

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Ruang Lingkup Penelitian

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

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Semarang. Waktu penelitian berlangsung bulan Mei sampai Juli tahun 2018.

3.3. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental, dengan rancangan *post test only control group design* yang menggunakan binatang coba sebagai objek percobaan.

3.4. Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1. Populasi Target

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

3.4.2. 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.

3.4.3. Sampel Penelitian

3.4.3.1. Kriteria Inklusi

- a. Tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*)
- b. Umur 6-8 minggu
- c. Tidak ada kelainan anatomi
- d. Bergerak aktif
- e. Berat badan 200-300 gram

3.4.3.2. Kriteria Ekslusi

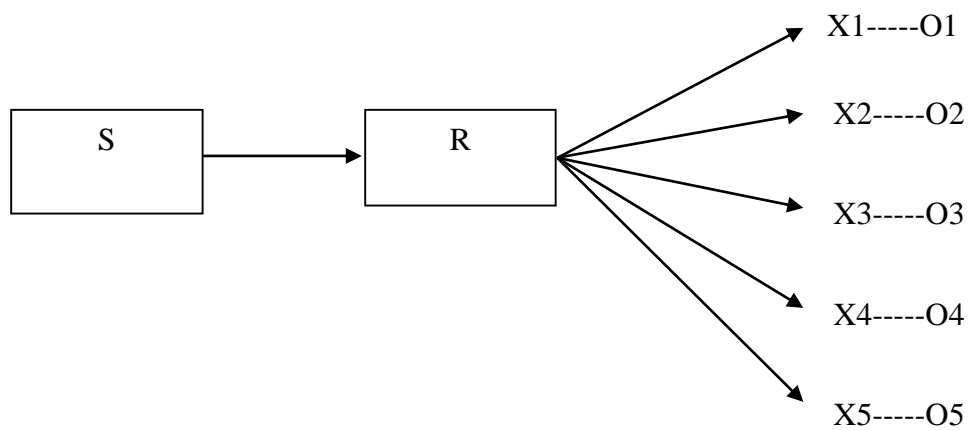
- a. Terdapat abnormalitas yang tampak
- b. Tikus tidak aktif

3.4.3.3. Kriteria Drop out

- a. Tikus mati selama penelitian
- b. Tikus sakit selama penelitian

3.4.4. Cara Sampling

Pemilihan sampel penelitian dipilih secara *simple random sampling* karena untuk menghindari bias sehingga semua objek populasi mempunyai kesempatan yang sama sebagai sampel.



Gambar 5. Cara Sampling

Keterangan:

S : Sample

R : Randomisasi

X : Treatment

O : Observation

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

X2 : Kontrol positif, tikus dengan diet standard 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 : Motilitas spermatozoa dari kelompok kontrol negatif.
- O2 : Motilitas spermatozoa dari kelompok kontrol positif, Tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, tanpa pemberian jus buah alpukat.
- O3 : Motilitas spermatozoa kelompok tikus dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian jus buah alpukat 1 ml/hari selama 28 hari.
- O4 : Motilitas 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.

3.4.5. 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 telah dilakukan 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 berdasarkan menggunakan rumus Federer, didapatkan jumlah minimal sampel dalam 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 buah alpukat dosis 1 ml, 2 ml, dan 3 ml
- b. Paparan asap rokok

3.5.2. Variabel Terikat

Motilitas spermatozoa tikus wistar jantan

3.6. Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional

Variabel	Unit	Skala
<p>Jus buah alpukat</p> <p>Sediaan buah alpukat dalam bentuk jus dibuat dengan cara homogenisasi buah alpukat menggunakan household mixer, kemudian jus yang diperoleh diberikan kepada tikus wistar melalui sonde lambung dengan dosis berbeda tiap kelompok perlakuan yaitu 1 ml, 2 ml, dan 3 ml, setiap hari selama 4 minggu.</p>	ml	Nominal
<p>Asap Rokok</p> <p>Pemaparan asap rokok dengan 2 batang rokok perhari per kelompok tikus dengan menggunakan rokok kretek setiap hari selama 28 hari.</p>	Batang	Nominal
<p>Motilitas Spermatozoa</p> <p>Motilitas spermatozoa adalah pergerakan spermatozoa yang dilihat secara mikroskopis. Dalam lapangan pandang mikroskopis diperiksa dengan sistematis dari setiap spermatozoa di dalamnya dikelompokkan ke dalam kriteria berdasarkan Bergerak lurus, Bergerak ditempat, dan tidak bergerak.</p>	Persen (%)	Nominal

