telah di tampung pada eppendorf 3 cc. Metode yang digunakan adalah metode pengujian parametrik dengan menggunakan strip dispstik reagen dengan pembacaan *urine analyzer* URIT-50.

Alat *urine analyzer* URIT-50 melihat hasil dengan menggunakan urin strip, pembacaan dengan alat dan pencelupan kertas indikator ke dalam urin masih dengan manual. Beberapa model urin analyzer terdiri dari urin strip readers. Tipe alat dari fotometer reflektansi yang dapat membaca sampel urin. Urin analyzer membaca strip pada kondisi strandar, menyimpan hasil dan menampilkan melalui printer bluit-in dan serial interface pada alat. Urine analyzer menstandarisasi hasil urin test strip dengan menghilangkan faktor pengecekan secara visual pada strip test urin (Saputra., 2020).

3.5.6 Terminasi Hewan Coba

Terminasi dilakukan pada akhir percobaan dengan diskolasi cervicalis dan dilakukan bedah minor laparotomi untuk di ambil langsung pada bagian vesika urinaria masing – masing tikus sesuai label yang tersedia.

3.6 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 3.1. Kerangka Penelitian

3.7 Analisis Data

Berdasarkan dari masing – masing kelompok perlakuan tikus yang diteliti maka data hasil akan dikumpulkan dan dimasukkan dalam bentuk tabel. Data yang diperoleh di analisis dengan menggunakan uji data parametric *one way* ANOVA dengan rancangan acak lengkap. Hasil data dianggap bermakna atau berpengaruh dengan taraf kepercayaan ($P < 0,05$). Selanjutnya, untuk menentukan perbedaan data masing – masing kelompok digunakan metode *Duncan*.