

3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Penelitian ini merupakan penelitian bersarang (*nested*) dari penelitian yang dilakukan bersama untuk jenis paparan obat yang berbeda. Oleh karena itu, jumlah kelompok perlakuan dan penentuan besar sampel dalam penelitian ini merupakan gabungan hasil perhitungan dari semua kelompok bersarang yang tergabung dalam penelitian bersama. Dalam penelitian ini, peneliti mengelompokkan perlakuan pada tikus menjadi 14 kelompok:

3.2 Alat dan Bahan

Hewan coba

- Tikus Sprangue Dawley jantan berat badan 150-200 gram, usia 3 bulan

Alat

- Kandang tikus
- Sonde
- Benang *catgut* dan jarum ukuran 3.0
- Peralatan bedah minor (*minor set*)
- *Cotton bud*
- *Scanner* Canon CanoScan 3200
- Papan *Styrofoam*

Bahan

- *8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide* (MP Biomedical CAT NO: 190239; LOT NO. 1560F)
- Asam asetat glacial
- NaCl 0,9%
- *Povidone iodine*
- Formalin
- Ether
- Indometasin

3.3 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Animal House Skill Lab Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada bulan Maret 2007 – September 2008, dengan rincian sebagai berikut: penyelesaian proposal dan perencanaan pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Maret 2007 – Januari 2008, pelaksanaan eksperimen dilakukan pada bulan Maret 2008 – Agustus 2008, pengolahan dan analisis data dilakukan pada bulan Agustus 2008 – Desember 2008, dan pembuatan laporan dilakukan pada bulan Januari 2009 – Juni 2009.

3.4 Populasi dan Sampel

Populasi dan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak memenuhi kriteria eksklusi.

3.5 Kriteria Sampel

3.5.1 Kriteria Inklusi

- Sampel telah dipuasakan selama 24 jam sebelum pembuatan ulkus
- Tikus jantan dengan berat badan 150 – 200 gram, usia 3 bulan

3.5.2 Kriteria Eksklusi

- Tidak terbentuk ulkus pada lambung tikus
- Terjadi perforasi
- Terdapat penyakit penyerta pada sampel
- Terjadi perdarahan pada lambung
- Tikus mati sebelum dilakukan pemeriksaan

3.6 Besar Sampel

Penentuan jumlah sampel menurut FREDERER:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

t = kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan

Berdasarkan rumus diatas, dengan $t = 14$, didapatkan jumlah sampel pada percobaan ini:

