

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental murni dengan Rancangan Acak Terkontrol.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2011 di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama 15 hari. Pembedahan organ testis mencit (*Mus musculus L*) dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Lampung.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dari penelitian ini merupakan mencit (*Mus musculus L*) dewasa berjenis kelamin jantan dengan strain DD webster. Usia mencit 12-16 minggu dengan berat badan 25-35 gram dan dalam kondisi sehat yang ditandai dengan gerakan aktif. Sampel diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Besar sampel ditentukan berdasarkan buku panduan

penelitian WHO yaitu minimal 5 ekor mencit tiap kelompok dan dengan menggunakan rumus Frederer seperti di bawah ini:

$$(t-1)(n-1) \leq 15$$

$$(5-1)(n-1) \leq 15$$

$$4(n-1) \leq 15$$

$$4n - 4 \leq 15$$

$$4n \leq 19$$

$$n \leq 4,83$$

$$n = 5$$

t = kelompok perlakuan (5 kelompok)

n = jumlah pengulangan atau sampel tiap kelompok

Sampel yang dipilih ialah sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Adapun kriterianya ialah sebagai berikut:

Kriteria inklusi :

1. Sehat
2. Memiliki berat badan antara 25-35 gr
3. Jenis kelamin jantan
4. Usia 12-16 minggu

Kriteria eksklusi:

1. Sakit (penampakan bulu kusam, rontok atau botak, dan aktifitas kurang atau tidak aktif).

2. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah 1 minggu masa adaptasi di laboratorium.

D. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Penelitian

Pada penelitian ini alat yang digunakan ialah: seperangkat alat bedah, mikroskop, pipet tetes, erlenmeyer, mikrotom, mikrometer, soxhlet, objek glass, alumunium foil, neraca analitik, kandang mencit yang terbuat dari kawat sebanyak 5 kandang, spuit yang ujungnya telah ditumpulkan atau sonde lambung, spuit 1ml, botol gelap, dan tempat minum mencit.

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah : mencit jantan (*Mus musculus, L*) strain DD webster dewasa. umur 12-16 minggu dengan berat 25-35 gram dan sehat. Vitamin C sintetik, Monosodium glutamat murni, NaCl 0,9%, pelet ayam sebagai pakan mencit, alkohol 70-100%, paraffin, xylol, canada balsam, dan zat warna HE (Haematoksilin-Eosin) dan aquadest.

E. Prosedur Penelitian

1. Pemeliharaan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus L*) jantan strain DD webster dewasa. Umur 12-16 minggu dengan berat 25-35 gram dan sehat. Dasar kandang dilapisi dengan sekam padi setebal 0,5-1 cm dan diganti setiap tiga hari untuk mencegah infeksi yang dapat terjadi akibat kotoran mencit tersebut. Dalam 1 kelompok, 5 ekor mencit ditempatkan dalam 1 kandang. Cahaya ruangan dikontrol persis 12 jam terang (pukul 06.00 sampai dengan pukul 12.00) dan 12 jam gelap (pukul 18.00 sampai dengan pukul 06.00), sedangkan suhu dan kelembaban ruangan dibiarkan berada dalam kisaran alamiah. Kandang ditempatkan dalam suhu kamar dan cahaya menggunakan sinar matahari tidak langsung.

Makanan hewan percobaan diberikan berupa pelet ayam. Makanan dan minuman diberikan secukupnya dalam wadah terpisah dan diganti setiap hari. Makanan yang diberikan pada mencit berupa pelet ayam, sedangkan air minum yang diberikan berupa air putih yang diletakkan dalam botol plastik yang disumbat pipa aluminium. Setiap mencit diberi perlakuan sekali sehari yang dilakukan pada pagi hari selama 35 hari.

