

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tablet paracetamol generik dan 2 merk dagang paracetamol.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah obat paracetamol generik, paracetamol merk dagang A (harga murah) dan paracetamol merk dagang B (harga mahal) yang diperoleh dari apotek yang berada di kecamatan Banjarsari kota Surakarta provinsi Jawa Tengah.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Isinya memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama dalam penelitian ini adalah obat paracetamol generik dan 2 merk dagang paracetamol yang diberikan pada mencit putih jantan yang diinduksi asam asetat.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel bebas penelitian ini adalah tablet paracetamol generik, paracetamol merk dagang A, dan paracetamol merk dagang B yang diberikan pada mencit putih jantan.

Variabel tergantung penelitian ini adalah efek analgetik pada mencit putih jantan.

##### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan berat sekitar 20-30 gram yang berumur 2-3 bulan.

Kedua, nyeri yang timbul pada mencit adalah berupa geliat atau respon yang ditandai dengan abdomen mencit menyentuh dasar tempat berpijak dan kedua pasang kaki ditarik kebelakang.

Ketiga, asam asetat adalah suatu zat kimia yang digunakan sebagai indikator nyeri yang diberikan dengan cara disuntikkan melalui rongga perut (*Intra Peritoneal*).

Keempat, Na CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) adalah bahan kimia yang digunakan untuk mengemulsi tablet paracetamol generik dan 2 merk dagang paracetamol.

Kelima, obat analgetik adalah obat yang digunakan untuk mengurangi atau menghilangkan rasa sakit atau obat-obat penghilang nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Contohnya paracetamol, ibuprofen, asam mefenamat.

Keenam, paracetamol adalah obat analgetik yang paling sering digunakan dikalangan masyarakat. Mekanisme kerja obat ini adalah menghambat enzim siklookksigenase yang akan mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin sehingga menghasilkan efek analgesik yang lebih baik.

Ketujuh, obat generik adalah obat yang telah habis masa patennya, sehingga dapat diproduksi oleh semua perusahaan farmasi tanpa harus membayar royalti.

Kedelapan, obat bermerek dagang adalah obat generik dengan nama dagang yang menggunakan nama milik produsen obat yang bersangkutan.

Kesembilan, paracetamol generik adalah obat generik yang mengandung zat aktif Parasetamol dan digunakan untuk meredakan demam dan rasa nyeri atau sakit kepala.

Kesepuluh, merek dagang paracetamol adalah obat dengan zat aktif paracetamol dengan nama dagang yang menggunakan nama milik produsen obat yang bersangkutan dan digunakan untuk meredakan demam dan rasa nyeri atau sakit kepala..

Kesebelus, efek analgetik adalah kemampuan yang dimiliki untuk mengurangi rasa nyeri dengan ditandai adanya penurunan jumlah geliat pada hewan uji yang telah diinduksi asam asetat.

Keduabelas, efektif adalah suatu kondisi di mana dosis atau konsentrasi obat dapat menghasilkan respons biologis.

## C. Bahan dan Alat

### 1. Bahan

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah tablet paracetamol generik, paracetamol merek dagang A (harga murah), paracetamol merek dagang B (harga mahal), asam asetat, Na CMC, dan aquadest. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan dengan berat antara 20-30 gram dan berumur sekitar 2-3 bulan, hewan uji tersebut diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi Surakarta.

## 2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : kandang mencit, stopwatch, batang pengaduk, beaker glass, gelas ukur, sarung tangan, neraca analitik, sonde oral, jarum suntik.

## D. Jalannya Penelitian

### 1. Tahap persiapan hewan uji

Mencit diadaptasikan dengan lingkungan kandang di Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi Surakarta selama 7 hari, hal ini bertujuan untuk mengadaptasi mencit terhadap lingkungan tempat tinggalnya, mengontrol kesehatan dan berat badan serta keseragaman makanan. Pada hari pertama pengujian mencit ditimbang dan kemudian dikelompokkan secara random menjadi 4 kelompok dengan jumlah 4 ekor per kelompok.

### 2. Tahap pembuatan suspensi Na CMC 0,5%

Serbuk Na CMC ditimbang sebanyak 0,25 gram, menyiapkan mortir yang diberi 50 mL air panas. Kemudian ditaburkan Na CMC diatas air panas sedikit demi sedikit hingga mengembang sambil diaduk. Na CMC 0,5% yang dioralkan yaitu 0,5 mL/20 g BB mencit.

