

BAB IV

METODOLOGI

A. Tempat dan waktu pelaksanaan

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Struktur dan Fungsi Hewan jurusan Biologi FMIPA Universitas Diponegoro pada bulan Maret– April 2001.

B. Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan. Masing-masing perlakuan menggunakan 5 ulangan hewan uji.

C. Bahan dan alat

1. Bahan

a. Bahan uji

Bahan yang diuji aktivitas biologisnya adalah biji pepaya Thailand mengkal segar. Biji pepaya diperoleh dari koperasi Usaha Mulia Plamongan Indah Semarang. Sebagai pelarutnya digunakan akuades.

b. Hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) strain Swiss albino umur 2,5 bulan dengan berat 25-30 gram. Pellet untuk makanan hewan uji berupa pakan ternak CP 594 produksi PT. Charoen Pokphand Indonesia dengan komposisi : kadar air maksimal 13 %, protein minimal 17 %, lemak minimal 4 %, serat maksimal 9 %, abu maksimal 9 %, kalsium minimal 3,5 %, fosfor minimal 0,7 %.

c. Bahan pewarna apus vagina

Perwarnaan apus vagina menggunakan *giemsa* 0.1% dan garam fisiologis (NaCl 0,9 %) sebagai pelarut.

2. Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah seperangkat kandang mencit dan perlengkapannya, timbangan dengan ketelitian 0,1 gram, mikroskop cahaya, pipet tetes, jarum “gavage”, gelas benda, dan blender.

D. Cara kerja

1. Cara-cara pemeliharaan

a. Aklimasi hewan percobaan

Selama 1 minggu mencit mendapat aklimasi kandang, oral dan pengambilan apusan vagina untuk mendapatkan gambaran panjang periode siklus estrus.

b. Pemeliharaan

Mencit ditempatkan dalam kandang-kandang plastik beratap kawat. Kandang diberi alas tidur berupa sekam padi dan diganti 3 hari sekali. Makanan mencit berupa pellet pakan anak babi dan minuman yang diberikan dalam jumlah tidak terbatas (*ad libitum*). Air minum diganti setiap 3 hari sekali.

2. Pembuatan perasan biji pepaya

a. Biji pepaya mengkal segar digiling dengan blender dan disaring untuk mendapatkan perasan biji pepaya 100 % (v/v).

b. Dibuat perasan biji pepaya 50 % dan 75 % dari perasan awal dengan menggunakan akuades sebagai pelarut.

3. Perlakuan

Mencit dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan ulangan lima kali untuk tiap perlakuan. Rincian perlakuan sbb:

- P₀ : kontrol
- P₁ : perlakuan dengan perasan biji pepaya 50 % (v/v)
- P₂ : perlakuan dengan perasan biji pepaya 75 % (v/v)
- P₃ : perlakuan dengan perasan biji pepaya 100 % (v/v)

Pemberian perasan biji pepaya dilakukan selama 15 hari secara oral dengan jarum "gavage" sebanyak 0,1 mL/rata-rata berat badan/hari.

4. Pengamatan

Setiap 5 hari (1 periode siklus) dilakukan pengamatan siklus estrus mencit dengan menggunakan metode sediaan apus vagina. Penentuan tahapan siklus estrus dilakukan berdasar metode Rugh (1968). Setiap 3 hari mencit ditimbang dan dilakukan pencatatan temperatur ruangan. Penimbangan organ reproduksi dilakukan pada akhir penelitian.

5. Pembuatan sediaan apus vagina untuk penentuan fase siklus estrus

- a. Dilakukan *flushing* pada vagina dengan menggunakan perasan garam fisiologis (0,9%).
- b. Cairan tersebut dipindahkan ke gelas objek dan dikering-anginkan
- c. Kemudian diwarnai dengan *giemsa* 0,1 % selama 3-5 menit
- d. Preparat apus vagina diamati dibawah mikroskop untuk menentukan fase siklus estrus.
- e. Dihitung persentase mencit yang mengalami estrus.

6. Parameter penelitian

a. Parameter utama

Parameter utama yang diamati pada penelitian ini adalah jumlah mencit estrus dalam setiap perlakuan. Penentuan persentase mencit estrus dilakukan dengan menghitung jumlah hewan yang berada pada fase estrus pada tiap perlakuan, dengan rumus $p = (\Sigma \text{mencit estrus} / \text{Total hewan uji}) \times 100 \%$.

b. Parameter penunjang

Selama penelitian ini parameter penunjang yang digunakan adalah sebagai berikut :

- Berat badan
- Berat organ reproduksi
- Temperatur rata-rata perminggu ($^{\circ}\text{C}$)

7. Analisa data

Data persentase mencit estrus pada tiap perlakuan selama pengamatan ditampilkan dalam histogram dan dianalisa secara deskriptif fenomena yang tampak. Data berat badan dan berat organ reproduksi dianalisis dengan analisis variansi pada taraf uji 5 %.