2. Persiapan Hewan Uji

Sebelum diberi perlakuan, mencit diadaptasikan selama satu minggu di kandang mencit di tempat dilaksanakannya penelitian, yaitu laboratorium Fakultas Kedokteran Unila. Terhadap setiap mencit ditimbang berat badannya dan diamati kesehatannya secara fisik (gerakannya, makan dan minumannya), sebelum diberi perlakuan.

3. Penyediaan Vitamin C dan Monosodium Glutamat

Vitamin C yang digunakan merupakan vitamin C sintetis yang terdapat dipasaran, kemudian di encerkan dalam 0,5 ml aquadest. Sedangkan untuk Monosodium Glutamat yang digunakan merupakan MSG yang beredar dipasaran yang digunakan sehari-hari, dalam bentuk Monosodium glutamat murni yang dilarutkan dalam larutan NaCl 0,9% sebanyak 0,5 ml

a. Prosedur pelarutan dan penghitungan dosis MSG

1) Prosedur Pembuatan Bahan Pelarut

Preparat yang digunakan berupa Monosodium Glutamat murni dalam bentuk serbuk kristal dengan kadar toksik 4 mg/g berat badan. Sedangkan larutan yang digunakan sebagai pelarut ialah NaCl (larutan garam) 0.9% sebanyak 0,5 ml. Dikarenakan konsentrasi NaCl yang 0,9% tersebut tidak ada dalam sediaan, maka terlebih dahulu dibuat larutan NaCl dengan konsentrasi 0,9%, dengan menggunakan rumus $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$. Tujuannya

adalah untuk menentukan seberapa banyak larutan NaCl yang akan dilarutkan dan seberapa banyak pelarut yang digunakan untuk menghasilkan larutan NaCl dengan konsentrasi 0,9%.

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1 = 100 \times 0,9$$

$$V_1 = (90)/1$$

$$V_1 = 90 \text{ ml NaCl}$$

Keterangan :

- Konsentrasi larutan NaCl (M_1) = 1 M
- 0,9 % = terdapat 0,9 M NaCl dalam 100 ml air
- Volume cairan pelarut (V_2): 100 ml
- Konsentrasi cairan yang dilarutkan (M_2) : 0,9 M

Maka larutan NaCl murni yang dibutuhkan untuk membuat larutan NaCl dengan konsentrasi sebesar 0,9% sebesar 90 ml. Setelah didapati volume, selanjutnya di masukan 90 ml larutan NaCl murni dan 100 ml aquades ke dalam labu ukur, setelah itu dihomogenkan/dilarutkan sehingga terbentuklah larutan NaCl 0,9%.

2) Prosedur Penghitungan Dosis

Preparat yang digunakan berupa Monosodium Glutamat murni dalam bentuk serbuk kristal dengan dosis 4 mg/g berat badan. Mencit-mencit yang digunakan dalam penelitian memiliki berat badan yang berkisar antara 25-35 gram sehingga rata-rata berat badan mencit yang dipakai adalah 30 gram.

$$\text{MSG} = \text{dosis} \times \text{berat badan mencit}$$

$$= 4 \text{ mg/gr BB} \times 30 \text{ gr}$$

$$= 120 \text{ mg}$$

Didapati berat MSG yang digunakan sejumlah 120 mg. Kemudian MSG ditimbang dengan menggunakan neraca analitik sampai berat MSG 120 mg. Setelah ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur lalu ditambahkan dengan 0,5 ml larutan NaCl 0,9%. Setelah itu diaduk dengan spatula sampai kristal MSG larut.

b. Prosedur Pengenceran Vitamin C

Preparat vitamin C yang digunakan adalah vitamin C sintetis dalam bentuk cairan yang berada dalam 1 ampul dengan konsentrasi 200mg/2ml, sehingga harus diencerkan terlebih dahulu untuk mendapatkan dosis yang tepat. Dosis tengah efektif vitamin C pada mencit adalah 0,2 mg/grBB (Fauzi, 2008). Dalam hal ini, zat yang digunakan sebagai pelarut adalah aquades. Pada kelompok perlakuan 3 dan 5 merujuk pada standar pengobatan ASEAN, digunakan dosis paling rendah yaitu 1/3 dosis dan dosis paling tinggi 3 kali dosis (anonim, 2006).

