

### **BAB III**

#### **METODOLOGI PENELITIAN**

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

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan *unrandomized control trial*.

##### **B. Subjek Penelitian**

Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa mencit (*Mus musculus*) galur Balb-C sebanyak 20 ekor, berumur 3 bulan, dan berat badan  $\pm 30$  gram.

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

Variabel pada penelitian ini terdiri atas :

- a. Variabel bebas : pajanan gelombang telepon seluler *Global System for Mobile Telecommunications* (GSM) dan *Code Division Multiple Acces* (CDMA).
- b. Variabel tergantung : diameter tubulus seminiferi dan prosentase sel-sel spermatogenik.
- c. Variabel terkendali :
  1. Subjek penelitian adalah mencit (*Mus musculus*) jantan usia produktif berumur 3 bulan dengan berat badan  $\pm 30$  gram.
  2. Kondisi kandang dan pakan sama.
  3. Galur mencit sama, yaitu galur Balb-C.

#### **D. Instrumen Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini secara fungsional dapat dibagi menjadi 3 jenis, yaitu:

1. Alat pajanan gelombang telepon seluler yang terdiri dari telepon seluler jenis GSM (*monophonic dan polyphonic*) dan CDMA.
2. Alat dan bahan pembedahan hewan uji yaitu berupa seperangkat alat bedah untuk membuat preparat.
3. Alat dan bahan pengamatan histologi, terdiri dari mikrometer, mikroskop, dan preparat.

#### **E. Lokasi Penelitian**

- a. Kandang Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- b. BPPV (Balai Penelitian dan Pengembangan Veteriner), Jalan Wates Km. 29 Yogyakarta.
- c. Laboratorium Histologi dan Biologi Sel Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

#### **F. Langkah-Langkah Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Merangkai alat pajanan gelombang telepon seluler.
2. Pembedahan hewan percobaan
  - a. Persiapan hewan uji

Hewan uji terdiri dari 20 ekor mencit (*Mus musculus*) dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu:

Kelompok 1 : kontrol tanpa perlakuan.

Kelompok 2 : terpajan gelombang telepon seluler jenis GSM *monophonic* selama 30 hari.

Kelompok 3 : terpajan gelombang telepon seluler jenis GSM *polyphonic* selama 30 hari.

Kelompok 4 : terpajan gelombang telepon seluler jenis CDMA selama 30 hari.

Lama pemajanan adalah  $\pm$  120 menit perhari dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.

b. Pembedahan hewan uji

Pada hari ke-31, hewan uji sesuai kelompoknya dikorbankan untuk diambil testisnya yang kemudian dibuat preparat histologi. Sebelum hewan uji dikorbankan dengan menggunakan eter, dilakukan penimbangan berat badan mencit dan penimbangan berat testis (sebagai data pelengkap). Fiksasi testis menggunakan larutan formalin 10%.

c. Pembuatan preparat

Dilakukan oleh BPPV (Balai Penelitian dan Pengembangan Veteriner). Teknik pembuatan preparat adalah sebagai berikut:

- i. *Trimming*, yaitu tahapan yang dilakukan setelah fiksasi dengan melakukan pemotongan tipis jaringan setebal  $\pm$  4 mm dengan orientasi sesuai dengan organ yang akan dipotong. *Trimming* dilakukan dengan

- menggunakan silet. Potongan jaringan tersebut dimuat dalam 'embedding cassette'.
- ii. *Dehidrasi*, dilakukan setelah *trimming* menggunakan 'tissue processor', dimaksudkan untuk mengeluarkan air yang terkandung dalam jaringan, menggunakan cairan dehidran seperti ethanol atau iso propyl alcohol. Cairan dehidran ini kemudian dibersihkan dari dalam jaringan dengan menggunakan reagen pembersih (*clearing agent*) seperti xylene atau toluene. Reagen pembersih ini akan diganti dengan paraffin dengan cara penetrasi ke dalam jaringan. Proses ini disebut *impregnasi*. Paraffin yang digunakan adalah yang mempunyai titik didih cair 56-58<sup>0</sup>C. Cairan dalam *tissue processor* diganti tiap 1-2 minggu sekali tergantung banyak sedikitnya jaringan yang telah didehidrasi.
  - iii. *Embedding*. Setelah melalui proses dehidrasi, maka jaringan yang berada dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam 'base mold', kemudian diisi dengan paraffin cair, kemudian dilekatkan pada balok kayu ukuran 3x3 cm. Jaringan yang sudah dilekatkan pada balok kayu disebut blok. Fungsi dari balok kayu adalah sebagai pemegang pada saat blok dipotong pada mikrotom.
  - iv. *Cutting*, yaitu pemotongan jaringan yang sudah didehidrasi dengan menggunakan mikrotom.
  - v. *Staining* atau pewarnaan dengan menggunakan teknik pewarnaan *Hematoxyline-Eosin (HE)*.

vi. *Mounting*, dilakukan setelah proses pewarnaan dengan cara meneteskan bahan mounting (DPX, Entelan, Canada balsam) sesuai kebutuhan dan ditutup dengan '*cover glass*', cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara (BPPV, 2008).

d. Pengamatan histologi

Dilakukan untuk memperoleh data berdasarkan parameter yang akan diteliti, yaitu berat testis, diameter tubulus seminiferi, dan prosentase sel-sel spermatogenik. Pengamatan secara mikroskopik diameter tubulus seminiferi menggunakan perbesaran 100x sedangkan pengamatan mikroskopik sel-sel spermatogenik menggunakan perbesaran 400x. Diameter tubulus seminiferi diukur dengan alat mikrometer dengan perbesaran 100x, hasilnya dikalikan dengan konstanta 28 untuk mendapatkan satuan mikron.

e. Analisis data

Pada penelitian ini tingkat pengukuran untuk diameter tubulus seminiferi dan jumlah sel-sel spermatogenik adalah rasional dengan 4 kelompok, sehingga analisis statistik yang digunakan adalah Anova 1 jalan, sedangkan untuk menentukan letak perbedaan pada masing-masing kelompok digunakan uji Tukey (Pratiknya, 2007).

Pada uji Anova 1 jalan, kesimpulan dapat diambil melalui dua cara. Pertama dengan membandingkan F hitung dengan F tabel. Jika nilai F hitung lebih besar dari F tabel maka  $H_a$  diterima. Hal ini berarti ada

perbedaan antar variabel. Kedua, dengan melihat tingkat signifikansinya

(p). Jika  $p < 0,05$  maka  $H_a$  diterima.