3.7. Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1. Bahan

1. Jus alpukat
2. Rokok kretek.
3. Makanan dan minuman untuk tikus wistar
4. NaCl
5. Kloroform

3.7.2. Alat

1. Seperangkat alat bedah
2. Mikroskop cahaya
3. Kandang tikus
4. Sonde lambung
5. Household mixer
6. *Object glass*
7. *Deck glass*
8. Toples

3.7.3. Jenis Data

Jenis data yang dikumpulkan adalah data primer hasil penelitian eksperimental laboratorik yaitu berupa motilitas spermatozoa tikus wistar jantan (*Ratus norvegicus*).

3.7.4. Cara Kerja

Sebelum diberi perlakuan, 35 ekor tikus wistar jantan diadaptasi dengan dikandangkan dan diberi ransum pakan standar dan minuman

secara *ad libitum* selama satu minggu. Kemudian 35 ekor tikus wistar dibagi dalam lima kelompok yang masing – masing kelompok terdiri atas tujuh ekor tikus wistar yang dipilih secara acak atau randomisasi.

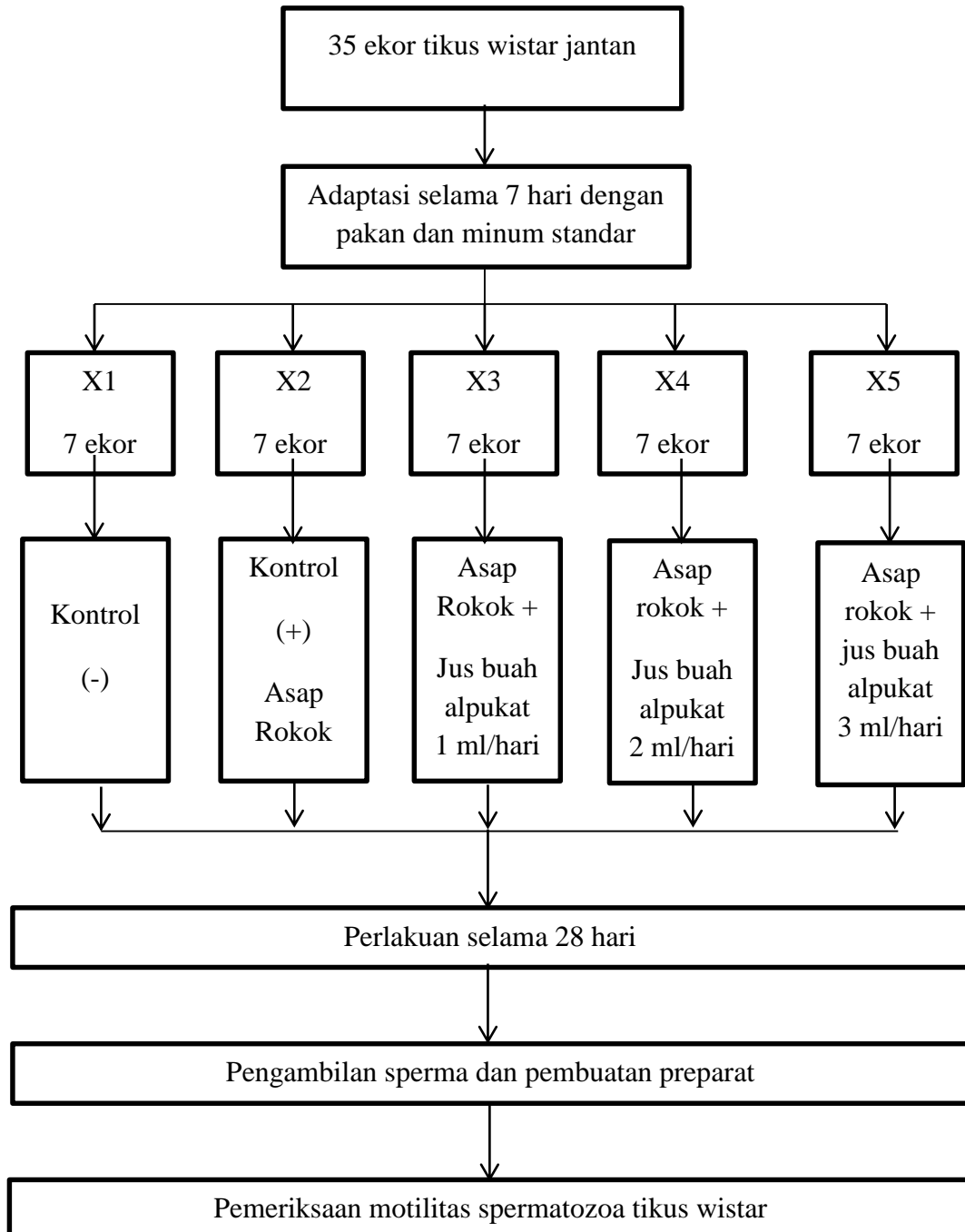
Setelah itu tikus diberi perlakuan berupa pemaparan asap rokok dengan cara memasukkan tikus kedalam kotak khusus yang terbuat dari kaca berukuran 30 cm x 40 cm x 50 cm dengan bagian samping dan atas kotak diberikan ventilasi udara sebagai jalur masuk asap rokok kedalam kotak. Kotak tersebut dihubungkan dengan saluran asap yang berasal dari pembakaran rokok sebanyak 2 batang per hari. Pemberian jus buah alpukat dilakukan dengan menggunakan sonde lambung selama empat minggu sesuai dengan pembagian kelompok perlakuan.