- Kontrol positif : 0,2 mg/gr BB
- Perlakuan 1 : $1/3 \times 0,2 \text{ mg/gr BB} = 0,07 \text{ mg/grBB}$
- Perlakuan 2 : 0,2 mg/gr BB
- Perlakuan 3 : $3 \times 0,2 \text{ mg/gr BB} = 0,6 \text{ mg/grBB}$

Dikarenakan sediaan digunakan dalam penelitian ini berupa vitamin C dalam bentuk cairan, maka sebelum diencerkan dikonversikan terlebih dahulu ke dalam satuan mililiter (ml).

Perhitungan volume vitamin C yang akan diencerkan ialah:

1. Dosis Vitamin C untuk kontrol :

$$\begin{aligned} K &= \text{dosis} \times \text{berat badan} \\ &= 0,2 \text{ mg/gr BB} \times 30 \text{ gr} \\ &= 6 \text{ mg} \end{aligned}$$

Didapati dosis vitamin C dalam bentuk sediaan padat (gram) sebesar 6 gram, kemudian dikonversikan kedalam satuan mililiter dengan cara:

$$2 \text{ ml Vitamin C} = 200 \text{ mg Vitamin C}$$

$$X = 6 \text{ mg}$$

$$X = \text{dosis Vitamin C yang di cari}$$

maka hasil yang didapat ialah:

$$X = (2 \text{ ml} \times 6 \text{ mg}) / 200 \text{ mg}$$

$$X = 0,06 \text{ ml}$$

Jadi dosis vitamin C untuk kontrol ialah 0,06 ml.

2. Dosis Vitamin C untuk Perlakuan 1 :

$$\begin{aligned} K &= \text{dosis} \times \text{berat badan} \\ &= 0,07 \text{ mg/gr BB} \times 30 \text{ gr} \\ &= 2,1 \text{ mg} \end{aligned}$$

Didapati dosis vitamin C dalam bentuk sediaan padat (gram) sebesar 2,1 gram, kemudian dikonversikan kedalam satuan mililiter dengan cara:

$$2 \text{ ml Vitamin C} = 200 \text{ mg Vitamin C}$$

$$X = 2,1 \text{ mg}$$

$$X = \text{dosis Vitamin C yang di cari}$$

maka hasil yang didapat ialah:

$$X = (2 \text{ ml} \times 2,1 \text{ mg}) / 200 \text{ mg}$$

$$X = 0,021 \text{ ml}$$

Jadi dosis vitamin C untuk perlakuan 1 ialah 0,06 ml.

3. Dosis Vitamin C untuk Perlakuan 2 :

$$K = \text{dosis} \times \text{berat badan}$$

$$= 0,2 \text{ mg/gr BB} \times 30 \text{ gr}$$

$$= 6 \text{ mg}$$

Didapati dosis vitamin C dalam bentuk sediaan padat (gram) sebesar 6 gram, kemudian dikonversikan kedalam satuan mililiter dengan cara:

$$2 \text{ ml Vitamin C} = 200 \text{ mg Vitamin C}$$

$$X = 6 \text{ mg}$$

$$X = \text{dosis Vitamin C yang di cari}$$

maka hasil yang didapat ialah:

$$X = (2 \text{ ml} \times 6 \text{ mg}) / 200 \text{ mg}$$

$$X = 0,06 \text{ ml}$$

Jadi dosis vitamin C untuk perlakuan 2 ialah 0,06 ml.

