

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

Bidang ilmu yang tercakup dalam penelitian ini adalah Biologi, Farmakologi, dan Kimia.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Mei-Juli 2018.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Berdasarkan tujuan yang hendak dicapai, jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental, dengan rancangan penelitian *post test only control group design*.

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

3.4.1.1 Populasi Target

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*).

3.4.1.2 Populasi Terjangkau

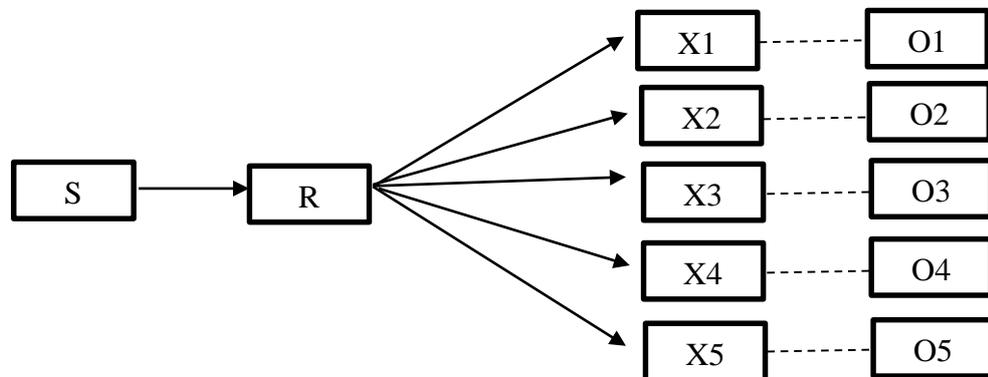
Populasi terjangkau adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang didapatkan dari Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Semarang.

3.4.2 Sampel

1. Kriteria Inklusi
 - Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan
 - Umur 6-8 minggu
 - Berat badan 200-300 gram
 - Tidak ada kelainan anatomi
 - Bergerak aktif
2. Kriteria Eksklusi
 - Terdapat abnormalitas anatomi yang tampak
 - Tikus tidak aktif
3. Kriteria Drop Out
 - Tikus sakit dalam penelitian
 - Tikus mati dalam penelitian

3.4.3 Cara Sampling

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



Gambar 7. Cara Sampling

Keterangan :

S = Sampel

R = Randomisasi

X = *Treatment*

O = *Observation*

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

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

X3 = Tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus alpukat 1 ml/ hari selama 28 hari.

X4 = Tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus alpukat 2 ml/ hari selama 28 hari.

X5 = Tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus alpukat 3 ml/ 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 alpukat.

O3 = Konsentrasi spermatozoa dari kelompok tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus alpukat 1 ml/ hari selama 28 hari.

O4 = Konsentrasi spermatozoa dari kelompok tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus alpukat 2 ml/ hari selama 28 hari.

O5 = Konsentrasi spermatozoa dari kelompok tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus alpukat 3 ml/ 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 ini 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 dibutuhkan adalah 25 ekor. Penelitian menggunakan 7 ekor tikus dalam setiap kelompok sehingga total sampel 35 ekor.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

- a. Jus alpukat dengan dosis 1 ml, 2 ml, dan 3 ml.
- b. Paparan asap rokok.

3.5.2 Variabel Terikat

Konsentrasi spermatozoa tikus putih jantan galur wistar.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 4. Definisi Operasional

No.	Variabel	Unit	Skala
1.	<p>Jus alpukat</p> <p>Sediaan alpukat dalam bentuk jus dibuat dengan cara homogenisasi buah alpukat menggunakan <i>houshold mixer</i>. Setelah itu, jus diberikan kepada tikus wistar jantan melalui sonde lambung dengan dosis berbeda untuk tiap kelompok perlakuan yaitu 1 ml, 2 ml, dan 3 ml setiap hari selama 4 minggu.</p>	Mililiter	Nominal
2.	<p>Asap rokok</p> <p>Pemaparan asap rokok dilakukan menggunakan 2 batang rokok/ hari selama 4 minggu.</p>	Batang rokok	Nominal
3.	<p>Konsentrasi spermatozoa</p> <p>Konsentrasi spermatozoa diperoleh dengan menghitung jumlah spermamtozoa tikus wistar yang didapat dari bilik Hemositometer <i>Neubauer Improved</i> kemudian dibagi dengan total volume yang disesuaikan dengan jumlah baris yang telah diperiksa kemudian dikali dengan faktor pengenceran.</p>	Sel/ml	Numerik

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

- a. Jus alpukat
- b. Makanan tikus
- c. Rokok
- d. Kloroform
- e. NaCl

3.7.2 Alat

- a. Mikroskop Cahaya
- b. Sonde lambung
- c. Kandang tikus
- d. Toples
- e. *Houshold mixer*
- f. *Object glass*
- g. *Deck glass*
- h. Satu set alat bedah
- i. Cawan petri
- j. Hemositometer *Neubauer improve*
- k. Pipet eritrosit

