

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap ( RAL ) Faktor Tunggal ( Srigandono, 1989; Steel dan Torrie, 1993 ). Perlakuan berupa pemberian timbal yang dilakukan secara oral melalui air minum yang mengandung timbal ( II ) asetat trihidrat /  $PbC_4H_6O_4 \cdot 3H_2O$  dengan dosis yang berbeda selama empat minggu. Dosis yang diberikan yaitu 0 ppm atau tanpa pemberian timbal ( II ) asetat trihidrat, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm. Pada masing – masing perlakuan dilakukan lima kali ulangan.

Bentuk rancangan penelitian adalah sebagai berikut :

Perlakuan Ulangan	P0 $PbC_4H_6O_4 \cdot 3H_2O$ 0 ppm	P1 $PbC_4H_6O_4 \cdot 3H_2O$ 250 ppm	P2 $PbC_4H_6O_4 \cdot 3H_2O$ 500 ppm	P3 $PbC_4H_6O_4 \cdot 3H_2O$ 1000 ppm
U1	P0 U1	P1 U1	P2 U1	P3 U1
U2	P0 U2	P1 U2	P2 U2	P3 U2
U3	P0 U3	P1 U3	P2 U3	P3 U3
U4	P0 U4	P1 U4	P2 U4	P3 U4
U5	P0 U5	P1 U5	P2 U5	P3 U5

#### 3.2. Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi – Struktur dan Fungsi Hewan, Jurusan Biologi – Fakultas MIPA, Universitas Diponegoro – Semarang.

Pelaksanaannya pada bulan Juni sampai dengan Agustus 2002.

### 3.3. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Kandang mencit, peralatan makan dan minum, timbangan, neraca analitik, botol stock larutan, gelas ukur, batang pengaduk, seperangkat alat bedah, jarum suntik, venoject berisi EDTA, seperangkat Hemometer Sahli, seperangkat Hemositometer Improved Neubauer, mikroskop, counter, kapas / tissue.

#### 2. Bahan

20 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan strain DDY umur lima minggu yang diperoleh dari UPT UPHP Universitas Gadjah Mada – Yogyakarta, timbal (II) asetat trihidrat /  $\text{PbC}_4\text{H}_6\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , pakan konsentrat Bravo 512, aquades, larutan Hayem, seperangkat bahan metode Sahli.

### 3.4. Cara Kerja

#### 1. Pembuatan larutan perlakuan

- Timbal (II) asetat trihidrat /  $\text{PbC}_4\text{H}_6\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  ditimbang masing – masing seberat 250 mg, 500 mg dan 1000 mg kemudian masing – masing dilarutkan dalam 1 l air hangat (  $80^0$  C ) dan diaduk sehingga diperoleh larutan perlakuan sebagai berikut :

D0 : air minum dengan dosis timbal (II) asetat trihidrat 0 ppm

( 1 l air minum tanpa pemberian timbal (II) asetat trihidrat )

D1 : air minum dengan dosis timbal (II) asetat trihidrat 250 ppm

( 1 l air minum + 250 mg timbal (II) asetat trihidrat )

D2 : air minum dengan dosis timbal ( II ) asetat trihidrat 500 ppm

( 1 l air minum + 500 mg timbal ( II ) asetat trihidrat )

D3 : air minum dengan dosis timbal ( II ) asetat trihidrat 1000 ppm

( 1 l air minum + 1000 mg timbal ( II ) asetat trihidrat )

## 2. Aklimasi

- Kedua puluh ekor mencit jantan diaklimasi selama tiga minggu.

## 3. Perlakuan

- Kedua puluh ekor mencit dikelompokkan ke dalam empat kelompok perlakuan, di mana pada masing – masing kelompok perlakuan terdiri dari lima ulangan. Keempat kelompok perlakuan adalah sebagai berikut :

P0 : kelompok yang diberi air minum dengan dosis timbal ( II ) asetat trihidrat 0 ppm ( D0 )

P1 : kelompok yang diberi air minum dengan dosis timbal ( II ) asetat trihidrat 250 ppm ( D1 )

P2 : kelompok yang diberi air minum dengan dosis timbal ( II ) asetat trihidrat 500 ppm ( D2 )

P3 : kelompok yang diberi air minum dengan dosis timbal ( II ) asetat trihidrat 1000 ppm ( D3 )

- Setiap ekor mencit dimasukkan ke dalam kandang individu dengan penempatan secara acak.
- Perlakuan dilakukan selama empat minggu.
- Pakan mencit berupa pakan konsentrat Bravo 512 diberikan setiap hari dalam jumlah yang tidak terbatas ( *ad libitum* ).

#### 4. Pengamatan

- Pengamatan dilakukan pada akhir perlakuan yaitu setelah empat minggu perlakuan.
- Mencit dianestesi lalu dilakukan pengambilan sampel darah dari jantung dengan menggunakan jarum suntik.
- Sampel darah ditampung di dalam venoject berisi EDTA kemudian dilakukan :
  - a. penentuan jumlah eritrosit dengan penghitungan menggunakan bilik hitung Hemositometer Improved Neubauer ( Wintrobe, 1964 )
  - b. penentuan kadar hemoglobin dengan metode Sahli ( Asam Hematin ) ( Wintrobe, 1964 ).

#### 3.5. Parameter

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi :

##### 1. konsumsi air minum

Konsumsi air minum merupakan konsumsi air minum total selama empat minggu perlakuan yang diperoleh dari akumulasi konsumsi air minum setiap minggu.

##### 2. jumlah eritrosit

Penentuan jumlah eritrosit dihitung dengan menggunakan bilik hitung Hemositometer Improved Neubauer ( Wintrobe, 1964 ).

##### 3. kadar hemoglobin ( Hb )

Penentuan kadar hemoglobin dilakukan dengan metode Sahli ( Asam Hematin ) ( Wintrobe, 1964 ).

### 3.6. Analisa Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini terdapat tiga data hilang. Dengan demikian, penelitian ini merupakan Rancangan Acak Lengkap ( RAL ) Faktor Tunggal dengan ulangan yang tidak sama ( Srigandono, 1989; Steel dan Torrie, 1993 ).

Data yang diperoleh diuji asumsi normalitas dan homogenitas ragamnya ( Hanafiah, 2000; Santoso, 2001; Srigandono, 1989; Wijaya, 2001 ). Hasil uji normalitas dengan Uji W Shapiro Wilk dan uji homogenitas ragam dengan Uji Levene menunjukkan bahwa data memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas ragam. Data kemudian dianalisa dengan menggunakan *Analysis of Variance* ( Anova ) pada taraf signifikan 5 % ( Santoso, 2001; Srigandono, 1989; Steel dan Torrie, 1993; Wijaya, 2001 ). Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan dilakukan uji lanjut dengan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil ( BNT ) pada taraf signifikan 5 % ( Santoso, 2001; Srigandono, 1989; Steel dan Torrie, 1993; Wijaya, 2001 ).

