

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

Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.

3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dari bulan Maret-Juni 2016.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

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

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Populasi penelitian ini menggunakan mencit strain *balb/c* jantan yang berusia 6-8 minggu dari Universitas Negeri Semarang.

3.4.2 Sampel Penelitian

a. Kriteria inklusi

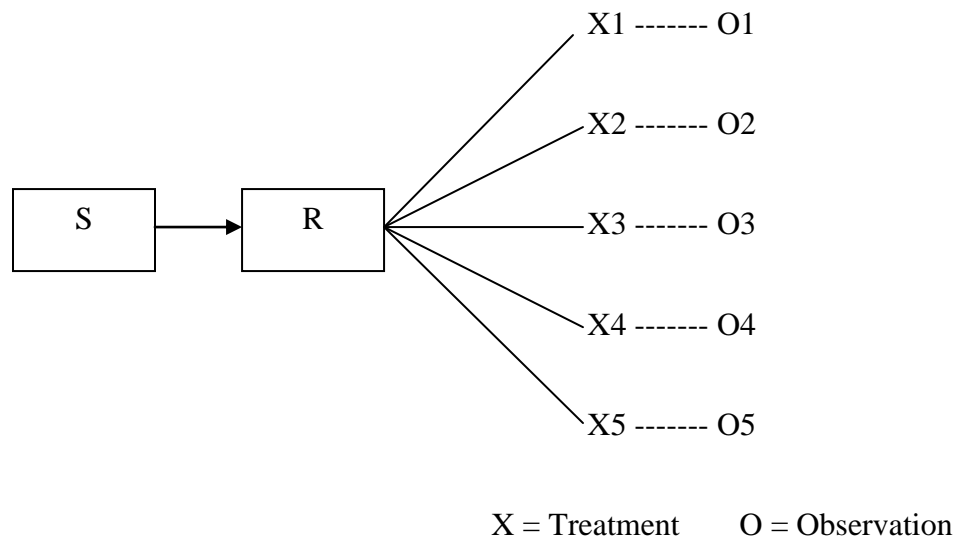
- ✓ Mencit strain *balb/c* jantan
- ✓ Mencit aktif
- ✓ Tidak ada kelainan anatomi
- ✓ Berat badan 25-30 gram
- ✓ Umur 6-8 minggu

b. Kriteria eksklusi

- ✓ Mencit tidak aktif
- ✓ Terdapat abnormalitas anatomi yang tampak

3.4.3 Cara Sampling

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



Gambar 4. Cara Sampling

Keterangan :

S = Sampel

R = Randomisasi

X1 = Kontrol standar, sebagai pembanding, mencit yang mendapat diet standar, tanpa pemberian *dark chocolate* dan paparan asap rokok.

X2 = Kontrol positif, mencit dengan diet standar diberi paparan asap rokok, tanpa pemberian *dark chocolate*.

- X3 = Mencit dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian *dark chocolate* dosis 0,05 gram per hari selama 4 minggu.
- X4 = Mencit dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian *dark chocolate* dosis 0,1 gram per hari selama 4 minggu.
- X5 = Mencit dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian *dark chocolate* dosis 0,2 gram per hari selama 4 minggu.
- O1 = Motilitas spermatozoa dari kelompok kontrol negatif.
- O2 = Motilitas spermatozoa dari kelompok kontrol positif, mencit dengan diet standar diberi paparan asap rokok, tanpa pemberian *dark chocolate*.
- O3 = Motilitas spermatozoa kelompok mencit dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian *dark chocolate* dosis 0,05 gram per hari selama 4 minggu.
- O4 = Motilitas spermatozoa kelompok mencit dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian *dark chocolate* dosis 0,1 gram per hari selama 4 minggu.
- O5 = Motilitas spermatozoa kelompok mencit dengan diet standar diberi paparan asap rokok, dengan pemberian *dark chocolate* dosis 0,2 gram per hari selama 4 minggu.