### 3. Tahap pembuatan larutan asam asetat 2%

Pembuatan larutan asam asetat 2% dilakukan dengan pengenceran asam asetat 98% menjadi asam asetat 2%. Didapatkan hasil perhitungan 1,02 mL, yang berarti 1,02 mL asam asetat dengan konsentrasi 98% diambil dengan pipet, kemudian dilarutkan dalam aquadest hingga volume 50 mL. Pemberian asam asetat diberikan secara intra peritoneal. Dosis asam asetat yang digunakan untuk mencit adalah 100 mg/kg BB.

### 4. Pembuatan suspensi paracetamol

Serbuk Na CMC ditimbang sebanyak 0,50 gram, disiapkan mortir yang diberi 100 mL air panas. Kemudian ditaburkan Na CMC diatas air panas sedikit demi sedikit hingga mengembang sambil diaduk. 2 tablet (1000 mg) paracetamol digerus, kemudian dimasukkan dalam suspensi Na CMC aduk sampai homogen. Dosis yang akan digunakan yaitu dengan sediaan 1000 mg. Konversi dosis manusia dengan berat badan 70 kg ke mencit adalah 0,0026. Jika berat badan mencit 20 gram, maka dosis paracetamol yang diberikan =  $1000 \text{ mg} \times 0,0026 = 2,6 \text{ mg}/20 \text{ g BB mencit}$ .

## 5. Tahap percobaan uji efek analgetik

Sebelum digunakan sebagai hewan uji, mencit diadaptasikan terlebih dahulu dengan lingkungan kandang di Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi Surakarta selama 7 hari. Pada saat hari pengujian, mencit dipuaskan selama 8-12 jam sebelum perlakuan, tetapi tetap diberi minum dengan tujuan agar kondisi hewan uji sama dan mengurangi pengaruh makanan yang dikonsumsi (Ponggele *et al*, 2013). Masing-masing mencit ditimbang, setelah itu dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok yang dimana masing-masing kelompok terdiri dari 4 mencit. Kemudian mencit diberikan obat sesuai dengan pengelompokan yang telah ditentukan dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diberikan rangsangan kimia berupa asam asetat 2% untuk menimbulkan efek nyeri pada mencit, nyeri timbul berupa respon geliat yang dilakukan oleh mencit. Hitung jumlah geliat mencit tiap selang waktu 10 menit selama 60 menit.

Berikut ini adalah pembagian kelompok hewan uji dalam penelitian :

**Tabel 2. Pembagian kelompok hewan uji**

No.	Kelompok perlakuan	Jumlah mencit	Perlakuan
1	Kontrol nyeri	4 ekor	Diberikan perlakuan Na CMC 0,5%
2	Tablet paracetamol generik	4 ekor	Suspensi paracetamol generik dengan dosis 2,6 mg/20 g BB mencit
3	Tablet paracetamol merek dagang A dengan harga murah	4 ekor	Suspensi paracetamol merek dagang A (harga murah) dengan dosis 2,6 mg/20g BB mencit
4	Tablet paracetamol merek dagang B dengan harga mahal	4 ekor	Suspensi paracetamol merek dagang B (harga mahal) dengan dosis 2,6 mg/20 g BB mencit

Menghitung waktu respon geliat mencit, dengan rumus waktu respon setelah diberi perlakuan dikurangi waktu respon sebelum diberi perlakuan. Kemudian dihitung AUC (*Area under the curve*) dengan rumus :

$$AUC_{n-1}^n = \frac{Wtn-1 + Wtn}{2} \times (t_{n-1} - t_n)$$

Keterangan :

Wtn-1 : Waktu respon data per ekor pada tn-1

Wtn : Waktu respon data per ekor pada tn

Persentase peningkatan hambat nyeri yang dihitung dengan rumus :

