

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

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang (UNNES). Waktu Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Agustus 2018.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian yang hendak dicapai, penelitian yang telah dilakukan adalah eksperimental, menggunakan rancangan *penelitian post only control design*.

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

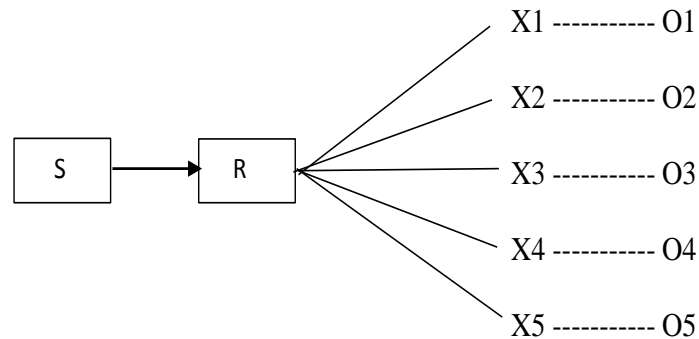
Populasi penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar (*Ratus norvegicus*) dari Universitas Negeri Semarang.

3.4.2 Sampel

1. Kriteria Inklusi
 - Tikus wistar (*Rattus novergicus*) jantan
 - Umur 6-8 minggu
 - Tidak terdapat kelainan anatomi
 - Bergerak aktif
 - Berat badan 200-300 gram
2. Kriteria Ekslusi
 - 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 5. Cara Sampling

Cara sampling :

S = Sampel.

R = Randomisasi.

X = *Treatment*.

O = *Observation*.

Keterangan :

X1: Kontrol negatif ,sebagai pembanding, tikus yang mendapat diet standard, tanpa pemberian paparan asap rokok dan jus buah alpukat

X2: Kontrol positif, tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, tanpa pemberian jus buah alpukat

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

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

X5: Tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus buah alpukat 3 ml/ hari selama 28 hari.

O1: Morfologi spermatozoa dari kelompok kontrol negatif.

O2: Morfologi spermatozoa dari kelompok kontrol positif, Tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, tanpa pemberian buah alpukat.

O3: Morfologi spermatozoa kelompok tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus buah alpukat 1 ml/hari selama 28 hari.

O4: Morfologi spermatozoa kelompok tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus buah alpukat 2 ml/hari selama 28 hari.

O5: Motilitas spermatozoa kelompok tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus buah alpukat 3 ml/hari selama 28 hari.

3.4.4 Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini ditentukan menggunakan rumus

Federer :

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

Keterangan :

n : jumlah pengulangan /besar sampel dalam kelompok

t : jumlah perlakuan/banyaknya kelompok

Pada penelitian yang akan dilakukan terdapat lima kelompok sampel perlakuan, terdiri dari :

- Kelompok I : kelompok kontrol negatif/pembanding
- Kelompok II : kelompok kontrol positif
- Kelompok III : paparan asap rokok, dengan pemberian jus alpukat
1 ml per hari selama 28 hari
- Kelompok IV : paparan asap rokok, dengan pemberian jus alpukat
2 ml per hari selama 28 hari
- Kelompok V : paparan asap rokok, dengan pemberian jus alpukat
3 ml per hari selama 28 hari

Maka, perlakuannya (t) adalah 5. Sehingga dengan perhitungan menurut rumus federer didapatkan sampel untuk masing-masing kelompok, yaitu :

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,7$$

$$n \geq 5$$

Berdasarkan perhtiungan menggunakan rumus Federer, didapatkan jumlah minimal sampel dalam penelitian setiap kelompok sebanyak 5 ekor,

sehingga jumlah sampel total minimal yang dibutuhkan adalah 25 ekor. Peneliti menggunakan 7 ekor tikus dalam setiap kelompok sehingga total sampel adalah 35 ekor.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

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

3.5.2 Variabel Terikat

Morfologi sperma tikus wistar jantan

3.5.3 Variabel Perancu

Waktu pemaparan asap rokok kretek

3.6 Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional

Variabel	Unit	Skala
Jus buah alpukat	ml	Nominal
Sediaan alpukat dalam bentuk jus dibuat dengan cara homogenisasi buah alpukat menggunakan <i>household mixer</i> , kemudian jus yang diperoleh diberikan kepada tikus wistar melalui sonde lambung dengan dosis berbeda untuk tiap kelompok perlakuan yaitu 1 ml, 2 ml		

3 ml setiap hari selama 4 minggu.

Asap rokok

Batang

Nominal

Pemaparan asap rokok kretek merk bekas tuton dengan kadar 39 mg tar dan 1,8 mg nikotin sebanyak 2 batang rokok perhari perkelompok tikus dengan menggunakan rokok kretek setiap hari selama 28 hari.

Morfologi spermatozoa

Persen

Rasio

Morfologi spermatozoa adalah bentuk spermatozoa yang dilihat secara mikroskopis, dimana dibagi dalam morfologi normal dan abnormal. Diperiksa dalam lapangan pandang mikroskopis perbesaran 1000x, diperiksa secara sistematis dari 100 spermatozoa di dalamnya dan dikelompokkan ke dalam kriteria berdasarkan morfologi normal dan abnormal. Data digunakan adalah morfologi normal spermatozoa.

