

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus-September 2004 bertempat di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan, Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang mencit, peralatan pakan dan minum, timbangan, botol stok larutan, gelas ukur, batang pengaduk, seperangkat alat bedah (*dissecting set*), *gavage* berupa spuit injeksi ujung bercanul, gelas beker, blok parafin, peralatan untuk pembuatan preparat histologis (lihat Lampiran 01), mikroskop, mikrometer dan kamera digital merk Sony Cybershot P-92.

Hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster jantan umur 8 - 10 minggu sebanyak 20 ekor. Bahan yang digunakan antara lain serbuk kitin yang diperoleh dari Laboratorium Pangan dan Gizi Pusat Antar Universitas (PAU) UGM, Yogyakarta. Pakan mencit berupa pelet anak ayam BR II, aquades, kloroform serta bahan-bahan untuk pembuatan preparat histologi aorta (lihat Lampiran 01).

3.3 Pelaksanaan Penelitian

1. Penyiapan dan Pemeliharaan Hewan Uji Mencit

Perlakuan menggunakan 20 ekor mencit jantan Swiss Webster yang diaklimasi di laboratorium selama 1 minggu. Mencit ditempatkan dalam bak plastik beralas sekam padi dengan tutup jeruji pada ruangan bersuhu 25 - 30 °C dan kelembaban ruangan 70 - 80 %. Pakan berupa pelet anak ayam BR II dan minuman dari air ledeng, masing-masing diberikan secara *ad libitum*.

2. Pembuatan Campuran Kitin dengan Air

Kitin diberikan dalam bentuk campuran serbuk kitin dan air. Pembuatan campuran kitin dilakukan setiap hari, yang digunakan untuk 5 ulangan perlakuan.

Adapun cara pembuatan campuran kitin tersebut adalah:

- a. Dosis 1,3 mg adalah dengan mencampurkan 6,5 mg serbuk kitin dalam 2,5 ml aquades dan diaduk sampai homogen.
- b. Dosis 1,95 mg adalah dengan mencampurkan 9,75 mg serbuk kitin dalam 2,5 ml aquades dan diaduk sampai homogen.
- c. Dosis 2,6 mg adalah dengan mencampurkan 13 mg serbuk kitin dalam 2,5 ml aquades dan diaduk sampai homogen.

Selanjutnya campuran serbuk kitin dan air diberikan menggunakan spuit injeksi ujung bercanul (*gavage*) sebanyak 0,5 ml/ekor/hari.

3. Perlakuan Kitin terhadap Hewan Uji

Mencit sebanyak 20 ekor dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit yang ditentukan secara acak. Penentuan dosis perlakuan kitin yang diberikan berdasarkan hasil konversi dosis dari manusia ke mencit, mengikuti tabel konversi perhitungan antar jenis hewan menurut Laurance dan Bacharach (1964). Standar konsumsi kitin pada manusia menurut label adalah 500 mg/hari (Anonim, 2004). Angka konversi dosis dari manusia (70 kg) ke mencit (20 g) = 0,0026. Berdasarkan angka konversi tersebut diperoleh dosis kitin untuk mencit (20 g) = $0,0026 \times 500 \text{ mg} = 1,3 \text{ mg}$. Sehingga dalam penelitian ini dipakai dosis perlakuan 1,3 mg/ekor/hari; 1,95 mg/ekor/hari dan 2,6 mg/ekor/hari.

Dosis kitin/hari untuk masing-masing perlakuan adalah sebagai berikut:

- a. Kelompok I (P0) : tanpa kitin sebagai kontrol
- b. Kelompok II (P1) : kitin dengan dosis 1,3 mg/ekor/hari.
- c. Kelompok III (P2) : kitin dengan dosis 1,95 mg/ekor/hari
- d. Kelompok IV (P3) : kitin dengan dosis 2,6 mg/ekor/hari.

Perlakuan dilaksanakan selama 30 hari, pemberian kitin pertama dianggap hari pertama. Pemberian campuran kitin dilakukan secara *per oral* dengan menggunakan *gavage* (spuit injeksi volume 1 ml ujung bercanul). Untuk mencit kontrol hanya diberikan aquades dengan dosis dan cara pemberian yang sama seperti yang diberi perlakuan campuran kitin.

4. Pembuatan Preparat Histologi Aorta

Pengambilan sampel dilakukan setelah masa perlakuan berakhir, yaitu dengan cara mencit didekapitasi dan dibedah untuk mendapatkan organ aorta dan dilanjutkan pembuatan preparat sediaan histologi aorta dengan menggunakan metode parafin dan pewarnaan Hematoxylin-Eosin menurut Suntoro (1983).

3.4 Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini, meliputi:

1. Parameter utama, yaitu: ketebalan tunika pada aorta (μm) yang terdiri dari tunika intima-media dan tunika adventisia, diperoleh dengan mengukur tunika-tunika tersebut dari preparat histologis menggunakan mikroskop yang dilengkapi dengan mikrometer.
2. Parameter pendukung, yaitu: berat pakan terkonsumsi (g), diperoleh dengan melakukan penimbangan pakan yang diberikan dikurangi dengan pakan yang tersisa setiap minggu.

3.5 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan Percobaan yang dipakai dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dengan 5 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan Analisis Varian (Anova) pada taraf kepercayaan 95 %. Selanjutnya, perbedaan antar perlakuan diketahui dengan uji lanjut menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf kepercayaan 95 % (Hanafiah, 1994).