4. Dosis Vitamin C untuk Perlakuan 3 :

$$\begin{aligned} K &= \text{dosis} \times \text{berat badan} \\ &= 0,6 \text{ mg/gr BB} \times 30 \text{ gr} \\ &= 18 \text{ mg} \end{aligned}$$

Didapati dosis vitamin C dalam bentuk sediaan padat (gram) sebesar 18 gram, kemudian dikonversikan kedalam satuan mililiter dengan cara:

$$2 \text{ ml Vitamin C} = 200 \text{ mg Vitamin C}$$

$$X = 18 \text{ mg}$$

$$X = \text{dosis Vitamin C yang di cari}$$

maka hasil yang didapat ialah:

$$X = (2 \text{ ml} \times 18 \text{ mg}) / 200 \text{ mg}$$

$$X = 0,18 \text{ ml}$$

Jadi dosis vitamin C untuk perlakuan 3 ialah 0,18 ml.

Setelah dilakukan perhitungan, cairan vitamin C tersebut kemudian diambil dengan menggunakan pipet mikrometer sesuai dosisnya masing-masing, dan dimasukkan ke dalam gelas ukur satu per satu. Selanjutnya ditambahkan 0,5 ml aquades yang merupakan zat pelarut ke dalam gelas ukur, lalu dihomogenkan/dilarutkan.

4. Pemberian Perlakuan

Setiap kelompok mempunyai perlakuan yang berbeda, yaitu:

1. Kontrol (-) : hanya diberi MSG 4mg/gr berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0,9% secara intraperitoneal selama 15 hari perlakuan.
2. Kontrol (+) : diberi vitamin C 0,2 mg/g berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquadest secara oral setiap hari selama 15 hari perlakuan.
3. Perlakuan1 : diberi MSG 4 mg/g berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0.9% secara intraperitoneal setiap hari selama 15 hari + diberi vitamin C 0,07 mg/g berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquadest secara oral setiap hari selama 15 hari perlakuan.
4. Perlakuan 2: diberi MSG 4 mg/g berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0.9% secara intraperitoneal setiap hari selama 15 hari + diberi vitamin C 0,2 mg/g berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquadest secara oral setiap hari selama 15 hari perlakuan.
5. Perlakuan 3 : diberi MSG 4 mg/g berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0.9% secara intraperitoneal setiap hari selama 15 hari + diberi vitamin C 0,6 mg/g berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquadest secara oral setiap hari selama 15 hari perlakuan.

Perlakuan dilakukan selama 15 hari. Dosis toksik dari MSG didapatkan dari penelitian sebelumnya yang sudah terbukti bahwa dengan 4 mg/g berat badan, MSG menyebabkan ablasinya nukleus arkuata dan nukleus ventromedial di hipotalamus. Kedua area ini mengatur asupan makanan

(*food intake*), perilaku seks (*sex behaviour*), dan fungsi reproduksi (*reproduction function*) (Camihort *et al*, 2004, Giovambatista *et al*, 2003

F. Proses Pembedahan, Pengambilan, Penimbangan, dan Pengamatan

1. Proses Pembedahan

Setelah 35 hari perlakuan, masing-masing hewan coba dikorbankan dengan cara dislokasi leher dan selanjutnya dibedah. Mempersiapkan alat-alat bedah (bak paraffin, gunting, pinset, jarum) yang akan digunakan.

2. Proses Pengambilan dan Penimbangan Testis

Setelah pembedahan selesai, pengambilan bagian testis dengan menggunakan gunting. Kemudian meletakkan testis mencit pada kertas aluminium foil agar dapat dengan mudah memisahkan testis dengan lemak. Selanjutnya penimbangan dilakukan untuk mengetahui berat testis, dengan cara menimbang berat testis bagian kiri dan kanan mencit dengan timbangan analitik yang memiliki akurasi 0,01 g. Selanjutnya, berat kedua testis dirata-ratakan dan menjadi rata-rata testis masing-masing mencit.

