

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai November 2012 di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pengamatan fetus dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

B. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, yaitu untuk mempelajari suatu fenomena dalam korelasi sebab-akibat, dengan cara memberikan perlakuan pada subjek penelitian kemudian mempelajari efek perlakuan tersebut (Notoatmodjo, 2010).

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina dan mencit jantan (*Mus musculus* L.) yang berumur 3 sampai 4 bulan dengan berat badan 30 sampai 40 gram. Mencit betina dikawinkan dengan mencit jantan pada saat estrus dengan sistem pasangan poligami (lima ekor betina dengan satu ekor jantan). Untuk memastikan waktu perkawinannya, calon induk mencit

diperiksa ada tidaknya sumbat vagina. Sumbat ini merupakan air mani yang berwarna kekuningan berasal dari sekresi kelenjar khusus tikus jantan dan sebagai penetapan hari kebuntingan 0.

Sebelum diberikan perlakuan, hewan uji terlebih dahulu diaklimatisasi selama 1 minggu dalam kondisi laboratorium. Hal ini bertujuan untuk proses penyesuaian bagi mencit dalam lingkungan dan perlakuan baru, serta membatasi pengaruh lingkungan dalam percobaan.

Mencit diketahui memiliki homogenitas metabolik yang mirip manusia, mencit memiliki organ dan fisiologi sistemik yang sama, serta memiliki gen yang mirip dengan manusia. Mencit juga mempunyai kemiripan yang baik bagi patogenesis suatu penyakit. Kemiripan inilah yang menjadi salah satu alasan mengapa mencit digunakan sebagai objek penelitian patogenesis penyakit maupun proses penuaan pada manusia.

Desain yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 pengulangan. Pada saat perlakuan, mencit betina (*Mus musculus* L.) dibagi menjadi 4 kelompok di mana masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor mencit betina (*Mus musculus* L.). Hal ini sesuai dengan rumus penentuan sampel Freederer untuk uji eksperimental yaitu $(n-1)(t-1) \geq 15$. Nilai t adalah jumlah perlakuan yang diberikan selama percobaan, sedangkan nilai n adalah jumlah sampel dalam setiap kelompok perlakuan.

Sehingga penentuan banyaknya sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan perhitungan berikut (Notoatmodjo, 2010) :

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

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Kriteria keadaan mencit dibagi menjadi dua, yaitu kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria inklusi :

- a. Sehat.
- b. Jenis kelamin betina, siklus estrus normal.
- c. Berumur 3 sampai 4 bulan.
- d. Memiliki berat badan antara 30 sampai 40 gram.

Kriteria eksklusi :

- a. Penampakan rambut kusam, rontok atau botak, dan tidak aktif.
- b. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium.

C. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Dalam penelitian ini alat-alat yang dipakai yaitu kandang mencit yang digunakan sebagai tempat perlakuan dimana kandang ini terbuat dari kawat dan kayu berukuran 15 x 20 cm, 1 buah *microwave oven* yang dipaparkan pada frekuensi 2.450 MHz (2,45 GHz) yang dipakai sebagai media pajanan medan elektromagnetik (Gambar 8), balok kayu untuk fiksasi induk mencit, alat bedah berupa gunting, pinset dan pisau bedah yang digunakan untuk membedah induk mencit, lup, jangka sorong, alat tulis, kertas label, dan kamera.

Berikut ini adalah spesifikasi teknik dari alat yang digunakan:

| | |
|----------------------------|--|
| <i>Type</i> | : PANASONIC NN-SM320M |
| <i>Power source</i> | : 220 V 50 Hz |
| <i>Power consumption</i> | : 4.5 A 800 W |
| <i>Cooking power</i> | : 450 W |
| <i>Outside dimensions</i> | : 488 mm (W) x 279 mm (H) x 405 mm (D) |
| <i>Operating frequency</i> | : 2.450 MHz |
| <i>Net weight</i> | : <i>Approx.</i> 11,5 kg |



Gambar 8. *Microwave Oven*

2. Bahan

Dalam penelitian ini bahan-bahan yang dipakai yaitu fetus mencit (*Mus musculus* L.), pellet ayam untuk pakan mencit, air untuk minum mencit, chloroform, kapas, dan *tissue*.

D. Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit betina dan 4 ekor mencit jantan (*Mus musculus* L.) berumur 3 sampai 4 bulan dengan rata-rata berat badan 30 sampai 40 gram yang diperoleh dari Bagian Pemuliaan dan Genetika Ternak, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Sebelum diberi perlakuan semua hewan uji diaklimatisasi selama satu minggu dan diberi pakan dan minum secara *ad libitum*.

E. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Hewan Uji

Setelah subjek penelitian diaklimatisasi selama satu minggu dan diberi pakan dan minum secara *ad libitum*, maka mencit betina dikawinkan dengan mencit jantan pada saat estrus dengan sistem pasangan poligami (lima ekor betina dengan satu ekor jantan). Untuk memastikan waktu perkawinannya, calon induk mencit diperiksa ada tidaknya sumbat vagina. Sumbat ini merupakan air mani yang berwarna kekuningan berasal dari sekresi kelenjar khusus tikus jantan dan sebagai penetapan hari kebuntingan 0.

