

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) dari Universitas Negeri Semarang.

3.4.2 Sampel

1. Kriteria Inklusi

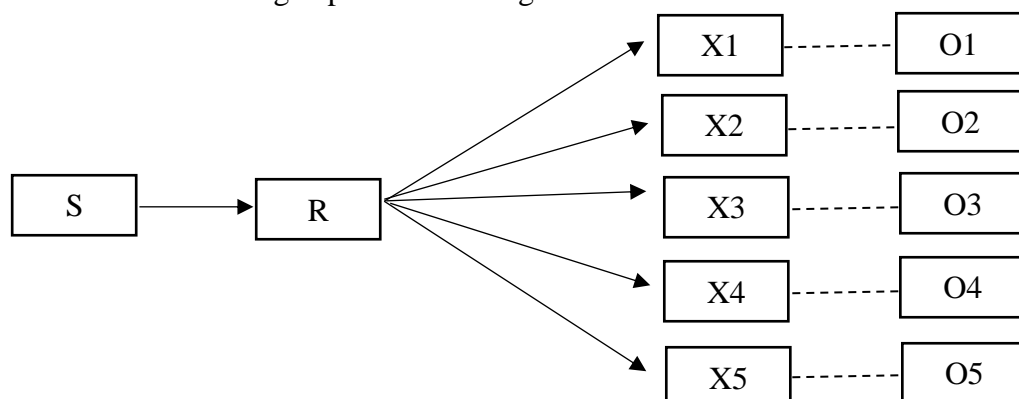
- Tikus wistar jantan
- Tidak ada kelainan anatomi
- Umur 6-8 minggu³⁸
- Bergerak aktif
- Berat badan 200 - 250 gram

2. Kriteria Eksklusi

- Tikus sakit selama penelitian
- Tikus mati selama penelitian

3.4.3 Cara Sampling

Sampel penelitian diambil dari populasi secara acak atau randomisasi dengan perlakuan sebagai berikut :



Gambar 8. Cara Sampling

Keterangan :

S = Sampel

R = Randomisasi

X = *Treatment*

O = *Observation*

X1 = Kontrol negatif, sebagai pembanding, tikus yang mendapat diet standar, tanpa jus bit dan paparan asap rokok

X2 = Kontrol positif, tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok 2 batang/ hari, tanpa pemberian jus bit

X3 = Tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus bit 4 ml/ kg BB / hari selama 28 hari

X4 = Tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus bit 8 ml/ kg BB / hari selama 28 hari

X5 = Tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus bit 16 ml/ kg BB / hari selama 28 hari

O1 = Konsentrasi spermatozoa dari kelompok kontrol negatif

O2 = Konsentrasi spermatozoa dari kelompok kontrol positif, tikus dengan diet standar yang diberi paparan asap rokok, tanpa pemberian jus bit

O3 = Konsentrasi spermatozoa dari kelompok tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus bit 4 ml/ kg BB / hari selama 28 hari

O4 = Konsentrasi spermatozoa dari kelompok tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus bit 8 ml/ kg BB / hari selama 28 hari

O5 = Konsentrasi spermatozoa dari kelompok tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus bit 16 ml/ kg BB / hari selama 28 hari.

3.4.4 Besar Sampel

Besarnya sampel yang ditentukan menggunakan rumus Federer :

$$(t - 1) (n - 1) \geq 15$$

Keterangan :

t : jumlah kelompok perlakuan

n : jumlah sampel pada kelompok perlakuan

Pada penelitian yang akan dilakukan terdapat lima kelompok perlakuan, sehingga dengan perhitungan menurut rumus federer didapatkan sampel untuk masing-masing kelompok, yaitu :

$$(t - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$(5 - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$n \geq 5$$

Berdasarkan perhitungan menggunakan rumus federer, didapatkan jumlah minimal sampel dalam setiap kelompok sebanyak 5 ekor, sehingga jumlah sampel total minimal yang yang dibutuhkan adalah 25 ekor. Peneliti menggunakan 6 ekor tikus dalam setiap kelompok sehingga total sampel adalah 30 ekor.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

- a. Jus bit dengan dosis 4 ml/kgbb, 8 ml/kgbb, dan 16 ml/kgbb
- b. Paparan Asap Rokok