3. Pembuatan Preparat Histologi

Pembuatan preparat histologi testis dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Unila. Tahap-tahap pembuatan preparat histologi sebagai berikut :

1) Trimming

Spesimen berupa potongan testis yang telah dipilih difiksasi dengan larutan pengawet berupa buffer formalin atau formalin 10% (volume spesimen : larutan = 1 : 10), kemudian dicuci dengan air mengalir lalu dipotong setebal 2-4 mm, selanjutnya memasukkan potongan tersebut ke dalam *embedding cassette* dan di cuci lagi dengan air mengalir.

2) Dehidrasi

Proses dehidrasi dilakukan secara bertahap dengan menggunakan alkohol 70% selama 10 menit, alkohol 80%,90%, 96% masing-masing selama 60 menit, kemudian alkohol absolut selama 30 menit. Setelah dehidrasi selesai, dilanjutkan dengan proses *clearing* atau penjernihan menggunakan xylol atau toluol murni.

3) Infiltrasi Parafin

Proses infiltrasi dilakukan di dalam oven dengan suhu 56⁰C. Organ testis dan epididimis dimasukan kedalam campuran toluol-parafin dengan perbandingan 1:1 selama 30 menit. Kemudian berturut-turut dimasukan kedalam:

- Parafin murni I selama 60 menit
- Parafin murni II selama 60 menit
- Parafin murni III selama 60 menit

4) Embedding (Pembenaman)

Setelah melalui proses dehidrasi, jaringan yang berada dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam *base mold*, kemudian di isi

dengan paraffin cair untuk kemudian diletakkan pada balok kayu ukuran 3 x 3 cm. Jaringan yang sudah diletakkan pada balok kayu disebut blok.

5) Cutting (Pemotongan)

Pemotongan atau *cutting* dilakukan pada ruang dingin. Sebelum dipotong, blok terlebih dahulu didinginkan. Pemotongan dilakukan hingga ketebalan 6 mikron. Setelah dipotong, pilih lembaran jaringan yang paling baik, apungkan pada air dan hilangkan kerutannya. Selanjutnya, pindahkan lembaran jaringan tersebut ke dalam *water bath* selama beberapa detik sampai mengembang sempurna, kemudian letakkan di tengah slide. Slide kemudian dimasukkan dalam inkubator (suhu 37 °C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

6) Staining (Pewarnaan)

Setelah jaringan melekat sempurna, selanjutnya dilakukan pewarnaan menggunakan zat warna Haematoxilin-Eosin dengan cara memasukkan slide secara bertahap ke dalam xylol, alkohol, aquades, hematoksilin, acid alkohol, dan eosin.

7) Mounting (Penutupan)

Setelah pewarnaan selesai, slide ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, kemudian ditetesi dengan kanada balsam dan ditutup dengan cover glass.

8) Pembacaan Slide

Slide atau preparat testis dibaca menggunakan mikroskop.

4. Pemeriksaan Histologi

Pemeriksaan struktur histologi testis dilakukan terhadap preparat awetan yang diwarnai dengan Haematoxilin-Eosin. Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran dan Laboratorium Zoologi Fakultas MIPA Unila. Adapun parameter yang akan di amati adalah:

- 1) Jumlah sel Sertoli
- 2) Jumlah sel Leydig
- 3) Diameter tubulus seminiferus

G. Perhitungan Jumlah Sel Leydig

Jumlah sel Leydig dihitung pada 10 lapang pandang. Tiap mencit dihitung jumlah sel Leydignya pada tiga preparat yang kemudian di ambil rata-rata dari ketiga preparat tersebut. Sel Leydig dihitung pada daerah di antara 3-4 tubulus seminiferus. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400X.

H. Perhitungan Diameter Tubulus Seminiferus

Pengukuran terhadap diameter tubulus seminiferus dilakukan dengan menggunakan mikrometer okuler di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40 x 10. Setelah diukur diameter tubulus seminiferus yang diperkirakan bulat, maka dihitung jumlah rata-rata tubulus seminiferus yang didapatkan.

I. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

1. Identifikasi Variabel

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis pemberian vitamin C.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah berat testis, jumlah sel Leydig, dan diameter tubulus seminiferus.

