

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Desain yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *Rancangan Acak Lengkap*. Penelitian ini menggunakan 5 (lima) kelompok perlakuan dan 5 (lima pengulangan) terhadap hewan percobaan mencit jantan (*Mus musculus* L).

#### **B. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di laboratorium Biologi dan Fisika FMIPA Universitas Lampung pada bulan Oktober - November 2012 selama 28 hari dan pembuatan preparat spermatozoa dan pengamatan dilaksanakan di Laboratorium Histologi-Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung Bandar Lampung.

#### **C. Variabel Penelitian**

a. Variabel Independen

Lampu merkuri.

b. Variabel Dependen

Motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa.

## **D. Alat dan Bahan**

### **1. Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan yaitu : kandang mencit yang terbuat dari kawat sebanyak 5 kandang, botol yang tutupnya diberi pipa aluminium sebagai tempat minum mencit, lampu merkuri 16 watt dan isolatornya, luxmeter, gelas kimia, termometer, timbangan mencit, kotak mencit, papan fiksasi, makanan mencit, botol minuman mencit dengan pipa aluminium, lampu merkuri *low pressure* dengan tegangan 16 watt, alat bedah minor, mikroskop, pipet tetes, *object glass*, *aluminium foil*, neraca analitik, hemositometer dan *cover glass*.

### **2. Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan yaitu: NaCl 0,9%, pelet ayam sebagai pakan mencit, aquadest, dan eosin.

## **E. Populasi dan Sampel Penelitian**

Populasi dari penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus* L) dewasa, umur  $\geq 8$  minggu dengan berat 30-40 gram dan sehat yang ditandai dengan gerakan aktif, diperoleh dari BPPV Lampung. Sedangkan, banyaknya pengulangan ditentukan berdasarkan rumus Frederer (1955):

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

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$t =$  kelompok perlakuan (5 kelompok )

$$5n \geq 20$$

$n =$  jumlah pengulangan atau sampel tiap

kelompok

$$n \geq 4$$

## F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

### 1. Kriteria Inklusi :

- a. Sehat
- b. Memiliki berat badan antara 30-40 gr
- c. Jenis kelamin jantan
- d. Usia  $\geq$  8 minggu

### 2. Kriteria Eksklusi:

Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah 1 minggu masa adaptasi di laboratorium.

## **G. Prosedur Penelitian**

### **1. Persiapan Hewan Uji**

Sebelum diberi perlakuan, mencit diadaptasikan selama satu minggu di Laboratorium Biologi dan Fisika FMIPA Unila tempat dilaksanakannya penelitian. Terhadap setiap mencit ditimbang berat badannya dan diamati kesehatannya secara fisik ( gerakannya, makan dan minumannya), sebelum diberi perlakuan.

### **2. Pemberian Perlakuan**

Penelitian ini menggunakan intensitas lampu dipancarkan oleh lampu merkuri sebagai bentuk perlakuan terhadap objek penelitian. Adapun cara pajanan lampu merkuri adalah sebagai berikut :

1. Mencit ditempatkan pada ruangan fiksasi dan dilakukan pencahayaan dengan lampu merkuri yang diletakkan pada jarak 2 meter dari mencit.
2. Dua puluh ekor mencit jantan dibagi ke dalam lima kelompok yang masing-masing terdiri dari empat ekor mencit. Kelima kelompok tersebut meliputi :
  1. Kelompok kontrol: tidak dipajankan terhadap lampu merkuri.
  2. Kelompok perlakuan 1: dipajankan terhadap lampu merkuri menghasilkan radiasi maksimum pada panjang gelombang 253,7 nm dengan intensitas empat jam perhari selama 28 hari.

