

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimen, karena pada penelitian ini terdapat manipulasi terhadap objek penelitian serta adanya kontrol (Nazir, 1999).

#### **B. Desain Penelitian**

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), karena pada penelitian ini unit eksperimen dan faktor lingkungan bersifat homogen. Terdapat enam perlakuan yang diberikan pada mencit jantan yakni dosis jus biji pinang 0 µg/ml, 0.1 µg/ml, 0.3 µg/ml, 0.5 µg/ml, 0.7 µg/ml, dan 1.0 µg/ml. Banyaknya pengulangan atau replikasi diperoleh melalui Gomez dan Gomez (1995), yaitu :

$$T(r-1) \geq 20$$

$$6(r-1) \geq 20$$

$$6r-6 \geq 20$$

$$r \geq 24/6$$

$$r \geq 4$$

Keterangan:

T = jumlah perlakuan = 6

r = jumlah replikasi

Berdasarkan penghitungan di atas, maka jumlah pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah empat kali pengulangan. Mencit yang

digunakan dibagi menjadi enam kelompok dosis pemberian jus biji pinang. Sebelum ke tahap perlakuan, seluruh hewan percobaan diaklimatisasi selama satu minggu. Penimbangan berat badan dilakukan setiap hari sebelum pemberian jus biji pinang. Parameter yang diukur adalah berat testis dan jumlah sperma mencit.

Berikut merupakan denah pengacakan mencit dan penempatan dalam kandang:

Tabel 3.1 Pengaturan Pengacakan Mencit

8F	6D	2D	23C
9F	1C	11A	16B
14E	7C	18C	4F
3B	13A	24E	22E
20A	19D	10D	21B
5E	12B	17A	15F

Tabel 3.2 Peta kandang

Kandang	Nomor Mencit			
A	11	13	17	20
B	16	3	12	21
C	23	1	7	18
D	6	2	19	10
E	5	24	22	14
F	8	9	4	15

Keterangan:

- A: jus pinang dengan dosis 0  $\mu\text{g/ml}$       D: jus pinang dengan dosis 0.5  $\mu\text{g/ml}$   
 B: jus pinang dengan dosis 0.1  $\mu\text{g/ml}$       E: jus pinang dengan dosis 0.7  $\mu\text{g/ml}$   
 C: jus pinang dengan dosis 0.3  $\mu\text{g/ml}$       F: jus pinang dengan dosis 1.0  $\mu\text{g/ml}$

### **C. Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh mencit (*Mus musculus* L.) jantan galur *Swiss Webster* dan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur *Swiss Webster* usia 4 bulan.

### **D. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan Maret sampai Mei 2011. Pembuatan jus biji pinang dilakukan di laboratorium Fisiologi jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA UPI. Pemeliharaan mencit dilakukan di kandang hewan Jalan Darmawinata, Gegerkalong Girang, Bandung dan pengukuran berat testis serta jumlah sperma dilakukan di laboratorium Struktur Hewan dan laboratorium Fisiologi Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

### **E. Prosedur Penelitian**

#### **1. Penentuan dosis**

Dosis jus biji pinang yang diberikan berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Er, *et al.* (2006), yaitu pemberian arekolin murni sebanyak 100 µg/ml yang dapat memengaruhi penurunan motilitas sperma manusia. Dosis tersebut digunakan karena adanya keterkaitan antara motilitas dan jumlah sperma yang keduanya merupakan kriteria dalam penentuan kualitas sperma. Dosis tersebut kemudian dikonversi menggunakan tabel perbandingan luas permukaan tubuh hewan untuk konversi dosis manusia dengan berat badan 70 kg ke mencit dengan berat badan 20 g, didapatkan nilai konversi sebesar 0.0026 (Lauren dan

Bacharac, 1964 dalam Nur, 2010). Dengan demikian penghitungan konversi dosis jus biji pinang untuk mencit dengan berat 20 g adalah 0.26  $\mu\text{g/ml}$ . Dosis jus biji pinang kemudian dimodifikasi untuk mencit yaitu sebesar 0  $\mu\text{g/ml}$ , 0.1  $\mu\text{g/ml}$ , 0.3  $\mu\text{g/ml}$ , 0.5  $\mu\text{g/ml}$ , 0.7  $\mu\text{g/ml}$ , dan 1.0  $\mu\text{g/ml}$ . Pemberian jus biji pinang dilakukan setiap pagi selama 14 hari, untuk setiap mencit diberikan jus biji pinang sebanyak 0.5 ml per hari.