$$(14-1)(n-1) \geq 15$$

$$(n - 1) \geq 2,15$$

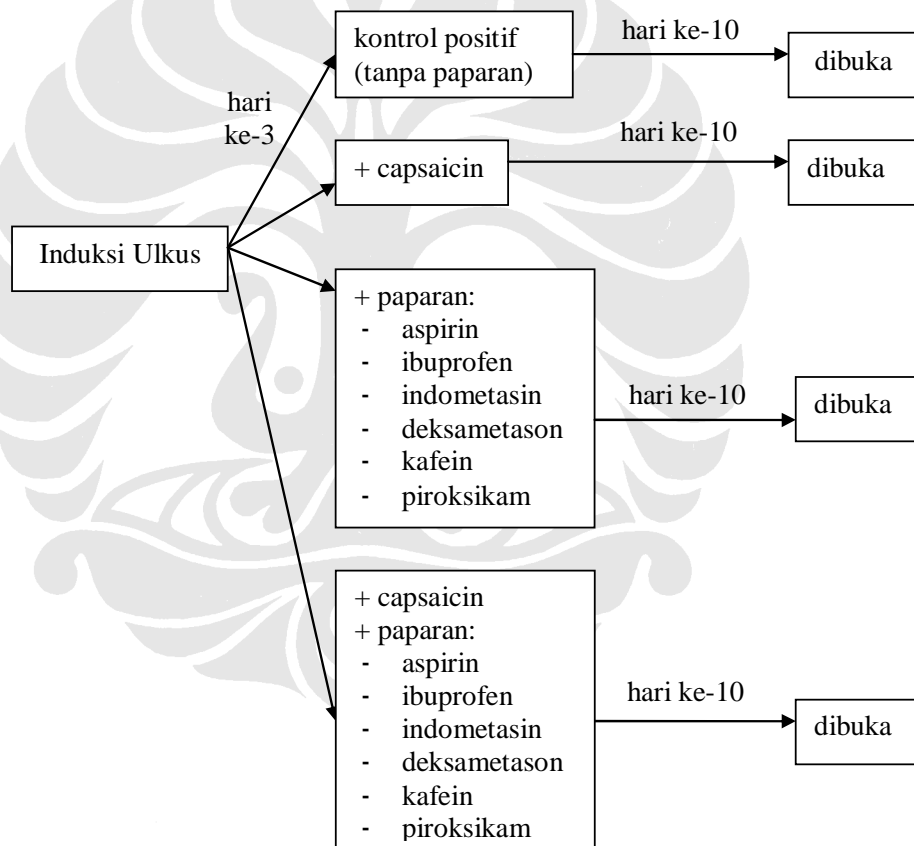
$$n \geq 2,15$$

$$n = 3$$

$$\text{Besar sampel (N)} = t \times n$$

$$= 14 \times 3$$

$$= 42 \text{ ekor tikus}$$



3.7 Cara Kerja

3.7.1 Prosedur Pembuatan Ulkus

- Tikus dipuasakan selama 24 jam
- Peralatan bedah steril disiapkan

- Tikus yang telah dipuasakan, dibius dengan ether
- Tikus difiksasi pada papan fiksasi
- Dilakukan tindakan aseptis dengan pemberian *povidon iodine*
- Kulit abdomen diinsisi dan disisihkan ke tepi
- Insisi lapisan otot sampai peritoneum terbuka, cavum peritoneum dibuka dan dipertahankan dengan klem/hag
- Lambung tikus dikeluarkan
- Dinding lambung kiri dioleskan asam asetat glacial dengan menggunakan *cotton bud* dan ditahan hingga 60 detik. Kemudian dibersihkan dan dibilas dengan NaCl 0,9%
- Lambung kembali dimasukkan pada posisi semula
- Jahit lapis demi lapis mulai dari peritoneum, otot, lalu kulit
- Tikus pasca operasi diletakkan pada satu kandang sendiri

3.7.2 Prosedur pemberian paparan

Indometasin

Indometasin diberikan secara enteral menggunakan sonde dengan dosis pada tikus = 20mg/kg/BB , 2-4x sehari = $20/1000 \times (150-200) = 3-4\text{mg} \rightarrow 4 \text{ mg}$.

Prosedur pemberian capsaicin

- Capsaicin dilarutkan dalam minyak sayur dan diberikan secara enteral menggunakan sonde.
- Dosis pemberian capsaicin pada 1 tikus = $10 \text{ mg/kgBB/hari} = 10/1000 \times (150-200) = 1,5-2 \text{ mg/hari} \rightarrow 2 \text{ mg/hari}$.

3.7.3 Teknik pemeriksaan luas ulkus

- Lambung dipisahkan dari esofagus dan duodenum.
- Lambung diinsisi menyusuri kurvatura mayor hingga sisi dalam lambung tampak terpisah dua bagian.
- Preparat dipindai dengan menggunakan *scanner* dengan menggunakan papan standar dari *styrofoam* agar jaringan tidak menempel pada kaca *scanner*

- Pemindaian dilakukan dengan resolusi 150 dpi
- Luas ulkus dihitung dengan grid ukuran 1x1mm pada program Adobe Photoshop

3.8 Identifikasi Variabel

Variabel bebas : capsaisin

Variabel tergantung : luas ulkus

3.9 Rencana Manajemen dan Analisis Data

- Variabel = variabel numerik (jumlah capsaisin dan luas ulkus)
- Skala pengukuran = skala numerik rasio (jumlah capsaisin dan luas ulkus mempunyai nilai nol alami)
- Hipotesis = hipotesis komparatif (membandingkan besar ulkus yang diberi berbagai perlakuan).
- Uji hipotesis = uji Kruskal-Wallis karena tidak memenuhi syarat sebaran data normal. Bila $p < 0,05$ dilakukan uji *post-hoc* menggunakan uji Mann-Whitney. Sebelumnya dilakukan uji sebaran data menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov

3.10 Definisi Operasional

- Ulkus lambung adalah suatu gambaran bulat atau oval, dengan ukuran lebih dari 5 mm kedalaman submukosa pada mukosa lambung akibat terputusnya kontinuitas atau integritas mukosa lambung.⁹
- Capsaicin merupakan suatu senyawa yang ditemukan di cabai. Capsaicin memiliki efek gastroprotektif. Neuron sensorik yang sensitif terhadap capsaicin akan melepaskan CGRP, yang kemudian meningkatkan prostaglandin sitoprotektif (PGI₂ dan PGE₂) pada jaringan lambung.
- Indometasin merupakan obat AINS yang menghambat pembentukan prostaglandin. Obat ini digunakan digunakan sebagai analgesik, antipiretik, dan memiliki efek pada menurunnya ketahanan mukosa lambung.

3.11 Masalah Etika

Implikasi etik percobaan pada hewan:

1. Hewan coba dipelihara dalam animal house yang memenuhi syarat
2. Hewan coba diletakkan dalam kandang yang nyaman dan diberi makanan pelet yang sesuai
3. Pemberian perlakuan dilakukan dengan *nasogastric tube* secara cepat dan tidak menyakiti tikus
4. Tikus yang hendak dimatikan (euthanasia) dilakukan dengan pembiusan ether

