

BAB III
MATERI DAN METODE PENELITIAN

BAB III

MATERI DAN METODE

III.1. Tempat dan Waktu Penelitian.

Penelitian dilaksanakan di JL. Kampung Seng 53 Surabaya. Waktu pelaksanaan penelitian mulai tanggal 20 Desember 2002 samapai dengan 24 Februari 2003. Pemeriksaan pakan tinggi lemak dan pembuatan preparat histopatologis dilakukan di Laboratorium Pakan Ternak dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

III.2. Materi Penelitian

III.2.1. Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan strain CBR berumur kurang lebih 3 bulan dengan berat badan rata-rata 25 gram. Hewan percobaan tersebut diperoleh dari Pusvetma Surabaya.

III.2.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini, terdiri dari : sampel aorta, Alkohol 70 %, 80 %, 95 %, dan 96 %, Alkohol absolut I, II, III , Xylol I, II, Kloroform untuk membunuh mencit, Formalin 10 % sebagai pengawet, *Hematoxylin Eosin* (HE) untuk pewarnaan preparat, pakan lele dewasa produksi PT. Charoen Pokphand Indonesia dan pakan tinggi lemak untuk

pakan mencit, air minum PDAM Kodya Surabaya, Aquadest – Steril, dan buah mengkudu.

II.2.3. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, terdiri dari : kandang mencit yang terbuat dari kotak plastik , pinset, gunting, scalpel, neraca pegas, mikroskop, alat fotografi, pot plastik, termometer, gelas ukur 100 ml, gelas baker 250 ml, feeding tube nomor 5, alat penjepit dari kayu, penangas air, dan kain flanel.

II.3. Metode Penelitian

II.3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental (*true experimental*) dengan menggunakan cara *post test only control groups*.

II.3.2. Prosedur Penelitian

Hewan percobaan mencit (*Mus musculus*) jantan sebanyak 30 ekor dibagi dalam lima perlakuan secara acak. Masing-masing perlakuan terdiri dari enam ulangan. Perlakuan yang dibuat adalah sebagai berikut :

- Kelompok kontrol :
- Kontrol negatif (PO1) : Kelompok mencit yang diberi pakan standar dan aquadest 1 ml.

- Kontrol positif (PO 2) : Kelompok mencit yang diberi pakan tinggi lemak dan aquadest 1 ml.
- Kelompok Perlakuan :
- P1 : Kelompok mencit yang diberi pakan tinggi lemak dan infusum buah mengkudu 20% sebanyak 1 ml.
- P2 : Kelompok mencit yang diberi pakan tinggi lemak dan infusum buah mengkudu 40% sebanyak 1 ml.
- P3 : Kelompok mencit yang diberi pakan tinggi lemak dan infusum buah mengkudu 60% sebanyak 1 ml.

Sebelum penelitian dimulai, hewan percobaan di adaptasikan terhadap kondisi lingkungan penelitian selama seminggu. Pakan (pakan standar) dan air minum diberikan secara bebas (*ad libitum*) selama adaptasi. Setelah masa adaptasi selesai, hewan percobaan mulai diberi perlakuan. Pemberian infusum buah mengkudu dilakukan satu kali sehari setiap pagi hari. Setelah 60 hari perlakuan, masing-masing mencit dibedah dan diambil aortanya . Kemudian aorta dimasukkan ke dalam pot plastik yang berisi formalin 10 %. Selanjutnya aorta tersebut dibuat preparat histologis dan dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis terhadap perubahan yang terjadi.

III.3.3. Pembuatan Pakan Tinggi Lemak

Cara membuat pakan tinggi lemak adalah :

- Masing – masing bahan pakan (tepung jagung, tepung terigu, kacang hijau, tepung ikan, dan mentega) ditimbang berdasarkan kebutuhan.

- Setelah ditimbang, semua bahan pakan dicampur menjadi satu dan diaduk sampai homogen. Khusus untuk mentega, sebelum dicampur dengan bahan pakan lainnya harus dipanaskan terlebih dahulu sampai mencair.
- Setelah bahan pakan tercampur homogen, dibuat bentukan – bentukan bulat seperti bola dan dikukus selama 15 – 20 menit.
- Apabila selesai dikukus, pakan didinginkan dan digiling untuk memperoleh pakan bentuk pelet.

Tabel 1. Susunan Pakan Tinggi Lemak

Bahan	Banyaknya Dalam 1 kg Bahan
Tepung jagung	225 g
Tepung terigu	300 g
Kacang hijau	125 g
Tepung ikan	150 g
Mentega	200 g

III.3.4. Pembuatan Infusum Buah Mengkudu.

Infusum atau infus adalah sediaan galenik sederhana atau cair dan dibuat dengan menarik sari zat berkasiat dari simplisia nabati dengan air pada suhu 90⁰ C selama 15 menit (Joenoes, 1995). Infusum simplisia yang mengandung lendir tidak boleh diperas, tetapi harus diremas dengan air hingga membentuk massa seperti bubur (Anonimus, 1995 ; Arief, 2000).

Dari definisi di atas, maka untuk membuat infusum buah mengkudu adalah buah mengkudu yang sudah dibuang bijinya ditimbang, kemudian dicampur dengan air secukupnya untuk diremas hingga membentuk massa seperti bubur. Selanjutnya dipanaskan di atas penanganas air selama 15 menit sejak suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Setelah itu, simplisa tersebut di saring untuk memperoleh infusum buah mengkudu yang dikehendaki.