## **2. Aklimatisasi mencit**

Pemeliharaan mencit dilakukan di kandang hewan Jalan Darmawinata, Gegerkalong Girang, Bandung. Sebelum diberi perlakuan, mencit diaklimatisasi pada suhu 24-29°C, periode ini dilaksanakan selama 7 hari dengan tujuan agar hewan uji teradaptasi dengan kondisi yang akan ditempati selama percobaan. Mencit dikelompokkan dalam kandang berukuran 30x20x12 cm berdasarkan perlakuan yang diberikan dengan kepadatan 4 ekor setiap kandang. Selama aklimatisasi, mencit diberi pakan standar PC 551 dan minum. Botol minuman dibersihkan dan diganti airnya jika kotor atau diisi ulang apabila air telah habis. Aklimatisasi dilakukan untuk meminimalisir faktor-faktor yang tidak diinginkan selama penelitian berlangsung.

## **3. Pembuatan jus biji pinang**

Biji pinang dipisahkan dari kulit dan daging buah. Kemudian biji pinang digerus menggunakan lumpang dan alu, lalu ditambahkan aquades sebanyak 100 ml, untuk membuat jus biji pinang dengan konsentrasi 0.3  $\mu\text{g/ml}$  dibutuhkan biji

pinang sebanyak 0.004 g. Kebutuhan ini diperoleh berdasarkan asumsi bahwa dalam setiap gram biji pinang terdapat arekolin sebanyak 7.5 mg (Wang *et al.*, 1997 dalam Wang *et al.*, 2008). Konversi ini dibutuhkan karena dosis yang diberikan pada penelitian sebelumnya menggunakan arekolin murni, sedangkan pada penelitian ini digunakan jus biji pinang secara langsung. Begitu juga dengan pembuatan jus biji pinang dengan dosis 0.1 µg/ml, 0.5 µg/ml, 0.7 µg/ml, dan 1.0 µg/ml, digunakan penghitungan seperti yang telah dijelaskan.

#### **4. Pengukuran berat testis mencit**

Setelah 14 hari pemberian jus biji pinang, pada hari ke 15 dilakukan dislokasi leher mencit, kemudian mencit dibedah dan diambil bagian testisnya. Kemudian testis dibersihkan dari lemak yang menempel dalam NaCl 0.9%, lalu testis ditimbang pada neraca timbangan analitik.

#### **5. Penghitungan jumlah sperma**

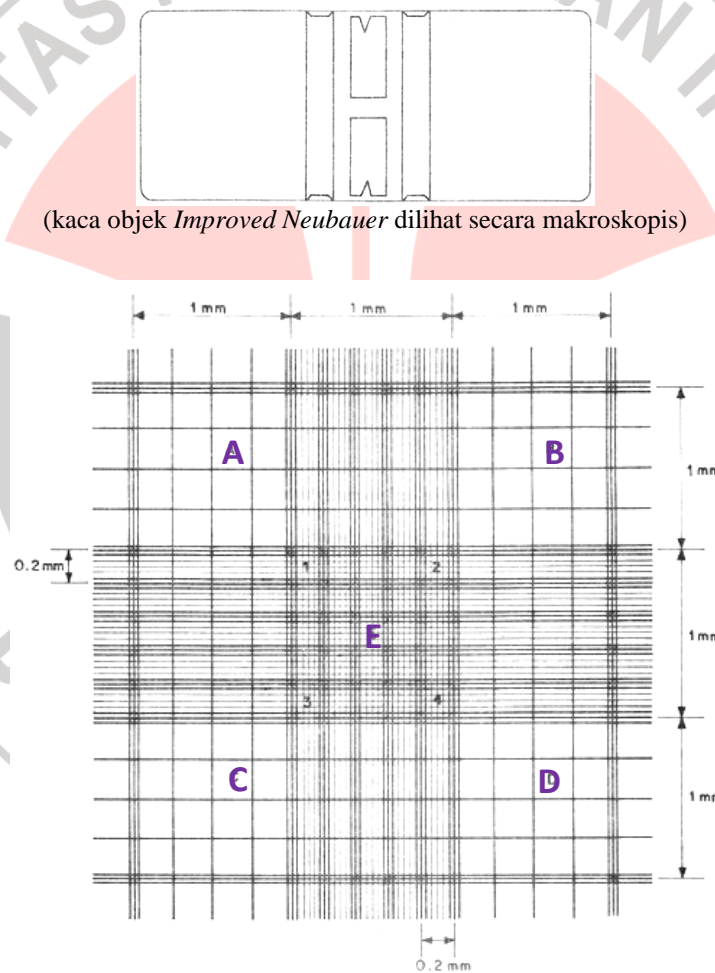
Penghitungan jumlah sperma dilakukan menurut Soehadi dan Arsyad, 1983 (Suparni, 2009). Mula-mula organ testis beserta epididimis yang telah bersih dari lemak disimpan pada NaCl 0.9%, lalu bagian epididimis dipisahkan dengan organ testis. Kemudian epididimis dimasukkan ke dalam gelas arloji yang berisi 1 ml NaCl 0.9%, lalu kauda epididimis ditekan dengan perlahan hingga sekresi cairan epididimis keluar dan tersuspensi dengan NaCl 0.9%. Selanjutnya diambil 10 µl suspensi sekresi, lalu ditetaskan ke dalam *Improved Neubauer*

(*Haemocytometer*), ditutup dengan *cover glass*, dan jumlah sperma dihitung pada mikroskop cahaya.