2. Perlakuan Hewan Uji

Hewan uji berupa 20 ekor induk mencit yang sudah bunting ditempatkan dalam 4 kandang yang berbeda, dengan masing-masing kandang berisi 5 ekor induk mencit. Tiap-tiap induk mencit dibagi dalam 4 kelompok dan selama perlakuan ditempatkan di dalam balok kayu untuk memfiksasi gerakannya agar posisi kepala tetap menghadap *microwave oven* dan tidak terjadi gerakan mundur. Balok kayu masing – masing kelompok percobaan diletakkan dengan jarak yang sama terhadap *microwave oven* yaitu 0,5 cm. Mencit diberi makan berupa pellet ayam dan minum dua kali per hari.

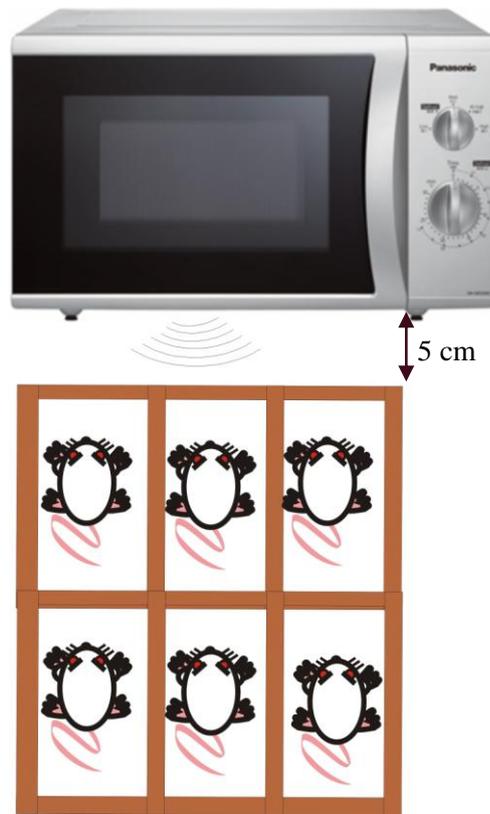
Perlakuan yang diberikan meliputi :

Kontrol (P1) : Kelompok kontrol tidak diberikan radiasi *microwave oven*.

Perlakuan 2 (P2) : Kelompok mencit kedua diberikan radiasi *microwave oven* selama 15 menit perhari selama 18 hari kebuntingan.

Perlakuan 3 (P3) : Kelompok mencit ketiga diberikan radiasi *microwave oven* selama 30 menit perhari selama 18 hari kebuntingan.

Perlakuan 4 (P4) : Kelompok mencit keempat diberikan radiasi *microwave oven* selama 45 menit perhari selama 18 hari kebuntingan.



Mencit (*Mus musculus L.*)

Gambar 9. Sketsa Penelitian

Pada usia kebuntingan mencit hari ke-18, dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diambil kemudian dibius dengan chloroform dengan terlebih dahulu mempersiapkan alat-alat bedah yang diperlukan. Mencit yang telah dibius kemudian dilakukan laparotomi untuk mengeluarkan fetus dengan cara membedah bagian abdomen ke arah atas sampai terlihat uterus yang berisi fetus. Fetus dikeluarkan dengan memotong uterus dan plasenta selanjutnya diamati apakah ada resorpsi pada uterus yang ditandai dengan adanya gumpalan merah sebagai tempat tertanamnya fetus.

Posisi kaki mencit difiksasi dengan jarum untuk mempermudah proses pembedahan. Selanjutnya dilakukan pengamatan lebih lanjut terhadap embrio sesuai dengan parameter yang diamati, yaitu panjang ekstremitas belakang fetus mencit menggunakan jangka sorong sebagai alat ukurnya.

F. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

1. Identifikasi Variabel

a. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah radiasi *microwave oven*.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah malformasi ekstremitas belakang fetus mencit (*Mus musculus* L.).

2. Definisi Operasional Variabel

a. Radiasi *Microwave Oven*

Paparan radiasi berasal dari *microwave oven*. Pada penelitian ini lama paparan radiasi yang diberikan pada kelompok perlakuan pertama adalah 0 menit per hari, kelompok kedua dipaparkan radiasi *microwave oven* 15 menit perhari selama 18 hari kebuntingan. Lama paparan radiasi yang diberikan pada kelompok ketiga adalah 30 menit perhari selama 18 hari kebuntingan. Serta lama paparan radiasi yang diberikan pada kelompok keempat adalah 45 menit perhari selama 18 hari kebuntingan.

b. Malformasi Ekstremitas Belakang Fetus Mencit (*Mus musculus L.*)

Malformasi ekstremitas belakang fetus mencit (*Mus musculus L.*) adalah panjang ekstrsemitas belakang fetus mencit (*Mus musculus L.*) dari calcaneum – phalanges tarsus.