III.3.5. Pemeriksaan Histopatologis Aorta

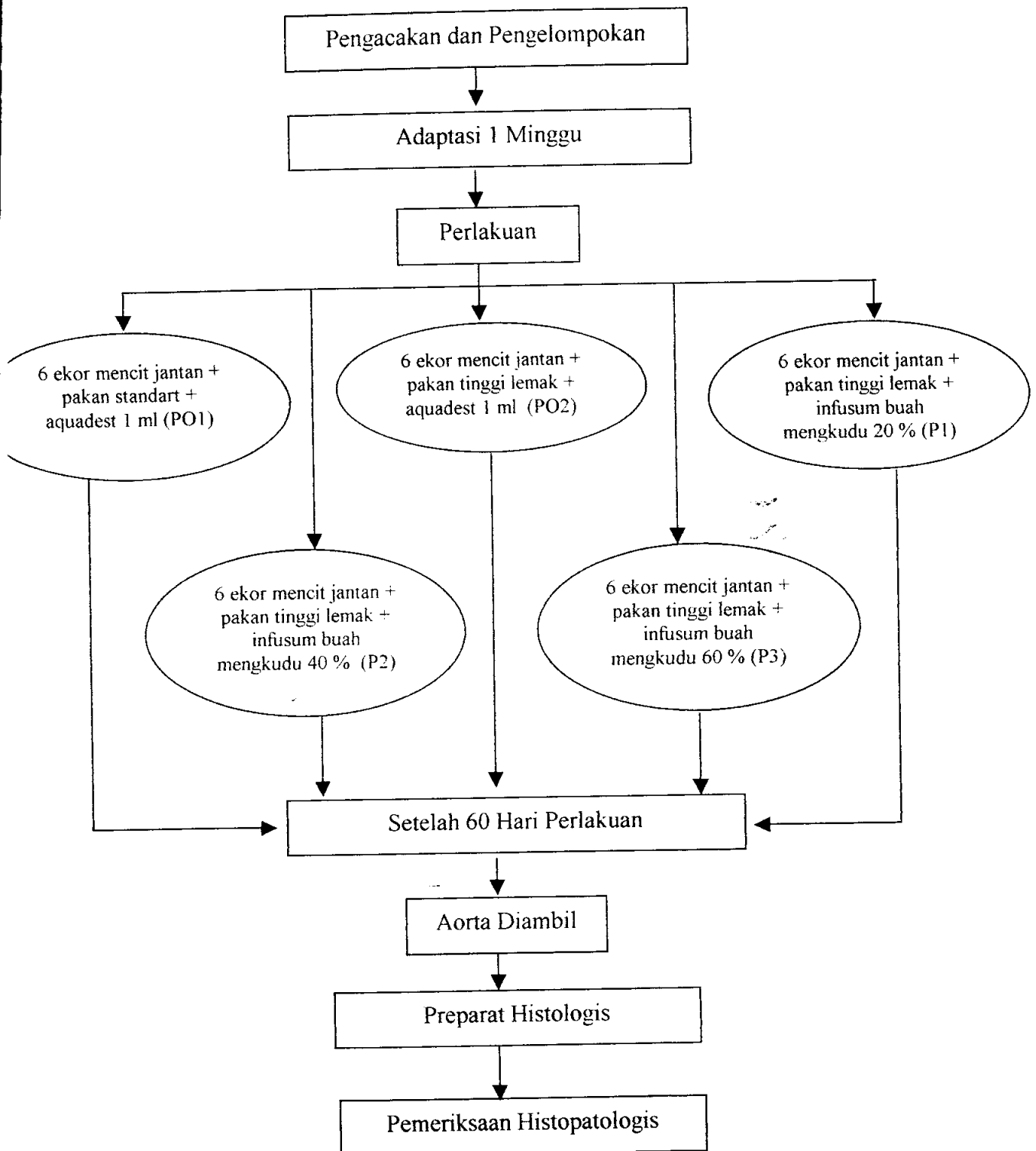
Pemeriksaan histopatologis aorta dilakukan dengan mengukur ketebalan tunika media. Pengukuran ketebalan tunika media dilakukan dengan menggunakan mikroskop *Leitz* Monokuler yang dilengkapi dengan mikrometer dan dikerjakan pada pembesaran 400 x. Ketebalan tunika media yang diukur adalah jarak yang dibuat oleh lapisan sabut elastis tunika media yang terdalam dan lapisan sabut elastis tunika media yang terluar. Pada setiap bagian, ketebalan tunika media yang diukur adalah tunika media yang terkecil. Hal ini bertujuan untuk memperkecil kesalahan pengukuran yang terjadi akibat pemotongan mikrotom yang tidak tegak lurus pada sumbu potong (Karsner, 1938).

III.4. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebas adalah pemberian infusum buah mengkudu, sedangkan variabel tidak bebasnya adalah ketebalan tunika media aorta.

III.5. Analisis Data.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis varian dan bila terdapat perbedaan di lanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (5 %).

ALUR PENELITIAN

Gambar 7. Alur Penelitian