BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan percobaan faktor tunggal, yaitu pemberian perasan biji pepaya secara oral dalam berbagai kadar. Kadar yang diberikan terdiri dari kadar 0 %, 50 % dan 100 %.

Hewan uji yang digunakan adalah mencit betina dewasa strain Swiss albino yang berumur 2,5 bulan, sebanyak 15 ekor. Hewan uji ini dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan berdasarkan kadar perasan biji pepaya. Masing-masing kelompok diulang 5 kali ulangan.

Parameter yang diamati adalah ukuran diameter folikel primer dari ovarium mencit betina, jumlah folikel primer dan sekunder serta folikel tersier dari ovarium mencit betina dan bobot organ reproduksi (ovarium, uterus dan vagina).

4.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret – Juni 2001 dengan waktu aktif 4 minggu. Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi struktur dan fungsi hewan, jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam, Universitas Diponegoro, Semarang.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

4.2. Bahan dan Alat

4.2.1. Bahan

Bahan yang dgunakan dalam penelitian ini adalah : 15 mencit betina dewasa strain Swiss albino, biji dari pepaya mengkal, akuades, pakan dan bahan untuk pembuatan preparat.

4.2.2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : kandang mencit, tempat makan dan minum, plastik, timbangan, s*puit,* blender, mikrometer, gelas ukur, gelas piala, mikroskop, alat hitung (counter), *disecting set* (alat bedah), satu set alat untuk pembuatan preparat dan foto preparat.

4.3. Cara Kerja

4.3.1. Aklimasi

Lima belas ekor mencit betina terlebih dahulu diaklimasi, yaitu aklimasi oral dan aklimasi kandang. Aklimasi dilakukan selama satu minggu.

4.3.2. Pembuatan Perasan Biji Pepaya

- Biji pepaya yang digunakan adalah biji pepaya yang berasal dari buah pepaya yang mengkal, dengan ciri-ciri antara lain : terdapat warna semburat kuning pada kulit buah, warna daging buah kuning merata, produksi papain rendah, dan berumur 2,5 – 3 bulan dari waktu berbunga (wawancara dengan Heryanto, Produsen Enzim Papain, Boja, Semarang)

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

- Biji pepaya dengan kadar 100 % dibuat dari biji pepaya ditambah akuades dengan perbandingan yang sama kemudian dihancurkan dan disaring, sehingga didapatkan cairan biji pepaya, kemudian dianggap sebagai kadar 100 %.
- Perasan dengan kadar 50 % diperoleh dengan cara menambahkan 50 % akuades ke dalam 50 % larutan dari kadar 100 %.
- Kadar 0 % adalah kadar tanpa diberikan perasan biji pepaya (hanya akuades) dan kadar ini dianggap sebagai kontrol.

4.3.3. Cara Perlakuan

1) Dilakukan pengelompokan mencit betina berdasarkan perlakuan yang akan diberikan, yaitu :
   - Kelompok I : 5 ekor mencit betina dengan perlakuan tanpa perasan biji pepaya / kontrol (kadar 0 %).
   - Kelompok II : 5 ekor mencit betina dengan perlakuan pemberian perasan biji pepaya dengan kadar 50 %.
   - Kelompok III : 5 ekor mencit betina dengan perlakuan pemberian perasan biji pepaya dengan kadar 100 %.
2) Masing – masing mencit betina diberi perasan biji pepaya secara oral dengan menggunakan spuit sebanyak 0,1 ml / rata-rata berat badan awal, sekali sehari.
3) Perlakuan diberikan setiap pukul 09.00 WIB.
4) Perlakuan diberikan setiap hari selama 15 hari (3 kali siklus estrus).

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

4.3.4. Cara Pemeliharaan

- Pakan diberikan secara *ad libitum.*
- Untuk sanitasi dan kontrol kesehatan, kandang dan lingkungan selalu dijaga dan dibersihkan.

4.3.5. Parameter Penelitian

Respon ovarium yang diharapkan setelah pemberian perlakuan adalah terjadinya perubahan ovarium yang ditandai dengan perubahan perkembangan folikel ovarium. Perkembangan folikel ovarium ini dapat dilihat dari perbedaan diameter folikel, jumlah folikel serta bobot organ reproduksi.

1) Diameter Folikel Ovarium

Ukuran folikel ovarium didapat melalui pengamatan dengan menggunakan mikroskop yang dilengkapi dengan mikrometer melalui preparat histologis ovarium. Preparat histologis ovarium dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan HE. Preparat diambil dari sayatan ovarium pada bagian terbesar (bagian tengah ovarium), 20 sayatan sebelum dan 20 sayatan sesudah bagian tengah. Tebal masing-masing sayatan adalah 6 µm. Ukuran folikel ovarium yang diukur adalah folikel primer ovarium mencit betina.

Ukuran yang dipakai untuk mengukur sebelumnya telah dilakukan peneraan. Cara peneraan ukuran diameter folikel ovarium adalah :

- Lensa objektif terdiri dari 25 garis utama sepanjang 2,5 cm = 2,5 cm : 25 = 0,1 cm
- Satu garis utama terdiri dari 10 garis pendukung = 0,1 cm : 10 = 0,01 cm
- Satu garis pendukung terdiri dari 5 garis = 0,01 cm : 5 = 0,002 cm

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

- Satu garis lensa objektif terdiri dari 9 garis lensa okuler = 0,002 cm : 9 = 0,00022 cm = 0,22 mm = 2,2 μm, sehingga 1 garis di lensa okuler dikalikan dengan 2,2 μm untuk mengukur diameter folikel ovarium.

2) Jumlah Folikel Primer dan Sekunder serta Folikel Tersier Ovarium

Jumlah folikel ovarium didapat melalui penghitungan pada foto preparat ovarium dengan 40 kali perbesaran. Jumlah folikel yang dihitung adalah folikel primer dan sekunder serta folikel tersier. Folikel dihitung dengan cara manual, yaitu memberikan tanda pada folikel yang sudah terhitung, untuk mencegah folikel terhitung dua kali.

3) Bobot Organ Reproduksi

Bobot organ reproduksi yang meliputi ovarium, uterus dan vagina ditimbang dengan menggunakan timbangan digital dengan ketelitian dua angka di belakang koma. Bobot organ reproduksi ini didapatkan setelah pembedahan yang sebelumnya dibersihkan dari lemak dan jaringan lainnya.

4) Bobot Badan Awal

- Bobot badan masing-masing hewan uji ditimbang pada awal pemeliharaan,untuk mendapatkan nilai koefisien keragaman.
- Bobot badan mingguan diperoleh dengan cara menimbang hewan uji menggunakan timbangan manual dengan ketelitian dua angka di belakang koma.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

4.3.6. Analisis Data

Data yang diperoleh untuk tiap parameter dianalisis dengan analisis varian menggunakan rancangan dasar acak lengkap dengan ulangan tidak sama, dengan tarap uji 5 %. Jika F hitung lebih besar dari F tabel, maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji BNT dengan taraf kesalahan 5 %.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)