

### BAB III

## MATERI DAN METODE

### III.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di kandang Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan dan pemeriksaan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi, sedangkan pemeriksaan kadar nitrogen urea darah (BUN) dan kreatinin serum dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian mulai tanggal 20 April 1999 sampai dengan tanggal 7 Juni 1999.

### III.2. Materi Penelitian

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor mencit (*Mus musculus*) betina strain Balb C berumur kurang lebih tiga bulan dengan berat badan antara 20-22 gram yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farna Surabaya.

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian adalah, tepung biji lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*), pakan ayam berupa pellet (G 2), pakan buatan bentuk pellet yang mengandung 20% dan 40% tepung biji lamtoro gung, serum serta ginjal mencit, kloroform, formalin 10%, NaCl fisiologis, akuades, Hematoxylin Eosin (HE) untuk pembuatan preparat histopatologi, parafin, xylol, standart kerja kreatinin 2 mg/100 ml, Sodium Tungstat 10%, larutan asam pikrat serta

standart kerja, kreatinin 2 mg/100 ml, Sodium Tungstat 10%, larutan asam pikrat, larutan NaOH 1,4 mol, asam trikoasetat, standartkerja urea 40 mg/100ml, reagen BUN yang terdiri atas larutan urease, larutan phenol dan larutan hipoklorit.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang mencit berupa ember plastik berbentuk persegi beserta tutupnya dari anyaman kawat dengan perlengkapannya (tempat pakan dan minum), tabung reaksi dengan raknya, kapas, alkohol, spuit 1 cc beserta jarumnya, timbangan O'Hauss untuk menimbang mencit, alat untuk membedah yang terdiri atas gunting, scalpel dan pinset, pot plastik, gelas obyek dan penutupnya, mikroskop, pemusing, beserta tabungnya, spektrophotometer Bausch&Lomb, alat dokumentasi beserta filmnya, alat pembuat pakan mencit yang terdiri atas gilingan untuk menghaluskan biji lamtoro gung, bak tempat mengaduk bahan pakan, pengukus dan cetakan untuk membuat pellet.

### III.3. Metode Penelitian

Hewan penelitian berupa 24 ekor mencit betina berumur tiga bulan dengan tiga perlakuan dan delapan ulangan. Mencit masing-masing diberi nomor, kemudian diambil secara acak sesuai dengan perlakuan sehingga semua mencit menempati setiap kelompok perlakuan. Mencit-mencit sebelum perlakuan diadaptasikan selama tujuh hari dengan diberi pakan berbentuk pellet yang merupakan pakan buatan pabrik dan air minum diberikan secara *ad libitum* untuk penyesuaian lingkungan.

Perincian ketiga kelompok perlakuan tersebut adalah :

1. Kelompok kontrol (PO)

Delapan ekor mencit diberi pakan bentuk pellet tanpa kandungan tepung biji lamtoro gung.

2. Kelompok perlakuan I (P1)

Delapan ekor mencit diberi pakan bentuk pellet yang mengandung 20% tepung biji lamtoro gung.

3. Kelompok perlakuan II (P2)

Delapan ekor mencit diberi pakan bentuk pellet yang mengandung 40% tepung biji lamtoro gung.

Perlakuan dilakukan selama 40 hari. Pada hari ke - 41 setelah perlakuan selesai, semua mencit diambil darahnya dan dipisahkan dengan serumnya yang selanjutnya digunakan untuk pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin serum kemudian mencit tersebut dibunuh. Ginjal mencit diambil dengan cara membedah abdomennya, selanjutnya ginjal tersebut digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi. Pemeriksaan preparat histopatologi tersebut menggunakan pembesaran 100X dan 400X dibawah mikroskop.

#### **III. 4. Peubah Yang Diamati**

Dilakukan pengamatan secara mikroskopis terhadap gambaran histopatologi ginjal, serta pengukuran kadar nitrogen urea darah dan kreatinin serum mencit pada masing-masing perlakuan yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II.

### III.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Hasil pemeriksaan histopatologi ginjal mencit pada penelitian dan data yang diperoleh dianalisis dengan uji Kruskal Wallis (Sudrajat, 1985 ; Sarmanu, 1993). Bila dari analisis tersebut terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji pasangan berganda atau uji Z (Siegel, 1986 ; Daniel, 1989). Pemeriksaan histopatologi ini dilakukan berdasarkan derajat kerusakan atau tingkat perubahan dari ginjal, kemudian masing-masing perubahan diberi nilai sebagai berikut :

#### Evaluasi Terhadap Organ Ginjal

Nilai	Tingkatan perubahan histopatologi
0	Tidak terjadi perubahan
1	A = Degenerasi tubulus kontortus proksimal
2	B = Nekrose tubulus kontortus proksimal
3	C = Nekrose glomerulus
4	D= Infiltrasi sel-sel leukosit polimorf sekitar daerah interstitialis
5	E = Nekrose tubulus kontortus distalis
6	F = Perdarahan pada glomerulus
7	G= Infiltrasi sel-sel leukosit polimorf sekitar glomerulus

( Purnomo, 1984 ; Ressang, 1984 ).

Data kadar BUN dan kreatinin serum dianalisis menggunakan analisis varian dengan tiga perlakuan dan delapan ulangan. Bila terdapat pengaruh yang nyata, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% untuk mengetahui perlakuan yang paling berpengaruh (Kusriningrum, 1989).