G. Parameter yang Diamati

Dalam penelitian ini parameter yang diamati adalah ukuran panjang ekstremitas belakang fetus mencit (*Mus musculus* L.). Panjang ekstremitas belakang fetus mencit diukur menggunakan jangka sorong dari calcaneum – phalanges tarsus, dihitung dalam satuan milimeter dengan skala pengukuran variabel numerik (Gambar 7).

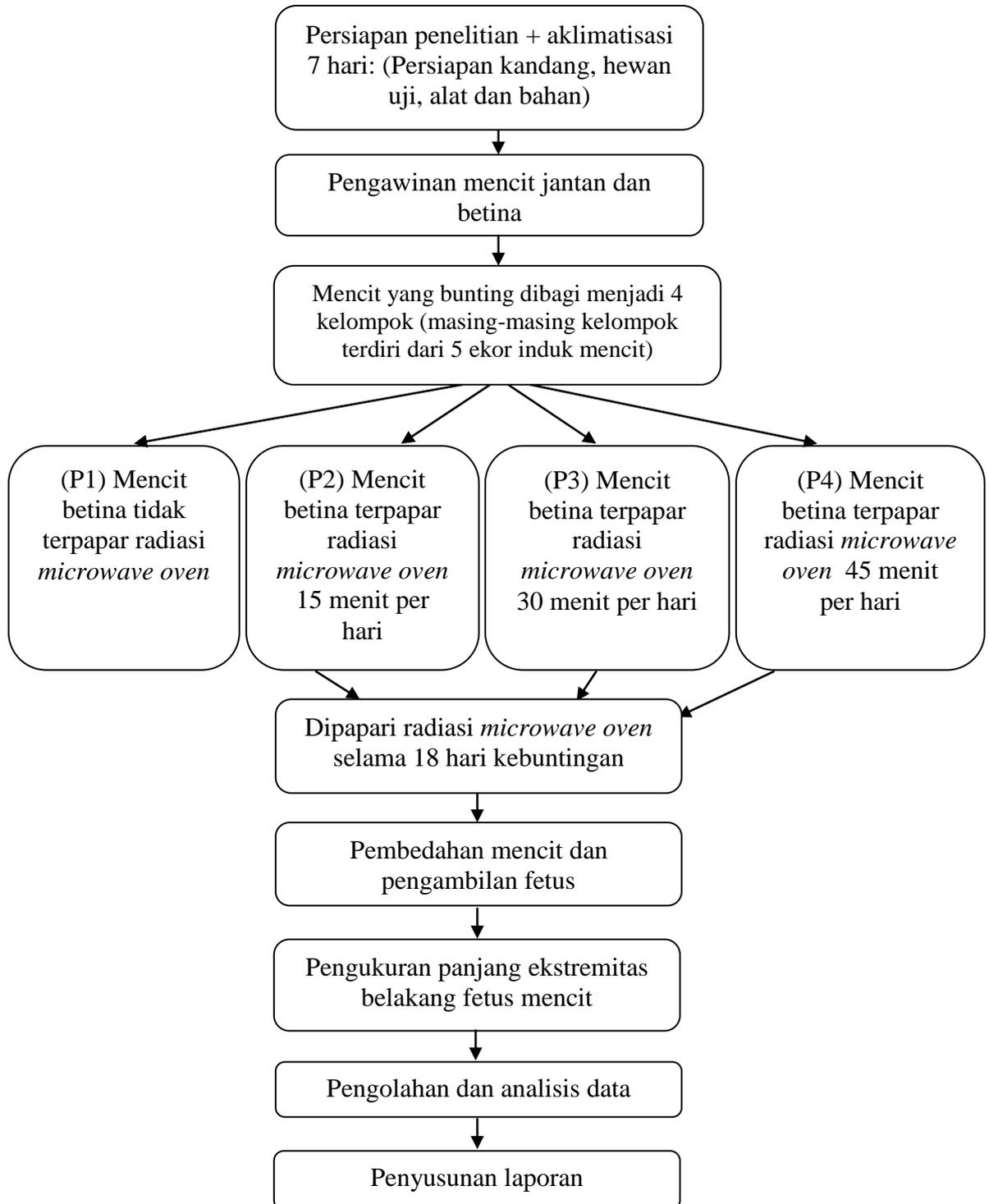
H. Pengumpulan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini merupakan data primer, yaitu data yang diperoleh peneliti langsung dari hasil penelitian mengenai pengaruh radiasi elektromagnetik *microwave oven* terhadap malformasi ekstremitas belakang fetus mencit (*Mus musculus* L.)

Data yang diperoleh akan diolah secara statistik dengan menggunakan program SPSS 17.0 *for Windows*. Uji normalitas data dilakukan dengan uji Shapiro-Wilk, Jika memenuhi syarat, maka dilakukan analisis data dengan menggunakan ANOVA (*analysis of variance*). Jika tidak memenuhi syarat, maka dilakukan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

I. Diagram Alir Penelitian

Diagram alir penelitian ditunjukkan pada Gambar 10:



Gambar 10. Diagram Alir Penelitian