2. Definisi Operasional Variabel

Untuk memudahkan dalam pelaksanaan penelitian dan agar penelitian tidak menjadi terlalu luas, maka dibuat definisi operasional variabel yang terdapat pada tabel di bawah ini:

Tabel 2. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Skala
Dosis	Vitamin C yang diberikan pada perlakuan dalam bentuk vitamin C sintetik berupa cairan yang diberikan per oral dengan beberapa macam dosis yang berbeda pada setiap kelompok perlakuan. Dosis efektif vitamin C pada mencit adalah 0,2 mg/grBB. Dosis vitamin C 0,2 mg/grBB diberikan pada kelompok kontrol positif; 0,07 mg/grBB diberikan pada kelompok perlakuan 1; 0,2 mg/grBB diberikan pada kelompok perlakuan 2 dan 0,6 mg/grBB diberikan pada kelompok perlakuan 3.	Numerik
Berat Testis Mencit	Berat testis mencit ditimbang dengan neraca analitik dan dibandingkan beratnya antar mencit kelompok kontrol dengan mencit yang diberi perlakuan. Pada tiap-tiap mencit, testisnya ditimbang satu per satu, lalu dirata-ratakan.	Numerik
Jumlah Sel Leydig	Pengukuran jumlah sel Leydig dilakukan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400 x. Sel Leydig dihitung pada daerah di antara 3-4 tubulus seminiferus. Selanjutnya jumlah sel akan dibandingkan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	Numerik

Diameter Tubulus Seminiferus	Diameter tubulus seminiferus diukur dengan menggunakan mikrometer yang diletakkan di dalam tabung lensa objektif mikroskop dengan pembesaran 400 x. Pengukuran dilakukan dengan mengukur jarak terpanjang dan jarak terpendek dari tubulus seminiferus. Pengukuran ini akan dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi perlakuan.	Numerik
------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------

J. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

1. Rancangan Penelitian

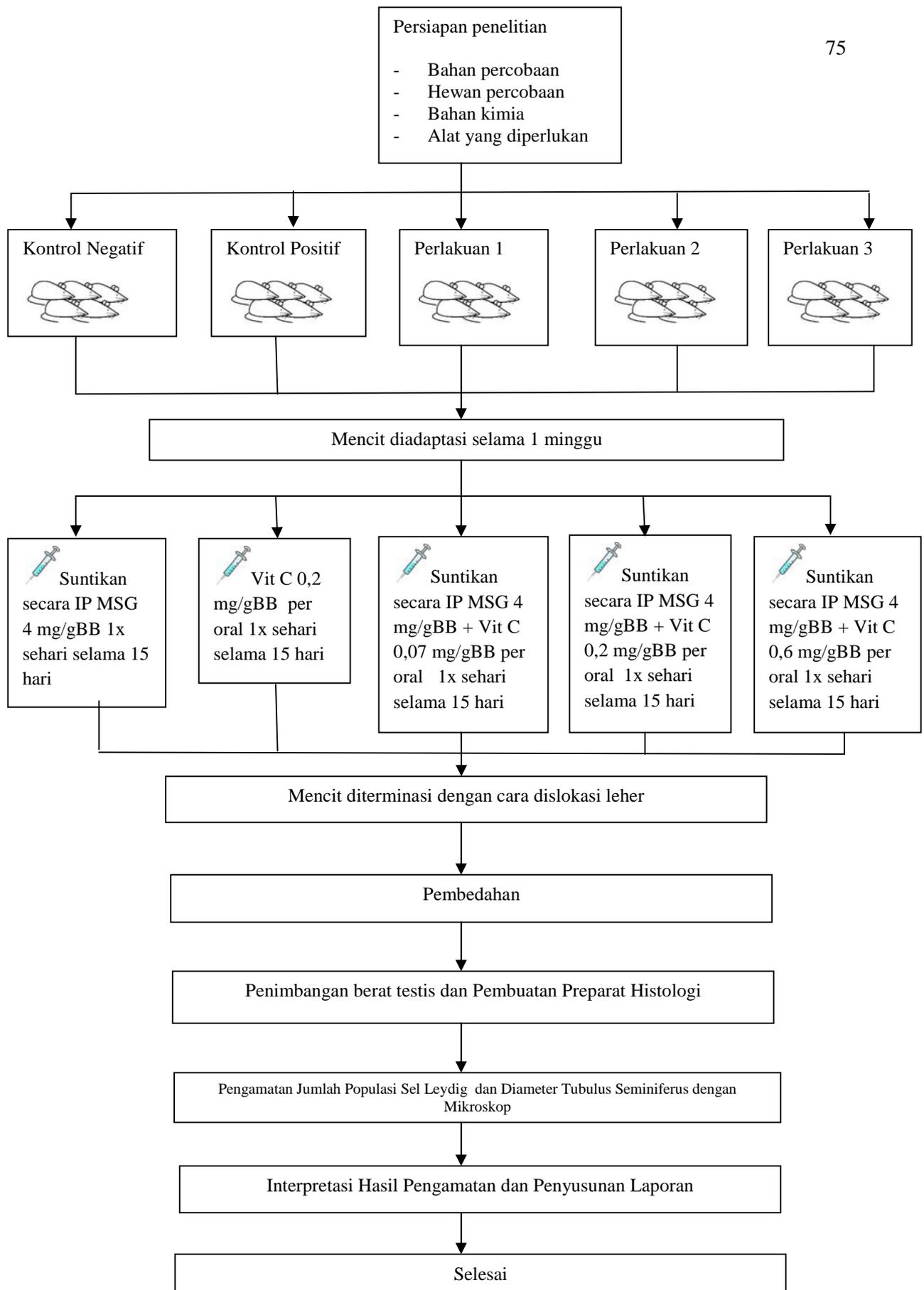
Pada penelitian ini, sampel terdiri dari 25 mencit jantan dewasa yang diambil secara acak dan dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, dimana setiap kelompok terdiri dari lima ekor mencit jantan. Kelompok tersebut terdiri dari kelompok Kontrol (-), Kontrol (+), Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2), dan Perlakuan 3 (P3). Adapun perlakuan yang diberikan pada tiap-tiap kelompok ialah sebagai berikut:

1. Kontrol (-) : mencit hanya diberi MSG 4 mg/gr berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0,9% secara intraperitoneal selama 15 hari perlakuan.
2. Kontrol (+) : mencit diberi vitamin C 0,2 mg/gr berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquadest secara oral selama satu kali sehari selama 15 hari.

3. Perlakuan 1 (P1) : mencit diberi MSG 4 mg/gr berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0,9% secara intraperitoneal setiap hari selama 15 hari, ditambah pemberian vitamin C 0,07 mg/gr berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquadest secara oral setiap hari selama 15 hari.
4. Perlakuan 2 (P2) : mencit diberi MSG 4 mg/gr berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0,9% secara intraperitoneal setiap hari selama 15 hari, ditambah pemberian vitamin C 0,2 mg/gr berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquadest secara oral setiap hari selama 15 hari.
5. Perlakuan 3 (P3) : mencit diberi MSG 4 mg/gr berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml NaCl 0,9% secara intraperitoneal setiap hari selama 15 hari, ditambah pemberian vitamin C 0,6 mg/gr berat badan yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquadest secara oral setiap hari selama 15 hari.

2. Analisis Data

Kelompok penelitian terdiri dari 5 kelompok, yaitu: 3 kelompok perlakuan dan 2 kontrol dalam 5 kali pengulangan. Pada tiap kelompok, data yang terkumpul dianalisis menggunakan program SPSS 16.00 for Windows dengan menggunakan uji Anova untuk menguji perbedaan rerata pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.



Gambar 7. Bagan Alir Penelitian