3.5.2 Variabel Terikat

Konsentrasi spermatozoa tikus putih jantan galur wistar

3.6 Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional

No.	Variabel	Unit	Skala
1.	Jus bit Sediaan bit dalam bentuk jus dibuat dengan cara homogenisasi umbi bit menggunakan <i>household mixer</i> , kemudian jus yang diperoleh disentrifuge dengan kecepatan 10000 x g selama 15 menit. Setelah itu, jus diberikan kepada tikus wistar melalui sonde lambung dengan dosis berbeda untuk tiap kelompok perlakuan yaitu 4 ml, 8ml, 16 ml setiap hari selama 4 minggu.	Mililiter	Numerik
2.	Asap rokok Pemaparan asap rokok dilakukan menggunakan 2 batang rokok / hari selama 4 minggu.	Batang rokok	Nominal
3.	Konsentrasi spermatozoa Konsentrasi spermatozoa diperoleh dengan menghitung jumlah spermatozoa tikus wistar yang didapat dari bilik Hemositometer <i>Neubauer Improved</i> kemudian dikalikan dengan faktor multiplikasi dan faktor pengenceran	Sel/ml	Numerik

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

- a. Jus bit
- b. Makanan tikus
- c. Rokok kretek
- d. Bahan untuk pemeriksaan konsentrasi sperma
- e. Eter / kloroform

3.7.2 Alat

- a. Mikroskop cahaya
- b. Sonde lambung
- c. Kandang mencit
- d. *Household mixer*
- e. Satu set alat bedah
- f. *Object glass*
- g. *Deck glass*
- h. Hemositometer *Neubauer Improved*
- i. Alat sentrifugasi

3.7.3 Jenis Data

Jenis data yang dikumpulkan adalah data primer hasil penelitian eksperimental laboratorik yaitu berupa konsentrasi spermatozoa tikus wistar jantan.

3.7.4 Cara Kerja

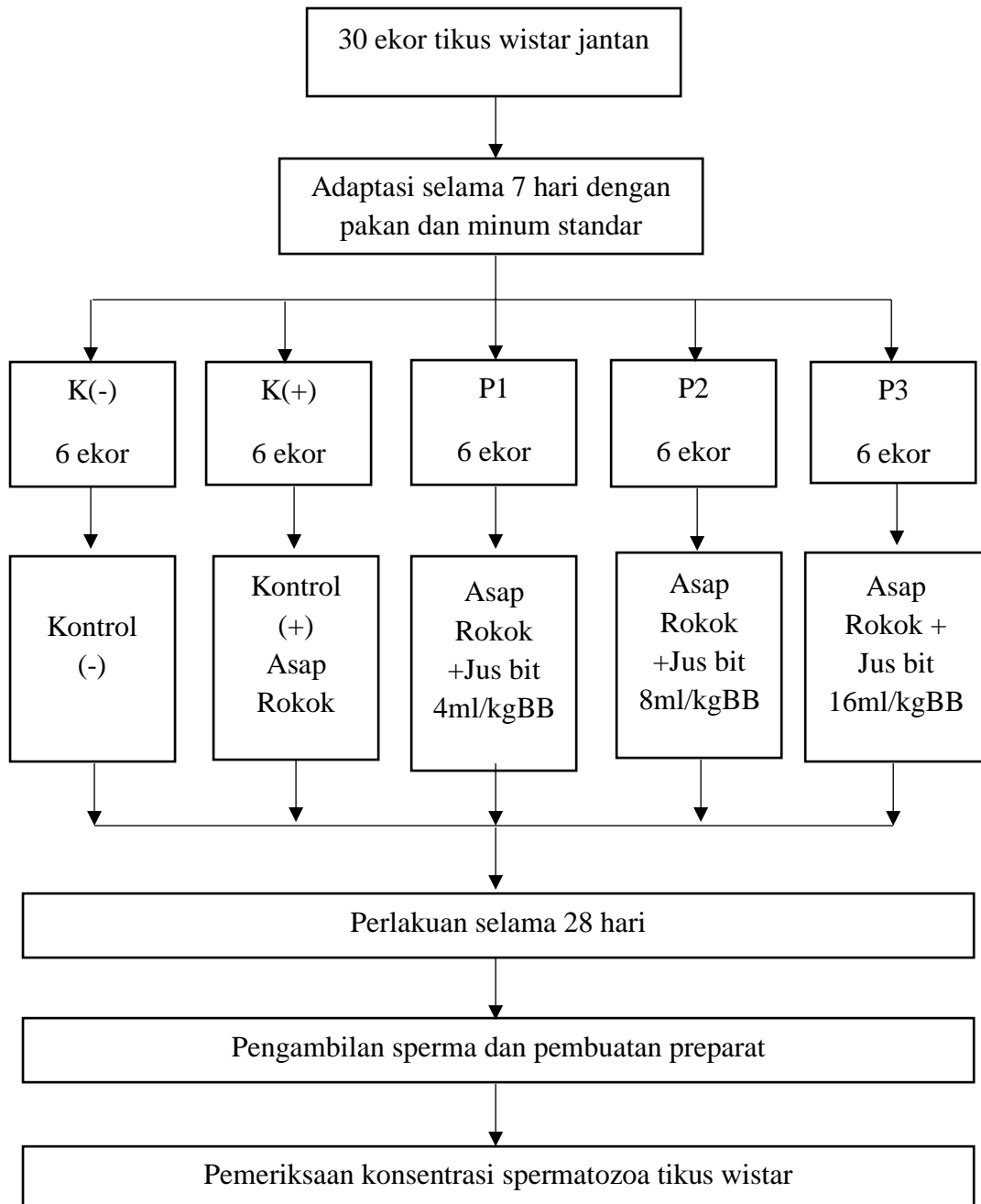
Sebelum diberi perlakuan, 30 ekor tikus wistar diadaptasi dengan dikandangkan dan diberi pakan standar dan minuman selama satu minggu. Kemudian 30 ekor mencit dibagi dalam lima kelompok yang masing-masing kelompok terdiri atas enam ekor tikus yang dipilih secara acak atau randomisasi. Setiap kelompok perlakuan yang terdiri dari 6 ekor tikus dimasukkan ke dalam kotak yang memiliki ukuran 40cm x 30cm x 15cm.

