

B A B III
MATERI DAN METODE

WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan selama 105 hari dimulai tanggal 1 Agustus 1990 dan berakhir tanggal 13 Nopember 1990. Tempat dilakukannya penelitian ini yaitu di kandang percobaan, Jurusan Reproduksi Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Sedangkan untuk pembuatan preparat histopatologis dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

MATERI PENELITIAN

Hewan Penelitian

Penelitian ini menggunakan 48 ekor mencit jantan dewasa persilangan antara strain BALB/c dengan lokal yang berumur delapan minggu. Mencit-mencit tersebut diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya sejak umur enam minggu.

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang diperlukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut : Depo Provera (Up John), testosteron propionat, larutan chloroform untuk membunuh mencit sebelum

pengambilan hepar, corn oil, formalin 10% beserta dengan tempatnya untuk masing-masing hepar. aquadest untuk suntikan, NaCl fisiologis, alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan II, bahan untuk pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE), yaitu : xylol I, xylol II, alkohol absolut I, II, alkohol 96%, 80%, 70%, air kran, zat warna Harris, acid alkohol, amoniak, aquades dan zat warna eosin.

Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan adalah : kandang yang berupa bak plastik berukuran 20x20x18 cm yang terdiri dari 48 ruang/kandang, tempat untuk pakan dan minum terbuat dari pot obat, alat suntik terumo disposibel 1 ml, 5 ml dan 10 ml, tabung reaksi steril untuk tempat obat diencerkan, pinset, skalpel, gunting, meja papan, sarung tangan, timbangan merek Sartorius, alat dokumentasi (kamera dan satu rol film), alat dehidrasi, mikrotome, hot-plate, gelas obyek, gelas penutup, mikroskop dan alat tulis.

METODE PENELITIAN

P e r s i a p a n

Empat puluh delapan ekor mencit jantan dikurung dalam kandang yang ditentukan secara acak. Rancangan percobaan yang dipergunakan adalah rancangan faktorial 4 x 3, ada dua faktor yang diberikan pada mencit dengan empat ulangan.

Faktor pertama adalah jenis obat (a) terdiri atas empat jenis obat, yaitu a0 (NaCl fisiologis), a1 (MPA 0,08mg), a2, (testosteron 0,02 mg), a3 (MPA 0,08 mg + testosteron 0,02 mg). Faktor ke dua adalah lama waktu seksi (b) terdiri atas tiga waktu seksi yaitu b0 (35 hari), b1 (70 hari), b2 (105 hari). Jadi ada 12 kombinasi perlakuan sebagai berikut : a0b0, a0b1, a0b2, a1b0, a1b1, a1b2, a2b0, a2b1, a2b2, a3b0, a3b1, a3b2.

Pakan , Minuman dan Cara Pemberian

Sebagai bahan pakan hewan penelitian digunakan pakan ayam Par G bentuk pellet buatan PT. Comfeed Indonesia di Jawa Timur dan disediakan dalam pots obat sebagai tempat pakan. Air minumannya diambil dari air kran (PDAM) Kotamadya Surabaya dan disediakan dalam pots obat sebagai tempat minum.

Pemberian MPA dan Testosteron

Pada awal penelitian ini sebelum diberi perlakuan mencit-mencit tersebut ditimbang terlebih dahulu satu persatu, demikian juga pada setiap akan dilakukan seksi juga dilakukan penimbangan berat badan. Perlakuan diberikan selama 35 hari terhadap MPA dan testosteron secara intramuskuler dengan perincian sebagai berikut :

(a0b0) : empat ekor mencit jantan yang tidak menerima

suntikan MPA dan testosteron (kontrol) ,
diseksi pada hari ke 35.

