

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Diponegoro selama bulan Mei-Juli 2004

3.2 Bahan dan Alat penelitian

3.2.1 Bahan

Serbuk pasak bumi dengan menggunakan pelarut aquades

3.2.2 Alat

Kandang pemeliharaan dan perlengkapannya, timbangan hewan, timbangan analitik, dissecting set, jarum gavage, gelas arloji, seperangkat alat pembuatan sediaan apus semen, mikroskop, hemositometer, pipet Thoma leukosit

3.2.3 Hewan Uji

Mencit jantan (*Mus musculus*) berumur 35 hari yang diperoleh dari Balai Penelitian Veterina Farmasi Surabaya.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Pembuatan Larutan Bahan

Serbuk pasak bumi sebanyak 56 mg di campurkan dengan 100 ml aquadest, kemudian dididihkan. Setelah agak dingin larutan disaring dengan menggunakan

kertas saring. Hasil yang diperoleh merupakan larutan serbuk pasak bumi dengan dosis 2800 mg/kg berat badan, selanjutnya diencerkan dengan perbandingan volume 1:1 untuk menghasilkan larutan serbuk pasak bumi dengan dosis 1400 mg/kg berat badan. Dosis 700 mg/kg diperoleh dari hasil pengenceran larutan serbuk pasak bumi dosis 1400 mg/kg berat badan dengan perbandingan volume 1:1. Larutan diberikan secara oral kepada mencit jantan dengan frekuensi pemberian 1 kali dalam sehari

3.3.2 Aklimasi Hewan Uji

Aklimasi hewan uji dilakukan selama dua minggu untuk membiasakan mencit hidup dalam lingkungan dan perlakuan baru, serta untuk membatasi pengaruh lingkungan dalam percobaan. Setiap hari mencit diberi makan dan minum secukupnya disertai dengan pengamatan umum dimana mencit yang tampak sakit tidak diikuti sertakan dalam penelitian. Tanda-tanda mencit sakit adalah berkurangnya aktivitas, lebih banyak diam, dan bulu-bulunya banyak yang berdiri.

3.3.3 Perlakuan dan Pemeliharaan

Mencit jantan yang sehat ditempatkan pada masing-masing kandang yang terpisah. Pemberian larutan serbuk pasak bumi (*Eurycoma longifolia*) dengan ketentuan

P₀ : Kontrol, pemberian larutan aquadest

P₁ : Pemberian larutan dengan dosis 700 mg/kg berat badan

P₂ : Pemberian larutan dengan dosis 1400 mg/kg berat badan

P₃ : Pemberian larutan dengan dosis 2800mg/kg berat badan

Larutan diberikan secara oral kepada mencit jantan dengan frekuensi pemberian satu kali dalam sehari selama 48 hari. Pemberian pakan dan minum secara *ad libitum* (Satayavivad, 1998).

3.3.4 Cara Pengambilan Data

Parameter yang diamati berupa motilitas, abnormalitas spermatozoa, bobot testis, dan bobot saluran reproduksi (epididimis sampai vas deferent). Pada akhir perlakuan, dilakukan dislokasi leher selanjutnya organ reproduksi berupa testis dan epididimis sampai vas deferent diisolasi dan ditimbang.

A. Motilitas Spermatozoa

Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan hemositometer, caranya :

Sediaan semen diambil melalui pengurutan dari bagian epididimis cauda sampai batas ampula dengan menggunakan pinset secara searah. Semen berupa spermatozoa dan sekret vas deferens ditampung dalam gelas arloji yang telah diisi dengan larutan NaCl 0,9% sebanyak 0,25 ml serta diaduk agar homogen, setelah homogen sampel dihisap dengan pipet Thoma leukosit sampai batas skala 1 kemudian dilakukan pengenceran sebanyak 10 kali dengan cara menambahkan larutan pengencer berupa NaCl 0,9% maupun larutan George sampai skala 11, lalu dilakukan penggojokan dengan hati-hati namun cukup cepat dengan cara membuat angka 8 selama 3-5 menit. Setelah itu semen yang telah diencerkan tadi ditetaskan diatas obyek glass penghitung dan dihitung jumlah spermatozoa yang mati maupun yang bergerak ditempat.

Perhitungan motilitas spermatozoa:

$$\frac{\Sigma \text{ spermatozoa pada larutan George} - \Sigma \text{ spermatozoa pada NaCl 0,9\%}}{\Sigma \text{ spermatozoa pada larutan George}} \times 100\%$$

(Ellyzar, 1999).

B. Abnormalitas Spermatozoa

Pengamatan terhadap abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara membuat preparat apus dari sampel semen yang telah homogen dengan menggunakan pewarna giemsa 3 % (Ellyzar, 1999), dimana spermatozoa yang normal mempunyai kepala berbentuk kait, leher tidak melipat, dan ekor yang lurus panjang, sedangkan bentuk spermatozoa yang lainnya digolongkan kedalam abnormalitas spermatozoa (Rugh, 1968).

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter utama yang diamati berupa motilitas dan abnormalitas spermatozoa yang dinyatakan dalam prosentase, sedangkan parameter pendukung yang diamati berupa bobot testis dan bobot saluran reproduksi.

3.5 Analisis Data

Penelitian menggunakan metode eksperimental secara in vivo, kondisi lingkungan diatur sedemikian rupa sehingga stabil dan homogen. Data yang diperoleh dianalisis normalitas dan homogenitasnya. Hasil analisis data pada penelitian ini menunjukkan data terdistribusi normal dan mempunyai varian yang homogen, setelah

itu data diuji beda dengan analisis sidik ragam (Anova) berdasarkan rancangan acak lengkap, selanjutnya jika terdapat beda nyata akan di lanjutkan dengan menggunakan uji lanjut Duncan pada taraf signifikasi 95% (Santoso, 2003).