Setelah empat minggu perlakuan, kemudian dilakukan terminasi dengan cara memasukkan tikus kedalam toples yang sudah diberi kapas yang mengandung kloroform sehingga tikus tidak sadar setelah itu tikus dimatikan dengan cara dislokasi serviks. Setelah itu, dilakukan pengambilan sperma tikus dan pembuatan preparat.

Setelah tikus dimatikan per kelompok perlakuan, tikus dibedah di ambil bagian 2 cm cauda epididymis diletakkan pada cawan petri diberi larutan NaCl fisiologis, selanjutnya dilakukan massage menggunakan spatula pada 2 cm cauda epididymis untuk mendapatkan sel sperma yang dibutuhkan dan diaduk agar menjadi homogen sehingga memudahkan pemeriksaan. Sel sperma yang sudah keluar dari epididymis diambil menggunakan pipet lalu diletakkan di object glass dan ditutup dengan deck glass. Selanjutnya diamati dibawah mikroskop

dengan pembesaran 100x menggunakan empat lapangan pandang. Perhatikan berapa persen spermatozoa yang bergerak lurus, bergerak ditempat, dan tidak bergerak kemudian catat pada lembar pengamatan.²²

3.8. Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian

3.9. Analisis Data

Data yang diperoleh dari empat kelompok sampel diolah menggunakan program computer SPSS. Kemudian dilakukan uji normalitas distribusi dengan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang kecil. Distribusi data pada penelitian ini normal, melakukan uji parametik dengan uji *one way Anova* dan dilanjutkan dengan *post hoc LSD*.

3.10. Etika Penelitian

Etika penelitian dimintakan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Universitas Diponegoro/ RSUP dr. Kariadi Semarang dengan Nomor. 90/EC/H/FK-RSDK/VII/2018.