- (a0b1) : empat ekor mencit jantan yang tidak menerima suntikan MPA dan testosteron (kontrol), diseksi pada hari ke 70.
- (a0b2) : empat ekor mencit jantan yang tidak menerima suntikan MPA dan testosteron (kontrol) , diseksi pada hari ke 105.
- (a1b0) : empat ekor mencit jantan yang menerima suntikan MPA 0,08 mg satu kali, diseksi pada hari ke 35.
- (a1b1) : empat ekor mencit jantan yang menerima suntikan MPA 0,08 mg satu kali, diseksi pada hari ke 70.
- (a1b2) : empat ekor mencit jantan yang menerima suntikan MPA 0,08 mg satu kali, diseksi pada hari ke 105.
- (a2b0) : empat ekor mencit jantan yang menerima suntikan testosteron 0,02 mg tiga hari sekali selama 35 hari, diseksi pada hari ke 35.
- (a2b1) : empat ekor mencit jantan yang menerima suntikan testosteron 0,02 mg tiga hari sekali selama 35 hari, diseksi pada hari ke 70.
- (a2b2) : empat ekor mencit jantan yang menerima suntikan testosteron 0,02 mg tiga hari sekali selama 35 hari, diseksi pada hari ke 105.
- (a3b0) : empat ekor mencit jantan yang menerima suntikan MPA 0,08 mg satu kali + testosteron 0,02 mg

tiga hari sekali selama 35 hari, diseksi pada hari ke 35.

(a3b1) : empat ekor mencit jantan yang menerima suntikan MPA 0,08 mg satu kali + testosteron 0,02 mg tiga hari sekali selama 25 hari, diseksi pada hari ke 70.

(a3b2) : empat ekor mencit jantan yang menerima suntikan MPA 0,08 mg satu kali + testosteron 0,02 mg tiga hari sekali selama 35 hari, diseksi pada hari ke 105.

Selama perlakuan mencit-mencit tersebut diberi pakan dan minum *ad libitum*, pada waktu akan diseksi mencit-mencit tersebut ditimbang. Kemudian mencit tersebut dibunuh dengan kloroform kemudian diseksi. Selanjutnya organ hepar dipisahkan secara legeartis dengan membuang jaringan yang tidak diperlukan. Dan sesegera mungkin hepar ditimbang dengan timbangan Sartorius, kemudian hepar dimasukkan kedalam pot obat yang berisi formalin 10% untuk dibuat sediaan preperat histologis.

Pembuatan Preperat Histologis

Pembuatan preperat histologis dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Fiksasi dan pencucian.
2. Dehidrasi dan clearing.

3. Infiltrasi.
4. Pembuatan balok parafin.
5. Pengirisan tipis
6. Pewarnaan.
7. Mounting.
8. Pemeriksaan mikroskopis.

Parameter yang Diamati

parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu :

1. Perubahan berat hepar selama perlakuan/ setelah perlakuan pada mencit jantan.
2. Derajat kerusakan hepar mencit jantan selama perlakuan/ setelah diberi perlakuan.

Analisis Data

a. Data yang diperoleh dari hasil penimbangan hepar diolah secara statistik dengan menggunakan analisis varian. Apabila hasil analisis statistik dengan analisis varian terdapat perbedaan, maka akan dilanjutkan dengan uji BNT (Kusriningrum, 1990).

b. Analisis data dari hasil percobaan pada mencit jantan yang diberi perlakuan MPA, testoseron dan kombinasi MPA+testosteron terhadap pemeriksaan histopatologi hepar adalah berdasar uji Kruskal Wallis dan apabila terdapat hasil yang nyata, dilanjutkan dengan uji pasangan berganda (Daniel, 1989).

Pembuatan Preparat Histologis dan Kriteria Penilaian Derajat Kerusakan Hepar

Untuk pembuatan preparat histologis setiap ekor mencit dibuat satu preparat histologis untuk setiap hepar. Dengan menggunakan mikroskop cahaya (pembesaran 400 kali) dilakukan pengamatan pada lima lapang pandang yang berbeda setiap preparat. Pada tiap lapang pandang diamati perubahan yang terjadi dan selanjutnya dilakukan penilaian dengan skore empiris.

Pada pemeriksaan mikroskopis sediaan preparat hepar yang diwarnai dengan haematoxylin eosin didapatkan perubahan seluler yang kemudian dievaluasi dengan kriteria skore empiris adalah sebagai berikut :

Kriteria Penilaian Derajat Perubahan Histopatologi Hepar

Skore	Tingkatan Perubahan Histopatologi
1	Keradangan
2	Degenerasi Parenkim
3	kolestasis