

## IV. METODA PENELITIAN

### A. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat : Laboratorium Program Studi Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu  
Pengetahuan Alam Universitas  
Diponegoro.
2. Waktu : Bulan Mei 1992 sampai dengan Bulan  
Juli 1992.

### B. Bahan dan Alat

Bahan :

1. Mencit (*Mus musculus*) jantan, dengan berat  
badan antara 20 gram sampai 40 gram.
2. Larutan sodium nitrit aquosa :  
0,1 miligram/gram berat badan  
0,2 miligram/gram berat badan  
0,3 miligram/gram berat badan  
(Kadar perlakuan tersebut berdasarkan kadar  
sodium nitrit yang diijinkan sebagai bahan  
aditif pada produk (Anonim, 1979)).
3. Makanan mencit yang dipakai : makanan ayam  
(ayam petelur) 521.

4. Larutan untuk membuat preparat dan dengan pewarnaan : *Hematoxylin Eosin* dan *Periodic Acid Schiff* (Handari Suntoro, 1983).
5. Larutan standar untuk menentukan kadar glukosa darah.

Alat :

1. Kandang pemeliharaan dan peralatan makan-minum.
2. Alat untuk menimbang baik kebutuhan makan dan jumlah sodium nitrit yang diperlukan sesuai dengan dosis.
3. Disekting set.
4. Mikrotom untuk membuat irisan.
5. Mikroskop.
6. Fotomikrografi.
7. Sentrifuse untuk memperoleh serum darah.
8. Peralatan untuk pewarnaan.
9. Spektrofotometer.

C. Cara Kerja :

1. Dipilih 16 ekor mencit secara acak, yang berkelamin jantan, dengan berat badan 20 gram sampai 40 gram (berat badan umum untuk tikus jantan dewasa).
2. Pemeliharaan hewan.
  - Penyiapan kandang.  
Kandang diusahakan tidak memiliki permukaan

yang tajam dan kasar sehingga dapat melukai hewan, mudah dibersihkan, mudah diperbaiki, tidak mudah dirusak oleh hewan yang dikandangkan atau hewan dari luar, dan cukup luas. Alas kandang harus diganti 1-3 kali dalam seminggu (*Malole dan Sri Utami, 1989*).

- Kebersihan kandang

Pembersihan dimulai dengan menggunakan air bersih dan sikat untuk menghilangkan sisa-sisa alas kandang, sisa makanan, faeces, urine, dan lainnya (*Malole dan Sri Utami, 1989*).

- Pemberian minuman

Minuman harus selalu bersih dan disediakan dalam jumlah yang tidak terbatas (Ad libitum) (*Malole dan Sri Utami, 1989*).

- Pemberian Makanan

Makanan yang diberikan : makanan ayam petelur (berkadar protein 17%) , karena mencit membutuhkan makan berkadar protein di atas 14% (*Malole dan Sri Utami, 1989*). Makanan diberikan dalam bentuk butiran tanpa batas (Ad libitum) (*Smith, 1988*).

3. Dilakukan 4 macam perlakuan :

K adalah perlakuan kontrol dengan 0 miligram sodium nitrit/gram berat badan.

P1 adalah perlakuan dengan 0,1 miligram sodium nitrit/gram berat badan.

P2 adalah perlakuan dengan 0,2 miligram sodium nitrit/gram berat badan.

P3 adalah perlakuan dengan 0,3 miligram sodium nitrit/gram berat badan.

Dengan pengulangan untuk masing-masing perlakuan adalah 2. Pengulangan untuk unit percobaan adalah 2.

Cara membuat larutan: Sodium nitrit dilarutkan dalam aquades. Cara pemberian: melalui oral dengan penyuntik khusus.

4. Perlakuan dilaksanakan selama 2 minggu, dengan pemberian 1 kali setiap hari.
5. Dilakukan pengambilan darah dari sinus orbitalis dari semua mencit (*Smith, 1988*) untuk menghitung kadar glukosanya.

Penentuan Kadar Glukosa Darah

Bahan:

- Serum darah mencit
- Reagen untuk pemeriksaan kadar glukosa darah
- Standar glukosa

Alat :

- Siring
- Pipet 20  $\mu$ l

- Pipet 20 ml
- Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi
- Inkubator
- Kuvet
- Spektrofotometer

**Cara Kerja:**

- Darah disentrifuse untuk mendapatkan serum darah.
- Pipetlah ke dalam 3 tabung reaksi masing-masing 6 ml reagen untuk pemeriksaan kadar glukosa darah.
- Ke dalam tiga tabung reaksi tadi masing-masing dimasukkan :
  - Tabung I : 6  $\mu$ l serum (K, P1, P2, P3)
  - Tabung II : 6  $\mu$ l standar
  - Tabung III : 6  $\mu$ l aquadest (blanko)
- Setelah itu dilakukan penggojokan sehingga tercampur dengan baik
- Kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dan diinkubasikan selama 5 menit pada suhu 37 derajat celcius
- Setelah itu diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer

- Penghitungan kadar gula darah :

$$\frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \times 100 = \text{mg/dl}$$

6. Dilakukan pembedahan, kemudian hepar diambil dan dibuat preparat dari sepotong kecil hepar.
7. Dilakukan pembuatan preparat dengan metode parafin dengan menggunakan 2 pewarnaan yaitu: *Hematoxylin Eosin* dan *Periodic Acid Schiff*.
8. Sebelum dibuat menjadi preparat, terlebih dahulu hepar ditimbang.
9. Dilakukan pemeriksaan dibawah mikroskop dan difoto.
10. Dilakukan pengukuran terhadap sel-sel hepar.

#### D. Parameter-parameter yang diamati :

1. Ukuran hepatosit
2. Glikogen dalam hepatosit secara kualitatif.
3. Kadar glukosa darah
4. Berat hepar

#### E. Analisis Data

Analisis data menggunakan analisa varian dengan rancangan acak lengkap dan model matematis :

$$H_0 : \mu_K = \mu_{P1} = \mu_{P2} = \mu_{P3}$$

$$H_A : \mu_K \neq \mu_{P1} \neq \mu_{P2} \neq \mu_{P3}$$

Dan dilanjutkan dengan uji Least Significant Different.