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

- a. Jus alpukat
- b. Makanan tikus (diet standar)

- c. Rokok kretek
- d. Bahan untuk pemeriksaan sperma
- e. Eter/kloroform

3.7.2 Alat

- a. Mikroskop cahaya
- b. Sonde lambung
- c. Kandang tikus
- d. *Household mixer*
- e. Seperangkat alat bedah
- f. *Object glass*
- g. *Deck glass*

3.7.3 Jenis Data

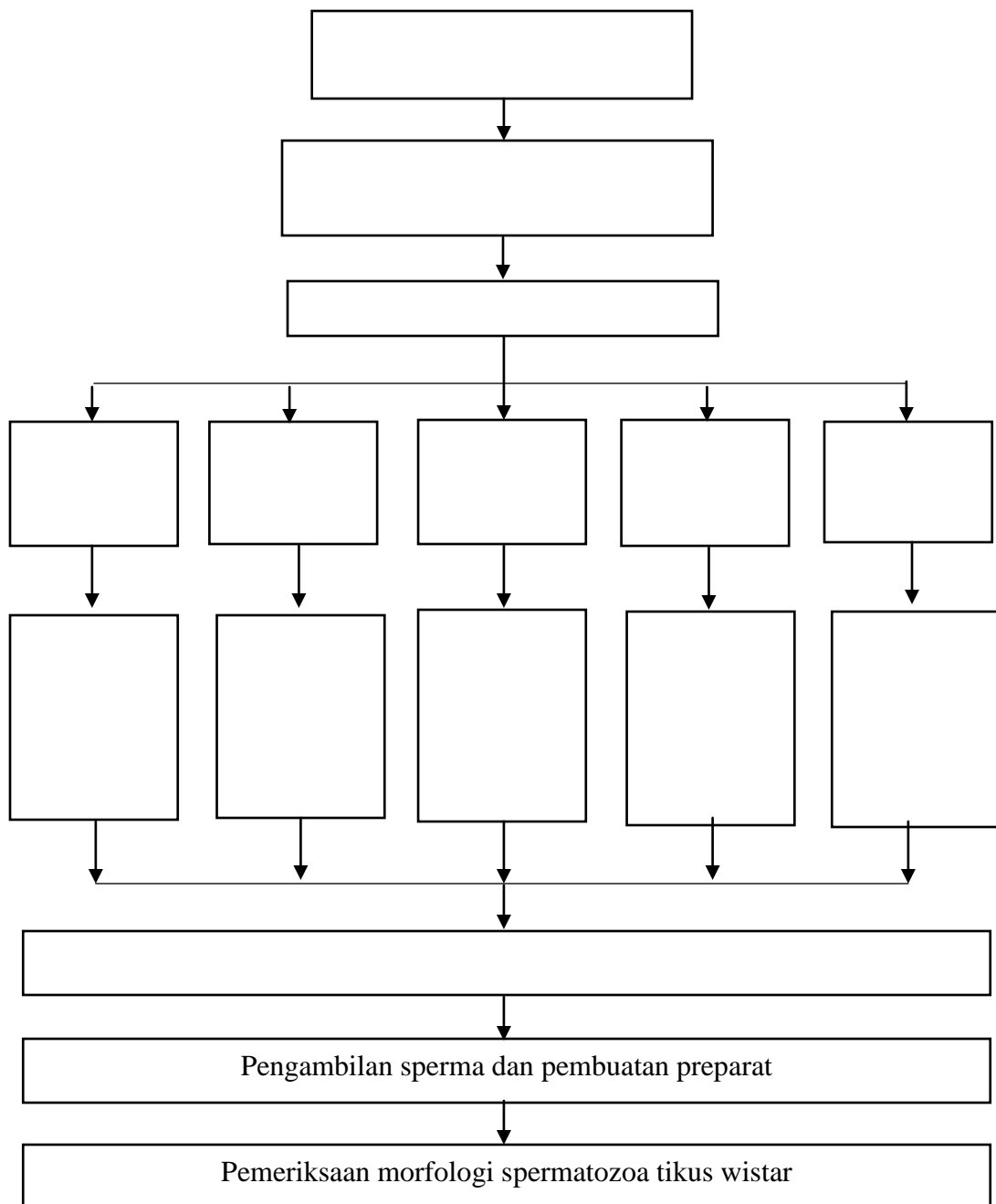
Jenis data yang dikumpulkan adalah data primer hasil penelitian eksperimental laboratorik yaitu berupa jumlah/morfologi spermatozoa tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*).

3.7.4 Cara Kerja

- Sebanyak 35 ekor tikus diadaptasi dengan cara dikandangi dan diberi pakan standar selama 7 hari
- Tikus dilakukan randomisasi, dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yang dipelihara dalam kandang pemeliharaan

- Kelompok tikus dimasukkan ke dalam kotak yang terbuat dari kaca berukuran 25 cm x 30 cm x 31 cm dengan bagian atas dan samping kotak diberikan ventilasi udara sebagai jalur masuk asap rokok
- Kelompok tikus diberikan paparan asap rokok kretek ke dalam kotak sebanyak 2 batang/hari selama \pm 10 menit. Tikus dikembalikan ke kandang pemeliharaan 10 menit setelah rokok habis
- Kelompok tikus diberikan jus alpukat selama empat minggu dengan menggunakan sonde lambung sesuai dengan pembagian kelompok perlakuan (1 ml, 2 ml, dan 3 ml)
- Pengambilan sperma dilakukan dengan metode pemotongan epididimis tikus pada hari ke 29, kemudian dilakukan pembuatan preparat
- Cairan semen dikeluarkan dengan cara cauda epididimis dipencet, ditampung di cawan petri, kemudian ditetesi NaCl 2 tetes
- Cairan semen diaduk sampai menjadi homogen
- Cairan semen ditetaskan diatas objek glass, kemudian dibuat sediaan hapus, dikeringkan, difiksasi, dan dilakukan pengecatan dengan giemsa
- Preparat diperiksa dengan mikroskop perbesaran 1000x, sebanyak 100 spermatozoa normal dan dihitung dalam persentase untuk setiap 100 spermatozoa

3.8 Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian

