

IV. METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian : Laboratorium
Biologi Struktur dan Fungsi pada tanggal 12-26 Maret
1986

Alat dan Bahan Penelitian :

- Alat :
1. Kandang mencit.
 2. Hemometer Sahli.
 3. Disposable lanset atau jarum suntik.
 4. Mikroskop.
 5. Hemositometer.
 6. Tabung hematokrit.
 7. Mikrosentrifus 12000 rpm jenis MLW TH21.
 8. Lilin penutup.
 9. Counter.
 10. Timbangan.
 11. Alat penggiling.

- Bahan :
1. 30 ekor mencit betina dewasa umur 8 minggu jenis DDI yang diambil dari Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
 2. Makanan mencit.
 3. Aquadest.
 4. Larutan Hayem.

5. Alkohol 70%.
6. HCl 0,1 N.
7. Daun tapak liman yang berwarna hijau tua.

Cara Kerja:

Pembuatan perasan daun tapak liman dengan konsentrasi 50%, 75% dan 100%.

Cara membuat perasan daun tapak liman dengan kadar 50% yaitu dengan menimbang daun segar tapak liman sebanyak 50 gram lalu digiling dan diberi aquadest 100 ml. Lalu dilakukan penyaringan dan pemerasan sampai tinggal ampasnya.

Perasan daun tapak liman dengan konsentrasi 75% dan 100% dibuat dengan cara yang sama.

Penyediaan kandang untuk mencit.

Kandang dibuat dari bahan polivinil klorida, serta diberi alas tidur yang dapat menghisap air dan diganti setiap hari.

Pemberian pakan mencit

Berdasarkan Smith dan Mangkoewidjojo (1988) kebutuhan pakan mencit per hari 3-5 mg, dalam penelitian ini

pakan yang diberikan sebanyak 9 mg karena mencit dalam keadaan bunting.

Pelaksanaan penelitian :

Dipilih 20 ekor mencit betina bunting.

Adapun caranya yaitu seekor mencit jantan diletakkan bersama-sama dengan 5 ekor mencit betina. Jika terjadi perkawinan maka pada mencit betina dijumpai adanya sumbat pada vagina. Sumbat ini merupakan air mani yang menjendal yang berasal dari sekresi kelenjar mencit jantan. Keadaan bunting ditetapkan pada hari ke 12 setelah sumbat vagina ditemukan.

Pada 20 ekor mencit betina bunting diberi pakan yang berupa pelet serta diberi 4 macam perlakuan yaitu :

P0 = tanpa pemberian perasan daun tapak liman, hanya diberi aquadest.

P1 = diberi perasan tapak liman 50%

P2 = diberi perasan tapak liman 75%

P3 = diberi perasan tapak liman 100%

Masing-masing perlakuan diulang 5 kali.

Pemberian perasan tapak liman sebanyak 0,06 cc sekali sehari per oral (Supriyanto, 1991).

Pengamatan dilakukan setelah 7 hari perlakuan. Pengambilan darah mencit dilakukan pada vena kaudal. Parameter yang diamati jumlah eritrosit, kadar Hb dan nilai hematokrit mencit tersebut. Sedangkan parameter penunjang yang diamati adalah suhu lingkungan, kadar Fe dan kadar protein daun tapak liman.

Jara pengambilan darah mencit:

Darah diambil dari vena kaudal ekor mencit. Tempat yang akan ditusuk dengan jarum dibersihkan dulu dengan alkohol 70%. Jarum yang akan digunakan juga dibersihkan dengan alkohol 70%. Vena kaudal ditusuk dengan arah miring. (Opal, 1975)

Penentuan jumlah eritrosit

- Tetesan darah mencit yang keluar diisap dengan pipet eritrosit sampai skala 1
- Dengan pipet yang sama diisap larutan hayem sampai skala 101.
- Pipet digojog agar larutan didalamnya tercampur homogen.
- Ujung pipet ditempelkan pada tepi gelas penutup bilik hitung, maka larutan akan mengalir.

- Dilihat dengan mikroskop.
- Dihitung jumlah eritrosit yang dicatat dengan rumus
 $E \times 50 \times 100 = 5000 E/mm$
E : jumlah eritrosit yang dicatat dari 80 kotak
(Opal. 1975)

Penentuan kadar hemoglobin mencit.

- Tabung hemoglobin diisi dengan HCl 0,1N sampai skala 2.
- Darah mencit diisap dengan pipet Hb sampai skala 20.
- Darah tersebut dihembuskan kedalam tabung Hb
- Didiamkan selama 1 menit
- Diencerkan dengan aquadest setetes demi setetes sambil disesuaikan dengan warna larutan yang terdapat dalam blok komparator
- Bila warna darah sudah sesuai dengan warna larutan standart, maka pengenceran dihentikan.
- Tinggi larutan darah pada tabung hemoglobin dibaca dan angka tersebut menunjukkan kadar hemoglobin darah. (Opal, 1975).

Penentuan nilai hematokrit mencit

- Darah mencit dimasukkan dalam tabung hematokrit
- Tabung ditutup dengan lilin penutup

- Disentrifuge selama 7.5 menit dengan kecepatan 12000 rpm
- Tinggi sel darah merah dibaca dengan menarik garis linier daritinggi sel darah merah tersebut pada skala penera
- Data yang didapat dicatat (Opal, 1975)

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan diolah dengan menggunakan analisa varians dengan Rancangan Acak Lengkap dan dilanjutkan dengan uji BNT.

Dengan menggunakan model matematika sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_{ij} + \Sigma_{ij}$$

Y_{ij} = jumlah eritrosit/ kadar Hb/ nilai hematokrit pada perlakuan ke-i, ulangan ke-j.

μ = nilai rata-rata

α_{ij} = efek pemberian perlakuan ke-i, ulangan ke-j.

Σ_{ij} = efek error/galat pada pemberian perlakuan ke-i, ulangan ke-j.