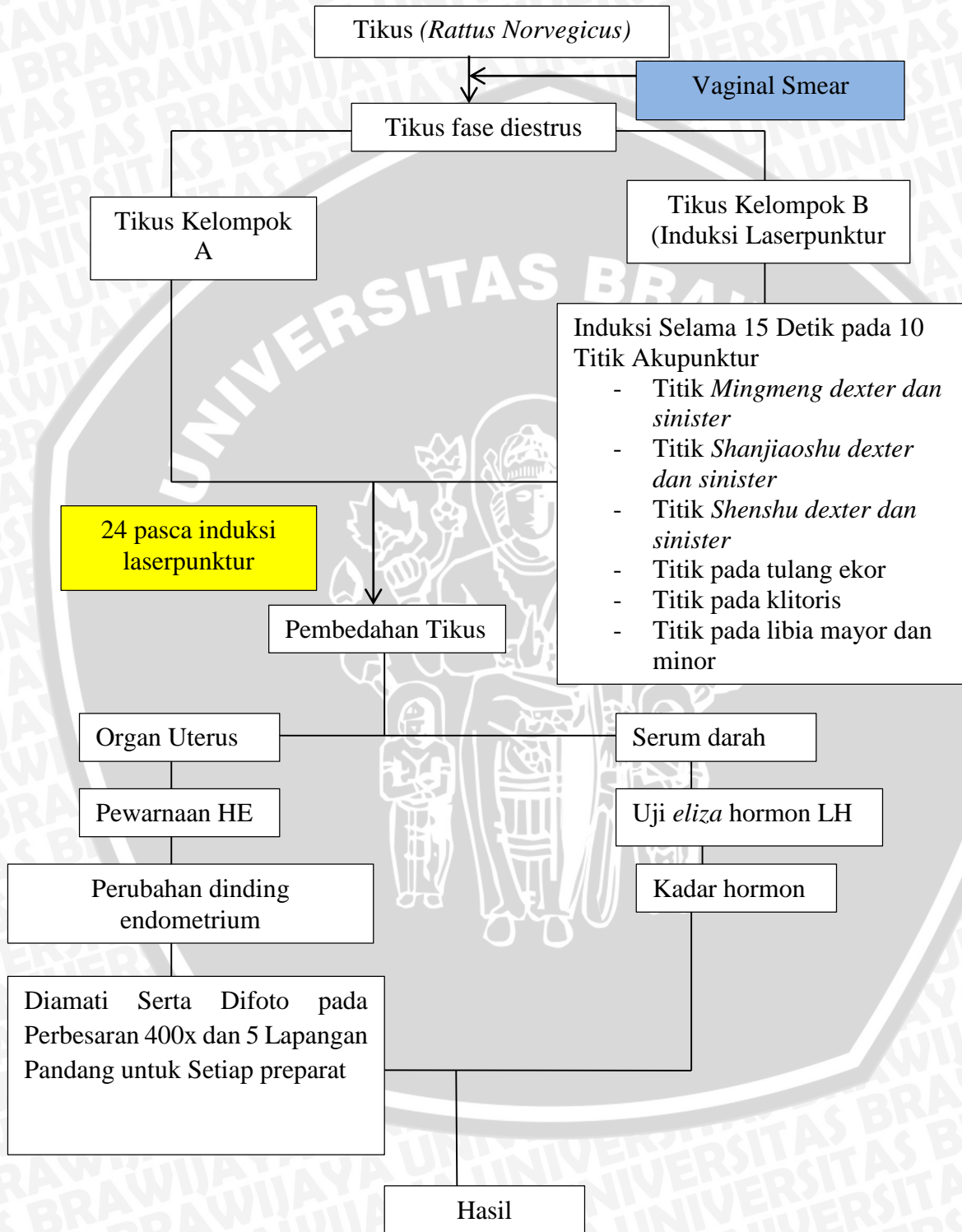


UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LAMPIRAN



Lampiran 1. Kerangka Operasional



Lampiran 2. Pengambilan organ pada hewan coba

Tikus (*Rattus norveicus*)

- Di euthanasi dengan cara dislokasi leher
- Diletakkan diatas namapan bedah pada posisis ventral
- Dibedah dari bagian abdomen hingga ronggga abdomen terbuka