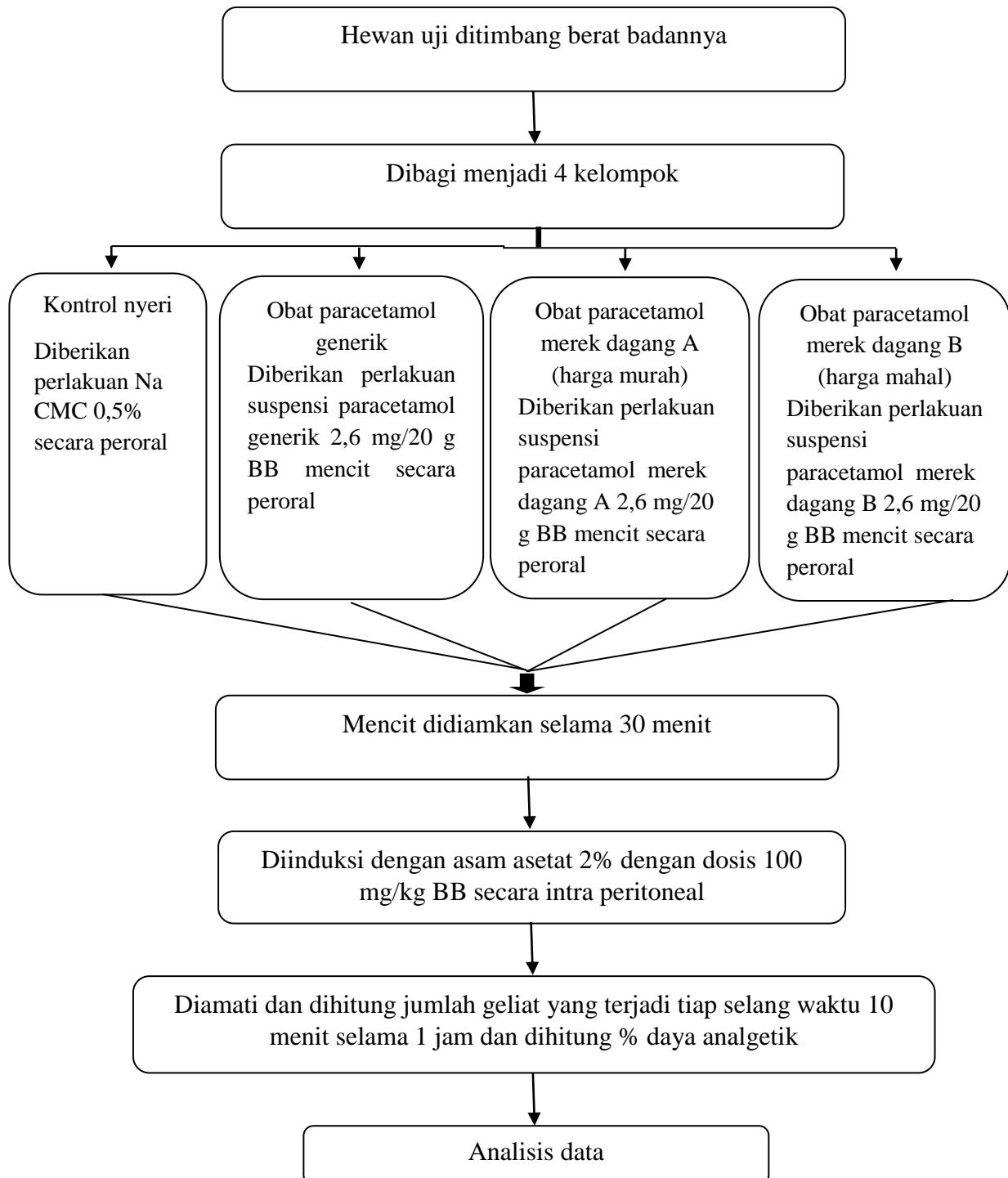
$$\frac{AUC_p - AUC_k}{AUC_p} \times 100\%$$

Keterangan :

AUC p : AUC kurva respon rata-rata terhadap waktu kelompok perlakuan

AUC k : AUC kurva respon rata-rata terhadap waktu kelompok kontrol negatif

### E. Alur Uji Analgetik



**Gambar 2. Alur uji analgetik paracetamol pada mencit putih jantan (*Mus musculus*)**

### **E. Analisis Hasil**

Data hasil penelitian berupa jumlah reflek geliat pada tiap keompok yang diberi perlakuan yang disajikan dalam bentuk tabel. Dilakukan uji awal menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui data yang diteliti terdistribusi normal, setelah data terdistribusi normal dilanjutkan dengan *Test of Homogeneity of Variances* untuk mengetahui data tersebut homogen atau tidak. Kemudian dilanjut dengan uji analisis varian (ANAVA) untuk mengetahui apakah data tersebut ada perbedaan yang signifikan. Jika hasil uji ANAVA signifikan, dilanjutkan uji *post hoc test* menggunakan *Tukey B*.