3.4.4 Besar Sampel

Besar sampel dalam penelitian ini ditentukan sesuai dengan *Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines* dari WHO yaitu minimal 5 ekor tiap satu kelompok.³³ Dalam penelitian ini menggunakan 40 ekor mencit *balb/c* jantan yang dibagi dalam 5 kelompok.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

- a. *Dark chocolate* dosis bertingkat
- b. Paparan Asap Rokok

3.5.2 Variabel Terikat

Motilitas spermatozoa mencit *balb/c* jantan

3.6 Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional

No	Variabel	Unit	Skala
1	<i>Dark chocolate</i> Sediaan <i>dark chocolate</i> dengan kadar 100% yang diberikan melalui sonde lambung dengan dosis bertingkat setiap hari selama 4 minggu	Gram	Rasio
2	Asap Rokok Pemaparan asap rokok dengan 1 batang rokok perhari per	-	Nominal

No	Variabel	Unit	Skala
	kelompok mencit dengan menggunakan rokok kretek setiap hari selama 4 minggu		
3	<p>Motilitas Spermatozoa 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 PR, NP, dan I berdasarkan penampakan spermatozoa :</p> <p>(PR) Bergerak Aktif (NP) Bergerak Lemah (I) Tidak Bergerak</p>	Persen (%)	Rasio

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

- a. *Dark chocolate*
- b. Makanan mencit
- c. Rokok kretek
- d. Bahan-bahan untuk pemeriksaan motilitas spermatozoa berupa NaCl 0.9%.

3.7.2 Alat

- a. Kandang mencit
- b. Mikroskop cahaya
- c. Seperangkat alat bedah
- d. *Object glass*
- e. *Deck glass*
- f. Sonde lambung
- g. Spuit tanpa jarum

3.7.3 Jenis Data

Jenis data yang dikumpulkan adalah data primer hasil penelitian eksperimental laboratorik yaitu berupa persentase motilitas spermatozoa mencit *balb/c* jantan kriteria PR dan NP.

3.7.4 Cara Kerja

Sebelum mendapat perlakuan, 40 ekor mencit *balb/c* diadaptasi dengan dikandangkan dan diberi ransum pakan standar dan minuman selama satu minggu. Setelah itu, 40 ekor mencit dibagi 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari delapan ekor mencit yang ditentukan secara acak.

Kemudian mencit diberi perlakuan berupa pemaparan asap rokok dengan menggunakan spuit tanpa jarum dengan frekuensi 1 batang per hari per kelompok dan

pemberian *dark chocolate* dengan menggunakan sonde lambung selama 4 minggu sesuai dengan pembagian kelompok di atas.

Setelah empat minggu perlakuan, kemudian dilakukan pengambilan sperma mencit masing-masing 5 ekor di setiap kelompok. Sampel diambil dari epididimis mencit *balb/c* yaitu tepatnya 1 cm di bawah caput epididimis. Pada tempat tersebut di-klem, kemudian dipotong. Bagian yang dipotong tersebut dikeluarkan spermanya dengan cara dipencet.

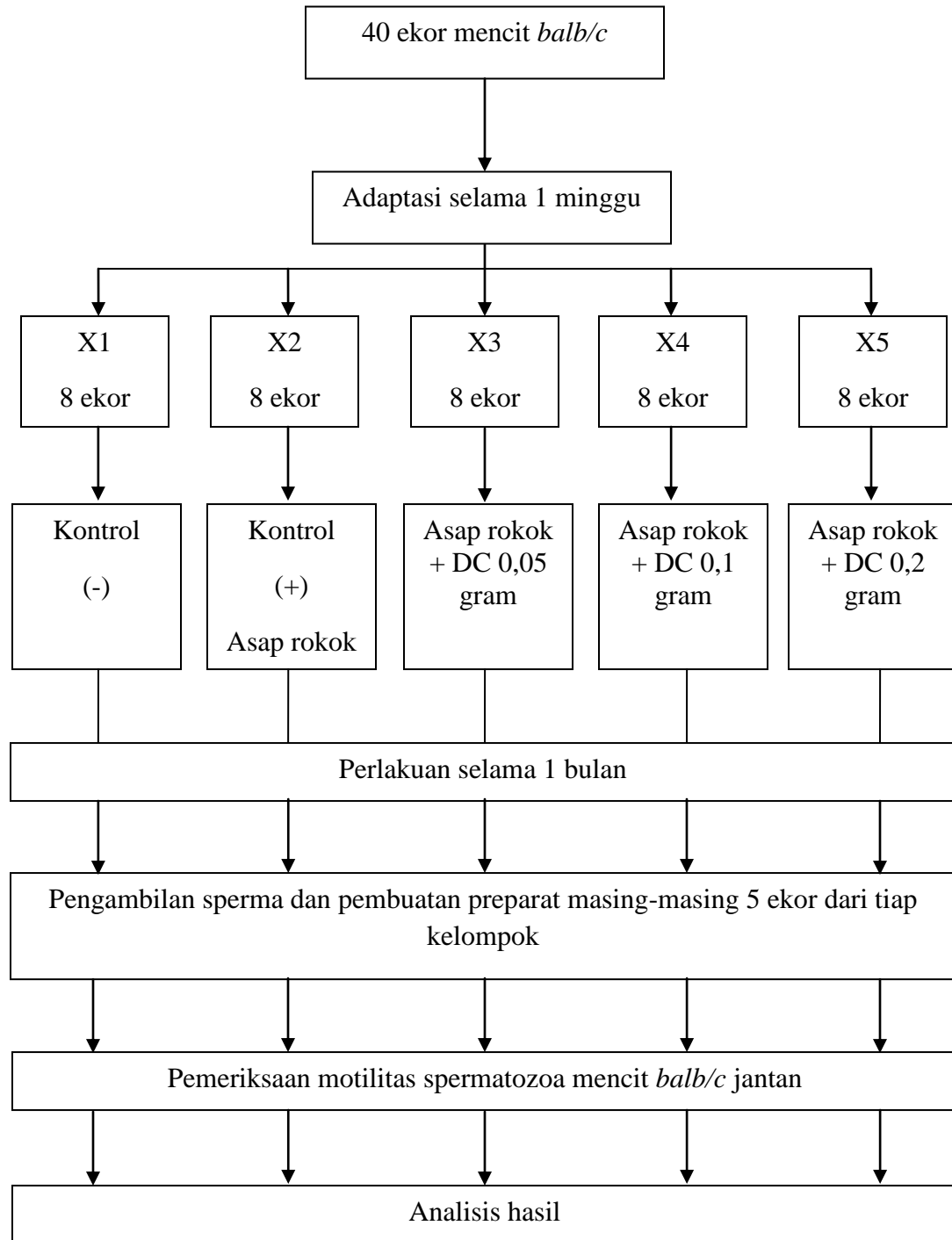
Kemudian dilakukan pembuatan preparat. Sperma ditetesi NaCl 0,9% sebanyak 2 tetes, diaduk menjadi homogen. Sperma diteteskan di atas objek glass ditutup dengan deck glass. Periksa di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 10X atau 40X.