3. Kelompok perlakuan 2: dipajankan terhadap lampu merkuri menghasilkan radiasi maksimum pada panjang gelombang 253,7 nm dengan intensitas delapan jam perhari selama 28 hari.
4. Kelompok perlakuan 3: dipajankan terhadap Lampu merkuri menghasilkan radiasi maksimum pada panjang gelombang 253,7 nm dengan intensitas duabelas jam perhari selama 28 hari.
5. Kelompok perlakuan 4: dipajankan terhadap lampu merkuri menghasilkan radiasi maksimum pada panjang gelombang 253,7 nm dengan intensitas enambelas jam perhari selama 28 hari.

### **3. Pengamatan**

Setelah 28 hari perlakuan, masing-masing hewan coba dikorbankan dengan cara dislokasi leher dan selanjutnya dibedah. Selanjutnya dilakukan pengamatan sebagai berikut :

#### **a. Pengambilan Sekresi Kauda Epididimis**

Untuk mendapatkan spermatozoa di dalam sekresi kauda epididimis dilakukan menurut Soehadi dan Arsyad (1983), yaitu sebagai berikut: Setelah 28 hari perlakuan, masing-masing hewan coba dikorbankan dengan cara dislokasi leher dan selanjutnya dibedah. Kemudian organ testis dan epididimis diambil dan diletakan ke dalam cawan petri yang berisi NaCl 0,9%. Di bawah mikroskop bedah dengan pembesaran 400 kali kauda epididimis dipisahkan dengan cara memotong bagian proksimal korpus epididimis dan

bagian distal *vas defferen*. Selanjutnya kauda epididimis dimasukan ke dalam gelas arloji yang berisi 1 ml NaCl 0,9%, kemudian bagian proximal kauda dipotong sedikit dengan gunting lalu kauda ditekan dengan perlahan hingga cairan sekresi epididimis keluar dan tersuspensi dengan NaCl 0,9%. Suspensi spermatozoa dari cauda epididimis yang telah diperoleh dapat digunakan untuk pengamatan motilitas dan viabilitas spermatozoa.

#### **b. Motilitas Spermatozoa**

Untuk menentukan motilitas spermatozoa diambil spermatozoa dari kauda epididimis seperti penjelasan diatas kurang lebih 10 $\mu$ l ke atas gelas objek dengan ukuran 25.4mm x 76.2mm lalu ditutup dengan *cover glass* 22mm x 22mm. Dilakukan pengamatan pada 5 lapang pandang pada pembesaran mikroskop 400x. Biasanya 4 sampai 6 lapangan pandang yang diperiksa untuk memperoleh seratus spermatozoa secara berurutan yang kemudian dihitung sehingga menghasilkan persentase motilitas spermatozoa (WHO, 2012).

#### **c. Viabilitas Spermatozoa**

Untuk menentukan viabilitas spermatozoa diambil spermatozoa dari kauda epididimis kurang lebih 10 $\mu$ l ke atas gelas objek dengan ukuran 25.4mm x 76.2mm lalu ditutup dengan *cover glass* 22mm x 22mm. Dilakukan pengamatan pada 5 lapang pandang pada

pembesaran mikroskop 400x. Kemudian dihitung sehingga menghasilkan persentase viabilitas spermatozoa.

