

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, dilaksanakan mulai tanggal 6 Oktober 1991 sampai dengan 25 November 1991.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Bahan-bahan yang Dipergunakan Dalam Penelitian

- Ekstrak daun manggis
- CMC (carboxy metil cellulosa) 0.5 % berfungsi sebagai bahan suspensi
- Zat warna Giemsa, NaCl 0,9% dan alkohol 70% untuk pewarnaan preparat ulas vagina
- Methanol untuk pembuatan ekstrak daun manggis
- Makanan mencit yaitu makanan ayam broiler I produksi Comfeed dan kecambah kacang hijau.

3.2.2. Alat-Alat yang Dipergunakan Dalam Penelitian

- Kandang mencit sebanyak 6 buah yang terbuat dari ember plastik persegi empat, dengan tutup dari anyaman kawat
- Timbangan Cent-O-Gram untuk menimbang berat badan mencit, timbangan Ohaus untuk menimbang ekstrak daun manggis
- Perkolator, ayakan dan penggiling Arthur H. Thomas untuk membuat ekstrak daun manggis

- Pipet Pasteur, obyek gelas dan pemanas Bunsen
- Mikroskop

3.2.3. Hewan Percobaan

Hewan Percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit betina sehat (*Mus musculus*) strain Winstar, yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) Surabaya, berumur 3 bulan dengan berat badan 20-30 gram, belum pernah kawin dan mempunyai siklus birahi teratur yang berlangsung 4-5 hari.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Metode Pengelompokan Hewan

Pengambilan dilakukan secara acak terhadap mencit betina sebanyak 30 ekor yang mempunyai berat badan antara 20-30 gram. Perlakuan yang diberikan sebanyak enam, setiap perlakuan mendapat lima kali ulangan. Setelah itu tiap-tiap perlakuan dimasukkan ke dalam kandang, setiap kandang berisi lima ekor mencit.

3.3.2. Pembuatan Ekstrak Daun Manggis

Daun manggis dikeringkan di bawah sinar matahari. Setelah betul-betul kering, daun manggis digiling dengan alat penggiling buatan Arthur H. Thomas. Kemudian gilingan tersebut diayak sehingga diperoleh serbuk halus. Serbuk tersebut kemudian diperkolasi dengan methanol. Perkolat yang diperoleh dipekatkan dengan penguapan tekanan rendah sehingga diperoleh ekstrak kering.

3.3.3. Pembuatan Sediaan Ulas Vagina

Mencit dipegang dengan tangan kiri pada tenguknya dengan jari telunjuk dan ibu jari, sedang ekornya dijepit diantara jari kelingking dan jari manis. Pipet yang sudah diisi dengan NaCl fisiologis di masukkan kedalam vagina mencit. NaCl fisiologis yang sudah dimasukkan kedalam vagina tersebut setelah beberapa saat dipipet kembali. Kemudian dioleskan pada obyek gelas, dan diberi pewarnaan Giemsa.

3.3.4. Perlakuan Hewan Percobaan

Mencit-mencit yang sudah ditempatkan pada masing-masing kandang diadaptasikan selama tujuh hari. Kemudian mulai diamati siklus birahinya dengan membuat sediaan ulas vagina. Pembuatan sediaan ulas vagina dilakukan sebanyak ³4 kali dalam sehari yaitu pukul 06.00, ^{14.00}12.00, ~~18.00~~ dan pukul ^{22.00}24.00, selama lima hari sebagai kontrol sebelum diberikan perlakuan untuk semua mencit.

Perlakuan yang diberikan pada hari ke enam adalah sebagai berikut :

- Kelompok kontrol (P0), diberikan CMC (carboxy metil cellulosa) 0,5% secara oral 1 kali sehari selama 10 hari
- Kelompok perlakuan I (P1), diberikan suspensi ekstrak daun manggis 3 mg/kg bb secara oral, 1 kali sehari selama 10 hari

- Kelompok perlakuan II (P2), diberikan suspensi ekstrak daun manggis 10 mg/kg bb secara oral 1 kali sehari selama 10 hari
- Kelompok perlakuan III (P3), diberikan suspensi ekstrak daun manggis 30 mg/kg bb secara oral 1 kali sehari selama 10 hari
- Kelompok perlakuan IV (P4), diberikan suspensi ekstrak daun manggis 100 mg/kg bb secara oral 1 kali sehari selama 10 hari
- Kelompok perlakuan V (P5), diberikan suspensi ekstrak daun manggis 300 mg/kg bb secara oral 1 kali sehari selama 10 hari.

Penentuan dosis ekstrak daun manggis sebagai obat antifertilitas tersebut didasarkan atas metode yang dipakai oleh Wagner dan Wolff (1977), untuk bahan atau obat yang belum diketahui efektifnya.

Selanjutnya pengamatan terhadap perubahan siklus birahi yang terjadi dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis terhadap preparat ulas vagina yang dibuat tiap 6 jam sekali yaitu pukul 06.00, 12.00, 18.00 dan pukul 24.00, dimulai setelah 1 jam pemberian suspensi ekstrak daun manggis maupun CMC. Pengamatan terhadap siklus birahi dilakukan selama 10 hari. Kemudian dilakukan pemeriksaan sediaan ulas vagina dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 450 kali.

3.4. Parameter

Parameter yang diamati adalah lama waktu yang dibutuhkan terhadap perubahan-perubahan yang terjadi pada siklus birahi mencit antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Perubahan dari tiap-tiap fase siklus birahi dapat dilihat dari perubahan-perubahan yang tampak pada preparat ulas vagina setelah dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis dengan pembesaran 450 kali.

Pengamatan terhadap setiap fase dalam satu siklus birahi didasarkan kepada kriteria dibawah ini :

- Fase proestrus tampak adanya sel-sel epitel
- Fase estrus terlihat adanya sel-sel kornifikasi
- Fase metestrus tampak sel-sel kornifikasi dengan beberapa leukosit
- Fase diestrus terlihat banyak leukosit bersama-sama sel-sel epitel yang tampak jelas intinya.

3.5. Rancangan dan Analisis Data

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap. Analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji Fisher. Bila ditemukan perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan analisis BNT (Kusriningrum, 1989). Untuk mengetahui apakah ada pengaruh antara dosis ekstrak daun manggis yang diberikan dengan lamanya perubahan yang terjadi, digunakan analisis regresi (Sudjana, 1986).