Setelah itu, dilakukan penilaian motilitas. Motilitas dapat diamati paling sedikit 5 lapangan pandang atau pada seluruh lapangan pandang bila konsentrasi spermatozoa rendah. Kemudian dicatat hal-hal berikut ini :

- ✓ Berapa % spermatozoa yang bergerak aktif (PR)
- ✓ Berapa % spermatozoa yang bergerak lemah (NP)
- ✓ Berapa % spermatozoa yang tidak bergerak (I)

Amati motilitas 200 spermatozoa pada dua preparat terpisah, bila perbedaan persentase motilitas tinggi, harus disiapkan dua preparat yang baru dan dihitung kembali. Kemudian dilakukan analisis hasil.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian

3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari 5 kelompok sampel diolah dan dianalisis oleh komputer. Kemudian dilakukan analisa statistik dengan urutan sebagai berikut.

a. Analisa deskriptif

1. Dilakukan analisa univarian dan disajikan dalam bentuk tabel.
2. Dibuat grafik menurut kelompok perlakuan dan ulangnya.

b. Analisa analitik

1. Dilakukan uji beda perlakuan dan kelompok kontrol dengan analisa data nonparametik yang akan menyesuaikan dengan data yang didapat dan dilakukan uji beda antar variabel pengukuran.
2. Dilakukan uji korelasi untuk melihat hubungan antar variabel, arah hubungan dan seberapa besar hubungan tersebut.

Variabel dependen diuji normalitasnya dengan uji *Saphiro-Wilk*. Jika distribusi data normal, uji hipotesa dilakukan dengan menggunakan statistik parametik *One Way ANOVA* dan dilanjutkan *Uji Post Hoc*. Jika distribusi data tidak normal, uji hipotesa dilakukan dengan menggunakan statistik non parametrik, yaitu uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Man Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompok.

Ketentuan yang digunakan adalah :

- a. Jika $p < 0,05$; maka ada perbedaan yang bermakna.
- b. Jika $p > 0,05$; maka tidak ada perbedaan yang bermakna.

3.10 Etika Penelitian

Etika penelitian akan dimintakan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

3.11 Jadwal Penelitian

Tabel 4.Jadwal penelitian

Kegiatan	Bulan (tahun 2015-2016)						
	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun
Studi literatur							
Penyusunan proposal							
Seminar proposal							
Ethical clearance							
Persiapan alat bahan							
Pelaksanaan Penelitian							
Analisis data dan penyusunan hasil							
Seminar hasil							