

IV. METODA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat : Laboratorium Program Studi Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam Universitas Di-
ponegoro.
2. Waktu : Bulan Oktober 1992 sampai dengan
bulan Januari 1993.

B. Bahan dan Alat

Bahan :

1. Mencit (*Mus musculus*) jantan dewasa dengan
berat badan antara 20 gram sampai 40 gram.
2. Larutan Diazinon 60 EC aquosa :
 - 5 ppm
 - 10 ppm
 - 20 ppm
3. Makanan mencit berupa makanan ayam petelur 521.
4. Larutan untuk membuat preparat dan dengan pe -
warna Hematoxylin & Eosin serta Periodic Acid
Schiff (Suntoro, S Handari, 1983).
5. Larutan standar untuk menentukan kadar glukosa
darah.

Alat :

1. Kandang pemeliharaan dan peralatan makan minum.
2. Alat timbangan.
3. Disecting set.
4. Mikrotom untuk membuat irisan preparat.

5. Mikroskop.
6. Fotomikrografi.
7. Sentrifuse.
8. Peralatan untuk pewarnaan.
9. Spektrofotometer.

C. Cara Kerja :

1. Dipilih 16 ekor mencit secara acak yang berkelamin jantan, dengan berat badan antara 20 - 40 gr (berat badan umum tikus jantan dewasa).

2. Pemeliharaan hewan.

- penyiapan kandang

Kandang diusahakan tidak mempunyai 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 Utami, Sri, 1989).

- Kebersihan kandang

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

- Pemberian minuman

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

- Pemberian makanan

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

3. Dilakukan 4 macam perlakuan :

K adalah perlakuan kontrol dengan 0 ppm Diazinon 60 EC.

P1 adalah perlakuan dengan dosis 5 ppm Diazinon 60 EC.

P2 adalah perlakuan dengan dosis 10 ppm Diazinon 60 EC.

P3 adalah perlakuan dengan dosis 20 ppm Diazinon 60 EC.

Dengan pengulangan untuk masing-masing perlakuan adalah dua kali. Pengulangan untuk unit percobaan adalah dua kali.

Cara membuat larutan : Diazinon 60 EC diencerkan dengan aquadest sesuai dengan dosis. Cara pemberian melalui oral dengan penyuntik khusus.

4. Perlakuan dilaksanakan selama 2 minggu, dengan pemberian 1 kali setiap hari.

5. Setelah 2 minggu perlakuan, dilakukan pengambilan darah dari sinus orbitasi dari semua mencit (Smith, 1988).

Penentuan Kadar Glukosa Darah

Bahan :

- Serum darah menci
- Reagen untuk pemeriksaan kadar glukosa darah.
- Standar glukosa

Alat :

- Syringe
- Pipet 20 μ 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 μ l reagen untuk pemeriksaan kadar glukosa darah.
 - Tabung I : 6 μ l serum (K, P1, P2, P3)
 - Tabung II : 6 μ l standar
 - Tabung III : 6 μ l aquadest (blanko)
- Setelah itu dicampur sampai homogen.
- Kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dan diinkubasikan selama 5 menit pada suhu 37 derajat Celcius
- Setelah itu diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer

- Penghitungan kadar glukosa 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 menggunakan 2 pewarnaan yaitu :
Hematoxylin Eosin dan Periodic Acid Schiff
8. Sebelum dibuat preparat, terlebih dahulu hepar ditimbang.
9. Dilakukan pemeriksaan di bawah 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

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisa varian dan menggunakan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) serta uji lanjut dengan Least Significant Different (LSD).

V. ANALISIS HASIL

1. Ukuran rata-rata Hepatosit

Tabel 01. Ukuran rata-rata hepatosit setelah perlakuan

Unit	Perlakuan	K (μ)	P1 (μ)	P2 (μ)	P3 (μ)
	I	23,100	26,350	20,525	21,350
	II	23,250	27,450	20,450	21,635
	x	23,175 ^a	26,900 ^b	20,488 ^c	21,493 ^d

Keterangan :

* Huruf kecil yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan.

Dari hasil pengamatan terhadap ukuran rata-rata hepatosit, setelah dianalisa dengan analisa varian dan uji lanjut dengan LSD diketahui bahwa terdapat beda nyata antar perlakuan. Hal tersebut dapat dilihat dari ukuran rata-rata hepatosit perlakuan 1 yang lebih besar dari ukuran rata-rata hepatosit kontrol. Sedangkan ukuran rata-rata hepatosit perlakuan 2 dan perlakuan 3 lebih kecil dari perlakuan kontrol.

2. Berat Rata-rata Hepar

Tabel 02. Berat Rata-rata Hepar Mencit Setelah Perlakuan

Unit	Perlakuan	K (gr)	P1 (gr)	P2 (gr)	P3 (gr)
	I	2,3	2,35	1,65	1,60
	II	1,4	1,60	1,45	1,65
	x	1,85 ^a	1,975 ^a	1,55 ^a	1,625 ^a

Keterangan :

* Huruf kecil yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar perlakuan.

Dari hasil analisis varian terhadap berat hepar diketahui bahwa tidak ada beda nyata antar perlakuan, tetapi dari rata-rata berat hepar yang ditimbang setelah perlakuan terdapat kecenderungan meningkatnya berat hepar pada perlakuan 1 dan menurunnya berat hepar pada perlakuan 2 dan 3 dibanding dengan berat hepar mencit kontrol.

3. Kadar Glukosa Darah

Tabel 03. Kadar Glukosa Darah Mencit Setelah Perlakuan

Perlakuan Unit	K(mg/dl)	P1(mg/dl)	P2(mg/dl)	P3(mg/dl)
I	153,568	146,428	101,785	107,140
II	115,625	243,750	115,000	231,250
x	134,597 ^a	195,089 ^a	108,393 ^a	169,195 ^a

Keterangan :

* Huruf kecil yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar perlakuan.

Dari analisa varian yang telah dilakukan terhadap hasil penghitungan kadar glukosa darah diperoleh hasil bahwa tidak ada beda nyata antar perlakuan. Rata-rata kadar glukosa darah dari mencit kontrol, mencit perlakuan 1, mencit perlakuan 2 dan mencit perlakuan 3 cenderung meningkat, tetapi peningkatan tersebut masih dalam batas glukosa darah normal.