Uterus

- Dibersihkan dengan NaCl fisiologis
- Salah satu direndam PBS pH 7,4
- Lainnya dimasukkan dalam paraformaldehid (PFA)

Uterus dalam PFA 10%

Pembuatan preparat organ

Uterus dalam PFA 10%

- Diambil dan dimasukkan dalam etanol 70% selama 24 jam
- Dimasukkan dalam etanol 80 % selama 2 jam
- Dimasukkan dalam etanol 90% selama 20 menit
- Dimasukkan dalam etanol 95% selama 20 menit
- Dipindahkan dalam etanol absolut selam 3 x 30 menit

Uterus hasil dehidrasi dengan etanol

- Dimasukkan dalam larutan xylol I selama 60 menit pada suhu ruang
- Dimasukkan dalam larutan xylol II selama 60 menit pada suhu 60-63° C
- Dimasukkan dalam larutan xylol III selama 30 menit pada suhu ruang dan 30 menit pada suhu inkubator
- Dichelupkan pada blok parafin cair selama 3 x 60 menit pada suhu 56-58° C

Uterus dalam blok parafin

- Diiris seukuran 4µm
- Didinginkan diatas air dingin
- Dimasukkan dalam air hangat pada suhu 37° C
- Diambil dan diletakkan pada gelas objek
- Preparat uterus disimpan dalam inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam

Preparat Uterus siap diwarnai

Lampiran 3. Pewarnaan Hematosilin-Eosin

Preparat Uterus

- dideparafinasi dengan xilol selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol absolut selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 95% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 90% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 80% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 70% selama 5 menit
- dicuci dengan air mengalir selama 15 menit
- direndam dalam akuades steril selama 5 menit

Preparat Uterus

- diwarnai dengan Hematoksilin selama 10 menit atau sampai diperoleh hasil terbaik
- dicuci dengan air mengalir selama 30 menit
- dibilas dan direndam dengan akuades selama 5 menit
- diwarnai dengan Eosin selama 5 menit
- dicuci kembali dengan air mengalir selama 10 menit
- dicuci air dengan akuades selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 70% selama 5 detik
- dimasukkan dalam etanol 80% selama 5 detik
- dimasukkan dalam etanol 90% selama 5 detik
- dimasukkan dalam etanol 95% selama 5 detik
- dimasukkan kedalam etanol absolut 3 x 2 menit
- dimasukkan dalam larutan xilol 3 x 3 menit
- dikering anginkan dan ditutup dengan *cover glass*
- *dimounting* dengan menggunakan entellan
- ditutup dengan *cover glass*

Preparat Uterus

Lampiran 4. Kadar Hormon LH menggunakan *Sandwich-Eliza kit*.

Tambah standar 100 μ L atau sampel untuk masing-masing dengan baik. Inkubasi 90menit pada 37 °C

Buang cairan. Tambahkan 100 μ l antibodi boitin. Inkubasi 60 menit pada 37 °C

Aspirasi dan cuci 3 kali

Tambahkan 100 μ l HRP *Coniugated*. Inkubasi 30 menit

Aspirasi dan cuci 5 kali

Tambahkan 90 μ l Substrat. Inkubasi 15 menit pada 37°C

Tambahkan 50 μ l *stop solution*. Baca pada ELISA reader di

Perhitungan hasil

Lampiran 5. Sertifikat Laik Etik Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya

**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**
Jl. Veteran Malang 65145
Telp/Fax (0341) 559054, 575836
E-mail : bioetikub@ub.ac.id



Judul Penelitian : Studi Induksi Laserpunktur Sebagai Metode Gertak Birahi Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Fase Diestrus Terhadap Kadar Estrogen Dan Gambaran Histologi Folikel De Graaf

Tim Peneliti yang terlampir pada Sertifikat dengan nomer (No:256-KEP-UB)

Ketua Peneliti : Juniar Ardianti Putri

Anggota Peneliti :

Ernawati Suseno : 105130101111015

Tenty Lailina : 105130101111025

Uno W : 105130101111022

Vinda Ovischa E : 105130101111037



Ketua
Komisi Etik Penelitian

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 256-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : STUDI INDUKSI LASERPUNKTUR SEBAGAI METODE
GERTAK BIRAHU PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)
FASE DIESTRUS TERHADAP KADAR ESTROGEN
DAN JUMLAH FOLIKEL DE GRAAF PADA HISTOLOGI
OVARIVM

