

BAB III METODOLOGI

3.1. Waktu dan Tempat

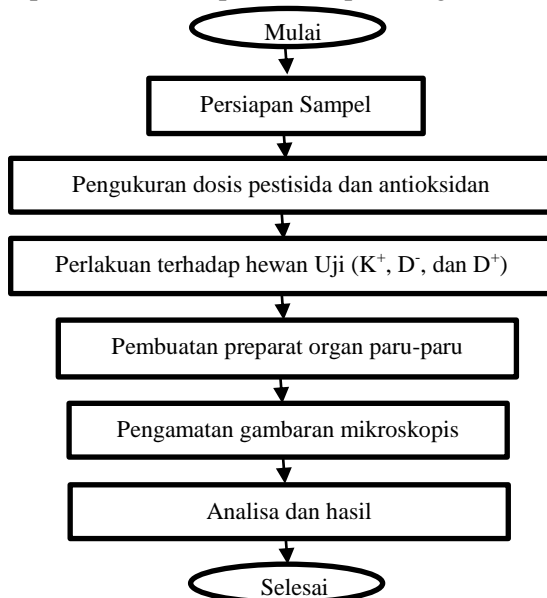
Penelitian ini dilaksanakan selama \pm 5 bulan pada bulan Oktober 2016 sampai dengan Februari 2017 yang dilaksanakan di laboratorium fisiologi hewan Fakultas Sains Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan laboratorium biofisika Universitas Brawijaya.

3.2. Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain mikroskop, box plastic kandang mencit, alat bedah, sonde lambung, pipet tetes, masker dan sarung tangan. Sedangkan bahan yang digunakan untuk penelitian ini antara lain pestisida diazinon, ekstrak teripang, mencit, pelet, air mineral, aquades, klorofoam, formalin, alkohol, xilol, ethanol, sekam, paraffin, dan hemaktosilin-eosin.

3.3. Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini dapat dilihat pada bagan dibawah ini:



Gambar 3.1 Tahapan Penelitian

3.3.1 Persiapan sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan berupa mencit dengan jumlah 55 ekor dengan kondisi seluruh hewan uji dalam keadaan sehat. Hewan uji diletakkan dalam box plastic kandang dengan diberi sekam, pellet dan air mineral. Masing-masing kandang berisi 5 mencit dengan jumlah kandang sebanyak 11 buah. Hewan uji dari penelitian ini dapat dikelompokkan menjadi 3, antara lain:

Tabel 3. 1 Kelompok perlakuan hewan uji coba

Kelompok	Perlakuan	
	Pestisida diazinon	Ekstrak teripang
K+	-	-
D-	√+	-
D+	√+	√+

Terdapat lima variasi dosis pestisida diazinon pada kelompok perlakuan D- dan lima variasi dosis antioksidan pada kelompok perlakuan D+ yang disajikan dalam bentuk tabel 3.2

Tabel 3.2 Persiapan pengelompokan dosis pestisida dan antioksidan

Kontrol Positif		Tanpa pemberian pestisida diazinon dan tanpa diberi ekstrak tripang
Diazinon Negatif	1	Pemberian pestisida dengan dosis 50 mg/1 liter aquades
	2	Pemberian pestisida dengan dosis 75 mg/1 liter aquades
	3	Pemberian pestisida dengan dosis 100 mg/1 liter aquades
	4	Pemberian pestisida dengan dosis 125 mg/1 liter aquades
	5	Pemberian pestisida dengan dosis 150 mg/1 liter aquades

		liter aquades
Diazinon Positif	1	Pemberian pestisida dengan dosis maksimal ($D_{(m)}$) dan pemberian ekstrak tripang 0,01714 ml
	2	Pemberian pestisida dengan dosis maksimal ($D_{(m)}$) dan pemberian ekstrak tripang 0,03428 ml
	3	Pemberian pestisida dengan dosis maksimal ($D_{(m)}$) dan pemberian ekstrak tripang 0,051428 ml
	4	Pemberian pestisida dengan dosis maksimal ($D_{(m)}$) dan pemberian ekstrak tripang 0,068571 ml
	5	Pemberian pestisida dengan dosis maksimal ($D_{(m)}$) dan pemberian ekstrak tripang 0,08571 ml