Jumlah sperma/ml suspensi sekresi kauda epididimis ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah sperma} = N/2 \times 10^5 \text{ sperma/ml}$$

Keterangan: N = jumlah sperma pada kotak 1, 2, 3, 4, dan 5 pada daerah E (*haemocytometer*)



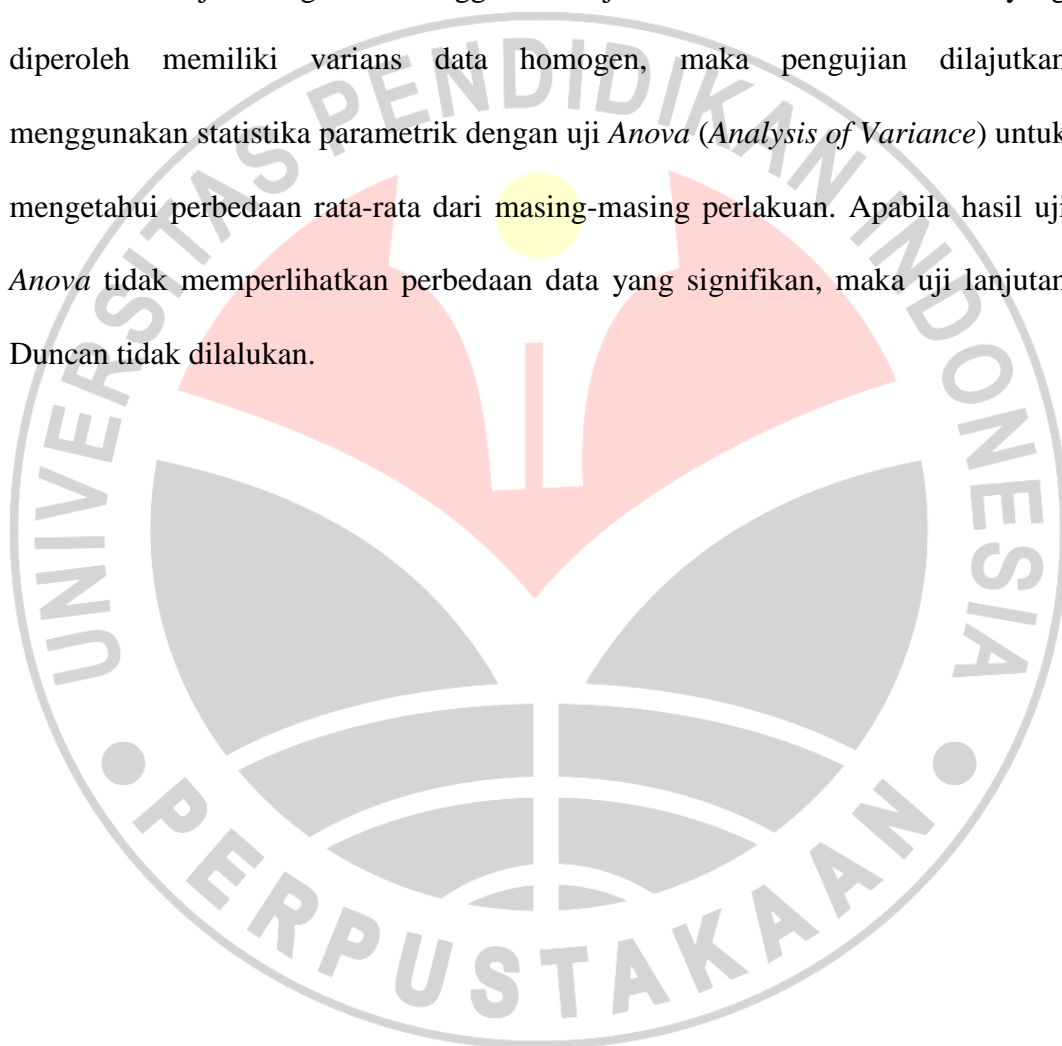
(kamar hitung *Improved Neubauer* dilihat secara mikroskopis)