Setelah itu tikus diberi perlakuan berupa pemaparan asap rokok dengan cara memasukkan 6 ekor tikus ke dalam kotak yang terbuat dari kayu berukuran 50 cm x 40 cm x 30 cm dengan bagian atas kotak diberikan ventilasi udara sebagai jalur masuk asap rokok ke dalam kotak. Kotak tersebut dihubungkan dengan saluran asap yang berasal dari pembakaran rokok sebanyak 2 batang / hari. Pemberian jus bit pada tikus dilakukan dengan menggunakan sonde lambung selama empat minggu sesuai dengan pembagian kelompok perlakuan yaitu 4 ml, 8 ml, dan 16 ml. Jus bit dibuat dengan cara homogenisasi umbi bit menggunakan *household mixer*, kemudian jus yang diperoleh disentrifuge dengan kecepatan 10000 x g selama 15 menit. Setelah itu, supernatan yang didapatkan disterilisasi dengan menggunakan filtrasi membran.

Setelah empat minggu perlakuan, kemudian dilakukan terminasi dengan cara yaitu memasukkan tikus ke dalam toples yang sudah diberi kapas yang mengandung kloroform/eter cair sehingga tikus tidak sadar dan mati. Setelah itu, dilakukan pengambilan sperma tikus dan pembuatan

preparat. Pengambilan sediaan dan pembuatan preparat untuk pemeriksaan konsentrasi spermatozoa tersedia di lampiran 1.¹⁷

3.8 Alur Penelitian



Gambar 9. Alur Penelitian

3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari empat kelompok sampel diolah menggunakan program komputer SPSS. Kemudian dilakukan uji normalitas distribusi dengan uji *Saphiro-Wilks* karena jumlah sampel < 50 . Distribusi data normal sehingga dilakukan uji parametrik dengan uji *one way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* Bonferroni. Perbedaan dianggap bermakna apabila nilai $p < 0,05$ dengan 95% interval kepercayaan.

3.10 Etika penelitian

Ethical clearance penelitian telah didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atau RSUP Dr. Kariadi Semarang.