3.3.2 Pengukuran dosis pestisida diazinon

Dosis pestisida diazinon yang dianjurkan untuk sekali penyemprotan pada tanaman yang terdapat hama tanaman adalah 50 mg/L dimana dosis tersebut untuk semua jenis paparan baik manusia, hewan, maupun tumbuhan maka didapatkan dosis bertingkat pestisida diazinon untuk mencit:

Dosis 1 = 50 mg/L diberikan selama 14 hari

Dosis 2 = 75 mg/L diberikan selama 14 hari

Dosis 3 = 100 mg/L diberikan selama 14 hari

Dosis 4 = 125 mg/L diberikan selama 14 hari

Dosis 5 = 150 mg/L diberikan selama 14 hari

3.3.3 Pengukuran dosis ekstrak teripang

Dosis ekstrak teripang untuk manusia adalah 20 ml dengan anjuran minum 3 kali sehari. Sehingga dalam satu hari manusia mengkonsumsi 60 ml ekstrak teripang. konversi dosis dari manusia ke mencit adalah:

$$60 \text{ ml} \times \frac{0,02 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} = 0,01714 \text{ ml}$$

Jumlah dosis yang diberikan ke mencit dalam satu hari adalah 0,01714 ml ekstrak teripang. Maka didapatkan dosis bertingkat ekstrak teripang untuk mencit :

Dosis 1 = 0,01714 ml

Dosis 2 = 0,03428 ml

Dosis 3 = 0,051428 ml

Dosis 4 = 0,068571 ml

Dosis 5 = 0,08571 ml

3.3.4 Persiapan Alat dan Perlakuan

Rangkaian alat pada penelitian dimulai dari persiapan sonde lambung. Percobaan ini dibagi menjadi dua tahap yaitu, tahap pertama (1) pemberian pestisida diazinon dan tahap kedua (2) pemberian diazinon dengan dosis efektif dan antioksidan ekstrak teripang.

1. Tahap 1

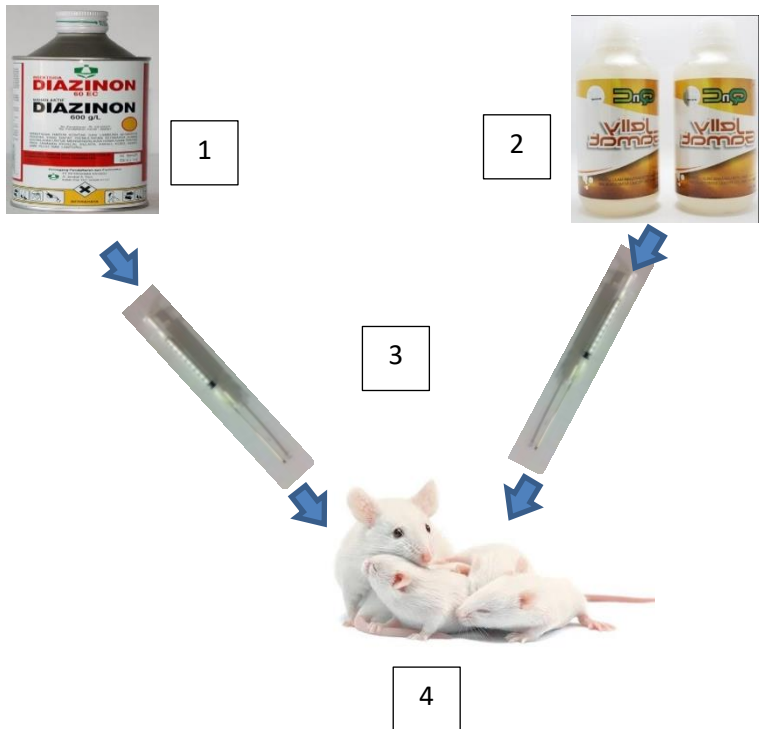


Gambar 3.2 Rangkaian Alat Tahap 1

Keterangan:

1. Sonde lambung
2. Pestisida diazinon
3. Mencit

2. Tahap 2



Gambar 3.3 Rangkaian Alat Tahap 2

Keterangan:

1. Petisida diazinon
2. Ekstrak teripang
3. Sonde lambung
4. Mencit

3.3.4.1 Pestisida yang Digunakan

Pestisida yang digunakan dalam penelitian ini adalah pestisida dengan jenis insektisida golongan organofosfat mengandung senyawa aktif diazinon. Pestisida ini merupakan pestisida yang banyak digunakan dalam bidang pertanian.

3.3.4.2 *Persiapan Ekstrak Teripang*

Ekstrak teripang yang diberikan kepada mencit berupa cairan yang sudah dijual dipasaran. Ekstrak teripang diberikan pada mencit dengan cara oral menggunakan sonde lambung. Dosis ekstrak teripang yang diberikan pada mencit disesuaikan dengan berat badan mencit.

3.3.5 **Pembuatan preparat**

Pengukuran sampel pada penelitian ini dapat diuraikan sebagai berikut:

1. Mencit dibius menggunakan klorofoam kemudian mencit dimasukkan dalam kotak sampai terlihat lemas
2. Mencit yang telah dibedah, diambil sampel organ paru-paru
3. Kemudian difiksasi dengan cara direndam dalam formalin 10% selama lebih dari 24 jam
4. Dimasukkan kedalam larutan etanol secara bertingkat etanol 70%, 80%, 90%, 95% dan 96% selama 30 menit. Khusus untuk etanol 95% dan 96% dilakukan 2 kali perendaman.
5. Preparat kemudian dimasukkan kedalam xilol selama 3 x 30 menit
6. Preparat dipindahkan kedalam paraffin cair dalam blok preparat
7. Dicetak preparat dipotong dan ditempelkan pada objek gelas yang telah diberi entelan dan dipanaskan dengan suhu 2-5°C dibawah titik lebur paraffin (sekitar 40°C) sampai kering
8. Dimasukkan kedalam xylol murni selama 5-10 menit
9. Ambil preparat dan masukkan kedalam larutan etanol berturut-turut 96%, 95%, 90%, 80% dan 70% selama 5-10 menit
10. Dicuci dengan air kemudian diwarnai menggunakan hemaktosilin-eosin selama 1-2 menit
11. Bilas dengan air, kemudian dikeringkan pada suhu kamar dan ditutup dengan obyek gelas
12. Diamati di mikroskop dengan pembesaran 100 kali.

3.4 Pengamatan dan Analisis data

3.4.1 Cara membaca data dari preparat

Cara membaca data dari preparat dari penelitian ini dengan meletakkan preparat yang telah disiapkan di bawah mikroskop. Kemudian preparat diatur sampai objek yang akan teramati dapat terlihat jelas dengan perbesaran mikroskop 400 kali. Setelah objek terlihat dilakukan pengambilan gambar serta mengamati bagian-bagian dalam sampel antara lain:

1. Luas sampel
2. Kerusakan sel dengan menghitung jumlah sel rusak dalam satu sampel
3. Sel sehat

Kemudian lakukan pengulangan pembacaan data untuk sampel dengan sisi yang berbeda dalam satu preparat. Pembacaan data dilakukan minimal 5 sampel.

3.4.2 Perhitungan kerusakan dan perbaikan sel

Setelah proses pembacaan data dari penelitian ini selesai selanjutnya akan dilakukan pengolahan data dengan menggunakan *Microsoft Excel 2010* untuk mengetahui persentase kerusakan dan perbaikan sel darah dengan rumus perhitungan persentase kerusakan sebagai berikut:

$$\% \text{kerusakan} = \frac{\sum \text{sel rusak}}{\sum \text{sel dalam 1 lapang pandang}} \times 100 \%$$

$$\% \text{kerusakan} = \frac{\sum \text{sel rusak}}{\sum \text{sel dalam 1 lapang pandang}} \times 100 \%$$

(Halaman ini sengaja dikosongkan)