**Gambar 3.1** Kamar Hitung *Improved Neubauer*

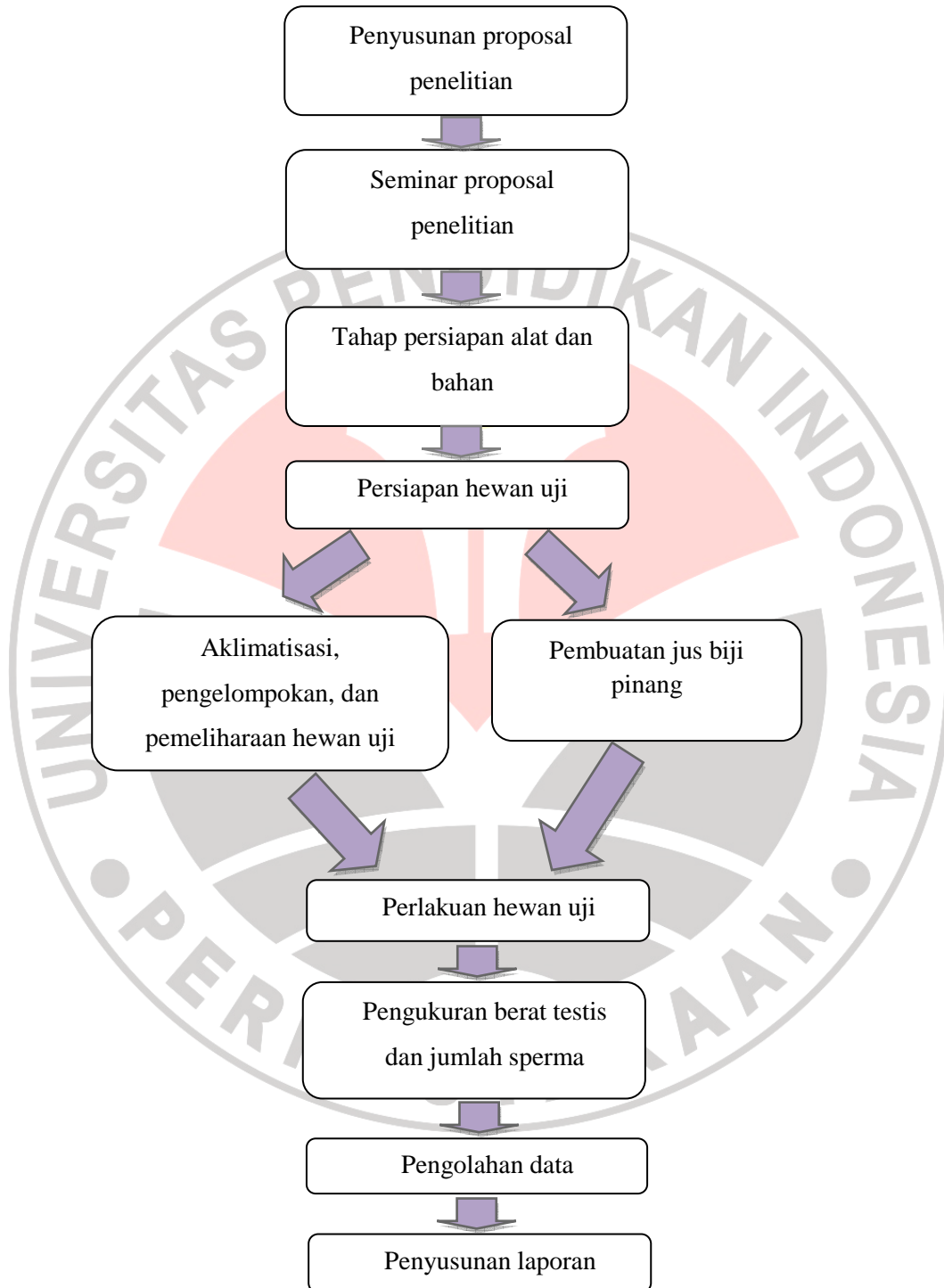
(Sumber: Guerrero and Villegas, 1981)

## F. Analisis Data

Data yang telah diperoleh dianalisis secara statistika dengan program SPSS 16 *for windows*. Tahap awal yang dilakukan adalah uji prasyarat yaitu uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dan uji homogenitas menggunakan uji Levene. Kemudian bila data yang diperoleh memiliki varians data homogen, maka pengujian dilanjutkan menggunakan statistika parametrik dengan uji *Anova (Analysis of Variance)* untuk mengetahui perbedaan rata-rata dari masing-masing perlakuan. Apabila hasil uji *Anova* tidak memperlihatkan perbedaan data yang signifikan, maka uji lanjutan Duncan tidak dilakukan.



### G. Alur Penelitian



**Gambar 3.2** Alur Penelitian