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

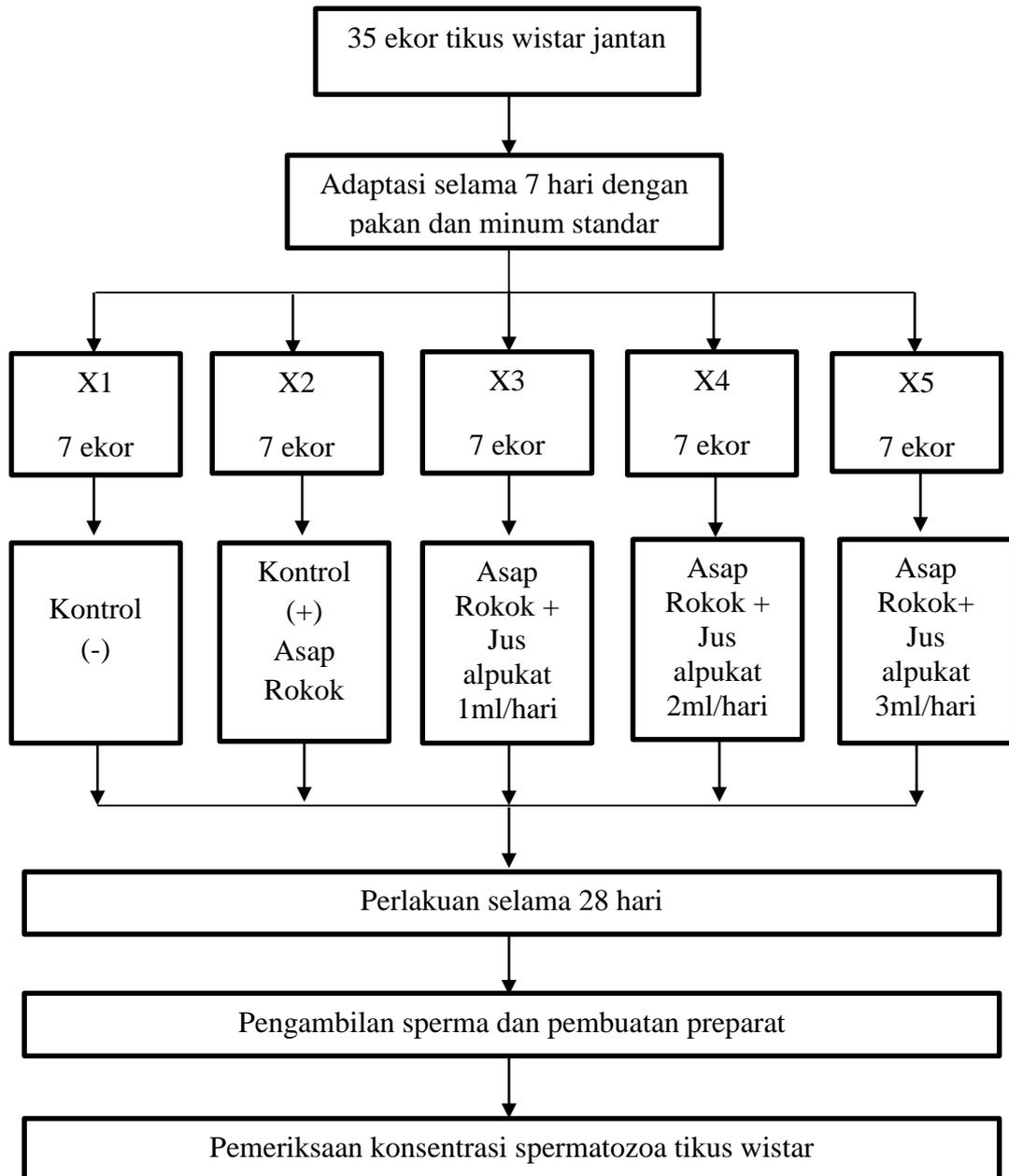
Sebelum diberi perlakuan, 35 ekor tikus wistar jantan diadaptasi dengan dikandangkan dan diberi pakan dan minuman standar selama satu minggu. Kemudian 35 ekor tikus wistar jantan dibagi menjadi lima kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari tujuh ekor tikus yang dipilih secara acak atau randomisasi.

Setelah itu tikus diberi perlakuan berupa pemaparan asap rokok dengan cara memasukan 7 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 alpukat pada tikus dilakukan dengan sonde lambung selama empat minggu sesuai dengan pembagian kelompok perlakuan yaitu 1 ml, 2 ml, dan 3 ml. Jus alpukat dibuat dengan cara homogenisasi alpukat menggunakan *houshold mixer*.

Setelah empat minggu perlakuan, kemudian dilakukan terminasi dengan cara memasukan tikus kedalam toples yang sudah diberi kapas yang mengandung kloroform sehingga tikus tidak sadar. Setelah itu tikus dimatikan dengan cara dislokasi serviks, dilakukan pengambilan sperma tikus dengan metode pemotongan *vas deferens* sepanjang 2 cm dari cauda epididimis dan dilakukan pengambilan preparat. Dari bagian *vas deferens* tersebut dikeluarkan cairan semen dengan cara diurut, ditampung di cawan

petri, kemudian ditetesi NaCl, diaduk agar menjadi homogen sehingga memudahkan pemeriksaan. Cairan semen homogen dihisap menggunakan pipet thoma eritrosit hingga mencapai garis 0,5, kemudian hisap larutan NaCl hingga mencapai garis 101, lalu dikocok agar cairan homogen. Setelah itu buang sedikit cairan yang ada di pipet. Pembuatan preparat digunakan untuk pemeriksaan konsentrasi spermatozoa tersedia di lampiran 1.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian

3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari lima kelompok sampel diolah menggunakan program komputer. Kemudian dilakukan uji normalitas distribusi dengan uji *Shapiro-Wilks* karena jumlah sampel <50 . Distribusi data normal sehingga dilakukan uji parametrik dengan uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan *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 Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP Kariadi Semarang.

3.11 Jadwal Penelitian

Tabel 5. Jadwal Penelitian

Kegiatan	Bulan (tahun 2018)										
	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Ags	Sep	Okt	Nov	Des
Studi literatur											
Penyusunan Proposal											
Seminar proposal											
Persiapan Alat dan Bahan											
Ethical clearance											
Pelaksanaan Penelitian											
Analisis data dan penyusunan hasil											
Seminar hasil											