PENELITI : JUNIAR ARDIANTI PUTRI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 11 September 2014

Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya

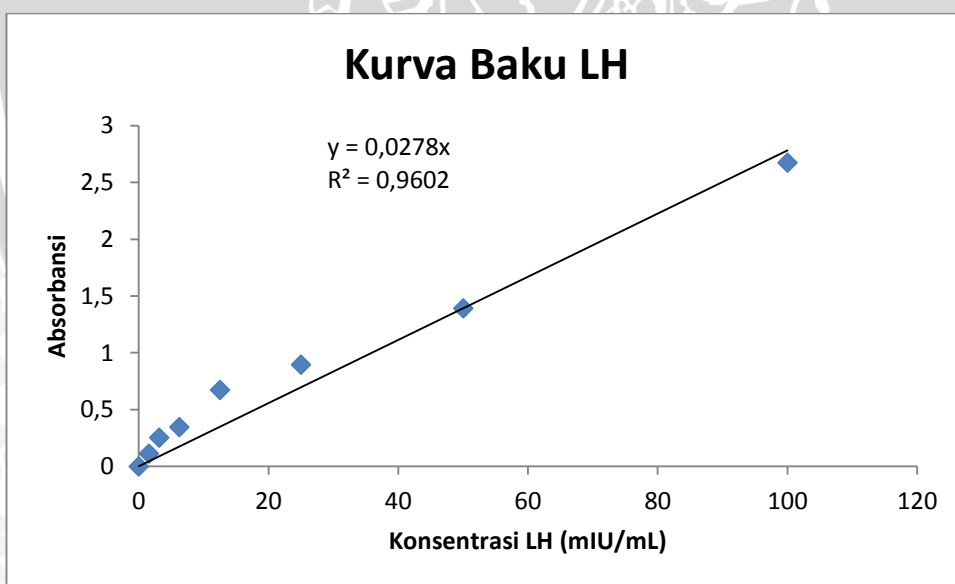


Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001



Lampiran 6. Hasil analisa LH

No	Kontrol	Induksi Laserpunktur
Konsentrasi LH (mIU/mL)	1	4,259
	2	6,519
	3	5,889
	4	4,444
	5	9,519
	6	7,000
	7	4,519
	8	7,407
	9	4,519
Rata-rata	6,008	10,284



Lampiran 7. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	,78602770
Most Extreme Differences	Absolute	,160
	Positive	,097
	Negative	-,160
Kolmogorov-Smirnov Z		,480
Asymptotic Significance (2-tailed)		,975

a. Test Distribution is Normal

b. Calculated from data

Dari hasil pengujian normalitas pada tabel 1 kadar LH menunjukkan nilai dari *Kolmogorov – Smirnov Test* dengan nilai signifikan (p) sebesar 0,975. Oleh karena kedua nilai $p > 0,05$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima dapat disimpulkan bahwa data kadar LH yang digunakan mempunyai distribusi yang normal.

Lampiran 8. Uji t Tidak Berpasangan

Group Statistics

perlakuan tikus		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
LH	induksi	9	10,28411	,850203	,283401
	non induksi	9	6,00811	,615630	,205210

Indep Test ...

		LH	
		Equal variances ...	Not Equal variances ...
Levene Test ...	F	,200	
	Significance	,661	
t-test for Equality...	t	12,221	12,221
	df	16	14,580
	Sig(2-tailed)...	,000	,000
	Mean Difference	4,276000	4,276000
	Std. Error Diff...	,349896	,349896
	95% Confidence Interval of the Difference		
		Lower	3,534253
		Upper	5,017747
			3,528339
			5,023661

Dari hasil pengujian pada kadar LH menunjukkan nilai dari uji F dengan nilai signifikan ($p > 0,05$) sebesar 0,661. Dari hasil uji t tidak berpasangan dengan dasar *Equal variances assumed* kadar LH menunjukkan nilai signifikan ($p < 0,05$) sebesar 0,00, yang berarti kadar LH pada perlakuan induksi mempunyai rata-rata yang lebih tinggi dan berbeda nyata dari perlakuan non induksi.



Lampiran 9. Induksi Laserpunktur pada tikus

