

IV. METODA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat Penelitian : Laboratorium Struktur dan Fungsi
Program Studi Biologi,
Universitas Diponegoro Semarang.

Waktu Penelitian : Februari - Juni 1992

B. Bahan dan Alat

Bahan :

- Mencit (*Mus musculus*) jantan dewasa dengan berat badan antara 20 - 40 gr.
- Zat pemanis sintesik (Sodium siklamat)
- Pelet untuk makanan hewan uji, berupa makanan ayam petelur (521)
- Aquadest
- Bahan kimia untuk pembuatan preparat awetan dengan metode parafin serta dengan pewarnaan H & E.
- Larutan untuk pemeriksaan kadar glukosa darah.

Alat :

- Kandang pemeliharaan hewan uji.
- Peralatan timbangan yang digunakan untuk menimbang berat mencit (*Mus musculus*), berat hepar dan ren serta jumlah sodium siklamat yang diperlukan sesuai dengan dosis.
- Seperangkat alat untuk pemeriksaan kadar glukosa darah.

- Disekting set.
- Spuit injeksi.
- Mikroskop dan fotomikrografi.
- Mikrotom untuk membuat irisan.
- Sentrifuge untuk memperoleh serum darah.

C. Cara Kerja

1. Dipilih 16 ekor mencit secara acak yang berkelamin jantan dengan berat badan antara 20 - 40 gram.

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 ataupun hewan dari luar dan cukup luas. Alas kandang harus diganti 1 - 3 kali dalam seminggu.

- Kebersihan kandang

Pembersihan kandang dimulai dengan menggunakan air bersih dan sikat untuk menghilangkan sisa - sisa alas kandang, sisa makanan, feces, urine dan lainnya.

- Pemberian minum

Minuman harus selalu bersih dan disediakan dalam jumlah yang tidak terbatas (Ad libitum).

- Pemberian makanan

Makanan yang diberikan : makanan ayam petelur

(521). Makanan diberikan dalam bentuk butiran tanpa batas (Ad libitum).

3. Sebelum diperlakukan hewan uji dikondisilaboratoriumkan terlebih dahulu (kurang lebih satu minggu). Dilakukan penimbangan berat badan sebelum dan sesudah perlakuan.

4. Dilakukan empat macam perlakuan, masing - masing perlakuan dengan dua kali ulangan yaitu :

K : kelompok kontrol

P1 : kelompok dengan kadar sodium siklamat 10 mg/kg BB/hari.

P2 : kelompok dengan kadar sodium siklamat 20 mg/kg BB/hari.

P3 : kelompok dengan kadar sodium siklamat 40 mg/kg BB/hari.

Pengulangan untuk unit percobaan adalah 2.

Penentuan berat sodium siklamat adalah sebagai berikut :

Misal berat badan mencit setelah ditimbang = 40 gram
= 0,04 kg

Sedang besarnya dosis sodium siklamat yang akan diberikan pada perlakuan A = 40 mg/kg BB. Maka berat sodium siklamat yang akan diberikan pada mencit adalah = $0,04 \times 40$

= 1,6 mg

Sodium siklamat dilarutkan dalam aquades. Cara pemberian : melalui oral dengan penyuntik khusus

(sprit injeksi), tiap hari sekali selama 30 hari.

5. Dilakukan pembedahan hewan uji pada akhir perlakuan, dimana sehari sebelumnya hewan uji dipuasakan guna menghitung kadar glukosa darahnya. Adapun penentuan kadar glukosa darah adalah sebagai berikut :

- Darah diambil dari hewan uji dengan syringe.
- Serum dipisahkan dengan alat sentrifuse.
- Disediakan tiga tabung reaksi masing-masing berisi 6 ml reagen untuk pemeriksaan kadar glukosa darah. Pada masing-masing tabung reaksi tersebut ditambahkan 6 μ l serum pada tabung satu, 6 μ l larutan standar pada tabung dua dan 6 μ l aquades pada tabung tiga. Digojog sehingga tercampur merata.
- Diinkubasi selama lima menit pada suhu 37 derajat Celcius
- Kemudian absorbansinya diukur dari standar dan sampel.
- Kadar glukosa darah dihitung dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Kadar glukosa darah} = 100 \times \frac{\text{absorban sampel}}{\text{absorban standar}}$$

(mg/dl)

6. Dilakukan pembuatan preparat awetan dari hepar dan ren dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H & E).

7. Sebelum dibuat preparat awetan hepar dan ren ditimbang terlebih dahulu.
8. Dilakukan pemeriksaan dibawah mikroskop dan pemotretan dengan fotomikrografi.
9. Dilakukan pengukuran terhadap hepatosit, nukleus hepatosit dan ukuran glomerulus dengan alat bantu mikrometer.

D. Parameter - parameter yang diamati

- Berat hepar
- Ukuran hepatosit
- Ukuran nukleus hepatosit
- Kadar glukosa darah
- Ukuran glomerulus pada ren
- Berat ren

E. Analisis Data

Data yang didapat dianalisa dengan analisis varian (Anova) dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dilanjutkan dengan uji Least Significant Different (LSD).