## H. Pengolahan Data

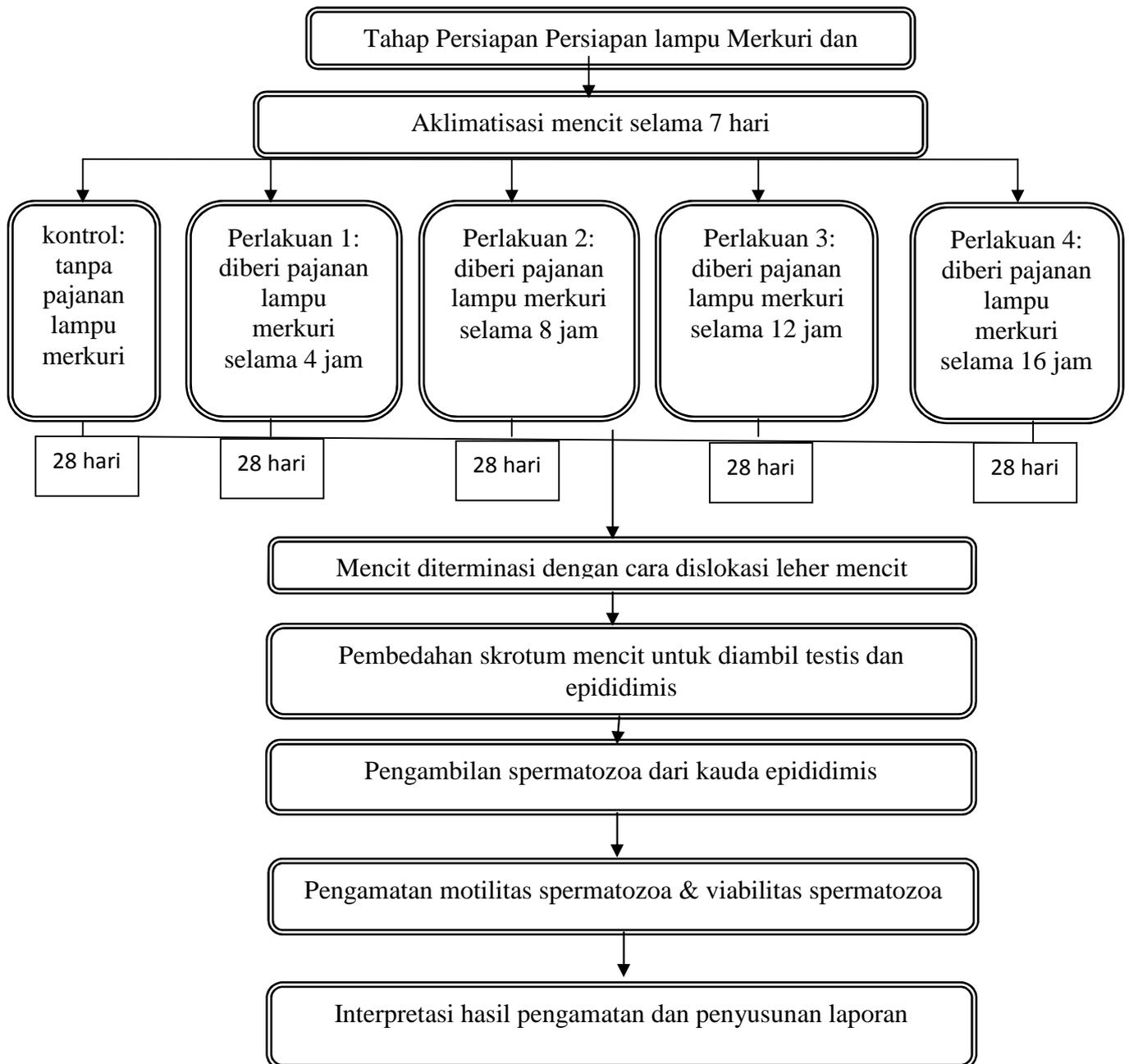
Kelompok penelitian terdiri dari 5 kelompok, yaitu: 4 kelompok perlakuan dan 1 kontrol. Pada tiap kelompok, data yang terkumpul dianalisis menggunakan program perangkat lunak statistik dengan menggunakan uji *one way anova* untuk menguji perbedaan rerata pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

## I. Definisi Operasional

Variabel dalam penelitian ini dijelaskan dalam tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Skala	Alat Ukur
<b>Variabel Independen:</b> - Lampu merkuri	Lampu merkuri yang digunakan adalah lampu merkuri <i>Low Pressure</i> berdaya 16 Watt.	Ordinal	Luxmeter
<b>Variabel Dependen:</b> - Motilitas spermatozoa	Motilitas spermatozoa normal dan abnormal yang diperoleh dari kauda epididimis	Numerik	Hemositometer
- Viabilitas spermatozoa	Viabilitas spermatozoa normal dan abnormal yang diperoleh dari kauda epididimis	Numerik	Hemositometer



Gambar 5. Bagan Alir Penelitian