

## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada semester genap di Laboratorium Struktur dan Fungsi Hewan, Jurusan Biologi, FMIPA UNDIP, Semarang.

#### B. Rencana Penelitian

Percobaan ini menggunakan rancangan percobaan faktorial 4 x 3. Menggunakan faktor 4 tingkat dosis rebusan daun tapak dara dan 3 tingkat frekuensi pemberian. Sehingga ada 12 kombinasi perlakuan yang masing-masing diulang 3 kali. Parametrik percobaan adalah diameter hepatosit, berat hepar, berat badan dan status glikogen dalam hepatosit mencit.

#### C. Bahan dan Alat yang dipergunakan

Bahan yang dipergunakan adalah : Tiga puluh enam ekor mencit strain DDI, rebusan daun tapak dara, makanan lele dewasa BF1, aquadest, bahan-bahan kimia yang digunakan dalam metode parafin, reagen Hematoxylin Erlich-Eosin (HE) dan Periodic acid-schiff (PAS).

Alat-alat yang dipergunakan : kandang mencit, alat suntik dengan ujung jarum tumpul untuk mempermudah pemasukan cairan secara oral pada mencit, gunting, skalpel, pinset, seperangkat alat-alat yang digunakan dalam metode

parafin, mikroskop okuler untuk pengamatan, mikrofotografi untuk memotret hasil penelitian, timbangan untuk menimbang berat hepar dan berat badan mencit.

#### D. Cara Penelitian

##### 1. Cara pembuatan larutan perlakuan

Sebelum penelitian dimulai terlebih dahulu dibuat rebusan daun tapak dara yang dibuat sebagai berikut : daun tapak dara kering direbus dengan air mendidih selama 15 menit, selanjutnya disaring dan diperas ringan. Dosis rebusan 10% adalah : rebusan yang dibuat dari 10 gram daun tapak dara direbus dengan 100 ml air. Hal yang sama juga dilakukan pada dosis rebusan 20% dan 40%. Hilangnya sebagian air dalam rebusan, diganti dengan aquadest (Handari, 1983).

##### 2. Cara Perlakuan

Hewan uji yang termasuk dalam kelompok perlakuan diaklimasi dalam lingkungan laboratorium selama 2 minggu. Sebelum diberi perlakuan, berat badan mencit ditimbang, semua mencit diberi 0,5 cc rebusan daun tapak dara kadar 10%, 20% dan 40% dengan 3 frekuensi yang memiliki interfal waktu masing-masing 6 jam selama 2 minggu. Cara pemberian per oral dengan menggunakan alat suntik yang berujung bulat agar tidak melukai rongga mulut.

Penimbangan berat badan dilakukan kembali pada akhir penelitian, kemudian dimatikan, hepar segera diambil dan ditimbang beratnya. Setelah itu diambil  $\pm 1$  cm, difiksasi dengan larutan Bouin. Kemudian dibuat preparat

awetan dengan metode parafin serta dipulas dengan Hematoxylin Ehrlich-Eosin dan Periodic acid-schiff . Untuk pewarnaan dengan menggunakan HE, perubahan ukuran hepatosit diamati dan diukur dengan menggunakan mikrometer sedangkan untuk pewarnaan dengan menggunakan PAS pengamatan terhadap status glikogen dalam sel diamati secara kuantitatif.

Tabel 1. Skema Perlakuan

Frekuensi	Dosis			
	D0	D1	D2	D3
F1	D0F1	D1F1	D2F1	D3F1
F2	D0F2	D1F2	D2F2	D3F2
F3	D0F3	D1F3	D2F3	D3F3

Keterangan : D0 : dosis 0%  
 D1 : dosis 10%  
 D2 : dosis 20%  
 D3 : dosis 40%  
 F1 : frekuensi pemberian 1 kali sehari  
 F2 : frekuensi pemberian 2 kali sehari  
 F3 : frekuensi pemberian 3 kali sehari

Pengamatan parameter perlakuan :

- a. Diameter hepatosit
- b. Status glikogen dalam hepatosit
- c. Berat hepar ditimbang sesudah perlakuan
- d. Berat badan mencit ditimbang sebelum dan sesudah perlakuan

#### E. Analisis Hasil Penelitian

Analisis data menggunakan Anova pada percobaan Faktorial dengan Rancangan dasar Acak Lengkap (RAL) dan dilanjutkan dengan menggunakan uji Duncan pada taraf signifikan 5%.

