

### BAB III

#### BAHAN DAN METODE

#### 1. B a h a n

##### 1.1 Hewan Percobaan

###### 1.1.1 Macam Hewan Percobaan

Mencit (*Mus musculus L*) dewasa jantan dan betina strain "Quacker Bush" (CSL), berasal dari laboratorium pemeliharaan Bio - Farma Bandung.

###### 1.1.2 Makanan

Berupa pelet untuk makanan anak babi 551, yang diproduksi oleh PT Charoen Pokphand Indonesia, Animal Feedmill Co. Ltd.

###### 1.1.3 Air Minum

Air biasa, berasal dari PDAM Cimahi.

###### 1.1.4 Pemberian Makanan dan Minuman Dilakukan secara Ad Libitum.

##### 1.2 Kandang

Kandang terbuat dari plastik berbentuk bak, berukuran 35 x 30 cm yang terbagi atas lima ruangan. Masing-masing ruangan berukuran 7 x 30 cm dan setiap ruangan dipergunakan untuk sepasang mencit. Kandang ditutup dengan kawat kasa yang dirancang sedemikian rupa sehingga dapat digunakan untuk

menyimpan pelet dan botol air minum mencit.

### 1.3 Bahan Kimia

#### 1.3.1 Bahan untuk Pemeriksaan Histologi

##### 1.3.1.1 Dengan Mikroskop Cahaya

- Cairan Bouin, untuk Merendam Testis.
- Cairan Formalin 10%, untuk Merendam Ovarium.
- Bahan-bahan yang Digunakan untuk Pembuatan Preparat Histologi termasuk Pewarnaan PAS untuk Testis dan HE untuk Ovarium.

##### 1.3.1.2 Dengan Mikroskop Elektron

- Cairan Glutaraldehid
- Cairan Buffer Fosfat
- Bahan-bahan yang Digunakan untuk Pembuatan Preparat Ultrastruktur.

#### 1.3.2 Bahan untuk Pemeriksaan Khromosom

- Colchicin
- Cairan Buffer Fosfat pH 7,0
- Cairan KCl 0,075 Mol/liter
- Cairan Fiksasi yang terdiri dari Asam Asetat dan Methanol dengan perbandingan 1:4
- Zat Warna Giemsa

## 2. Metode

### 2.1 Rancangan Penelitian

Eksperimental sungguhan dengan rancangan faktorial.

### 2.2 Identifikasi Variabel-Variabel

#### 2.2.1 Variabel Sebab

##### 2.2.1.1 Variabel Bebas

Iradiasi sinar-X dengan dosis ~~se-~~rapan sebesar 1 x 200 rad, 2 x 200 rad, dan 3 x 200 rad.

##### 2.2.1.2 Variabel Moderator

Umur mencit jantan dan betina tiga bulan.

##### 2.2.1.3 Variabel Kendali

Berat-badan mencit 25 gram, tegangan listrik sebesar 120 kilovolt, arus listrik 10 mA, Filter 2,0 mm Al, HVT 3,0 mm Al, SSD (jarak) 30 cm, Luas lapang-pandang (Cone) 10 x 15 cm, Waktu satu kali penyinaran selama satu menit 50 detik, dan makanan mencit adalah pelet anak babi.

##### 2.2.1.4 Variabel Random

Pesawat sinar-X merek Stabilipan buatan "Siemens".

### 2.2.2. Variabel Penghubung (Intervening)

Proses ionisasi yang terjadi di dalam sel tubuh mencit Parental, baik pada mencit jantan maupun pada mencit betina.

### 2.2.3. Variabel Akibat (Tergantung)

Efek biologi yang timbul, berupa efek somatik dan genetik, akibat pengaruh iradiasi sinar-X dengan dosis sebesar 1 x 200 rad, 2 x 200 rad, dan 3 x 200 rad.

## 2.3. Definisi Operasional Variabel-variabel Penelitian

- Efek sinar-X dosis tunggal pada mencit dewasa adalah efek biologi yang timbul, berupa efek somatik dan genetik, sebagai akibat pengaruh iradiasi sinar-X dengan dosis sebesar 1x200 rad, 2x200 rad, dan 3x200 rad pada seluruh tubuh mencit dewasa.
- Efek Somatik adalah efek biologi yang timbul pada mencit Parental setelah mendapat iradiasi sinar-X dengan dosis sebesar 1 x 200 rad, 2 x 200 rad, dan 3 x 200 rad dengan ditandai adanya pengurangan jumlah anak mencit (F1) yang dilahirkan hidup.
- Efek Genetik adalah efek biologi yang timbul pada keturunan dari mencit Parental yang mendapat iradiasi sinar-X dengan dosis sebesar 1 x 200 rad, 2 x 200 rad, dan 3 x 200 rad yang ditandai adanya penyimpangan dari keadaan normal.

## 2.4. Sampel yang Digunakan dalam Penelitian serta Teknik Pengambilannya

### 2.4.1. Sampel yang Digunakan

Sebanyak 300 ekor mencit yang dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari :

- a. 100 ekor digunakan untuk melihat efek sinar-X 1 hari Pascairadiasi.
- b. 100 ekor digunakan untuk melihat efek sinar-X 10 hari Pascairadiasi.
- c. 100 ekor digunakan untuk melihat efek sinar-X 20 hari Pascairadiasi.

Ke 3 kelompok sampel tersebut akan diukur pengaruh sinar-X nya terhadap timbulnya efek somatik dan genetik.

Parameter yang diamati pada kelompok a, adalah :

- Jumlah anak mencit (F1 dan F2) yang dilahirkan.
- Jumlah anak mencit jantan (F1 dan F2) yang dilahirkan.
- Masa kehamilan mencit Parental betina.
- Masa kumpul mencit Parental jantan dan betina sampai melahirkan anak.
- Kenaikan berat-badan anak mencit (F1 dan F2).

Parameter yang diamati pada kelompok b, adalah:

- Jumlah anak mencit (F1) yang dilahirkan.

Parameter yang diamati pada kelompok c, adalah:

- Jumlah anak mencit (F1) yang dilahirkan.
- Berat-badan mencit Parental selama 10 hari berturut-turut Pascairadiasi.

Untuk melihat gambaran histologisnya akibat iradiasi sinar-X pada testis (tingkatan dalam siklus epitel tubulus seminiferous), digunakan sebanyak 50 ekor mencit jantan selain sampel tersebut di atas, yang terdiri atas 45 ekor mendapat iradiasi dan 5 ekor tidak mendapat iradiasi.

Mencit jantan sebanyak 45 ekor tersebut di bagi menjadi 3 kelompok, yaitu :

- Kelompok pertama sebanyak 15 ekor mendapat iradiasi dengan dosis sebesar 1 x 200 rad.
- Kelompok kedua sebanyak 15 ekor mendapat iradiasi dengan dosis sebesar 2 x 200 rad.
- Kelompok ketiga sebanyak 15 ekor mendapat iradiasi dengan dosis sebesar 3 x 200 rad.

Tiap-tiap kelompok mencit tersebut di atas dengan metode F.Oakberg (1956) dan pewarnaan PAS :

- Lima ekor dibuat sediaan histologi jaringan testisnya pada 1 hari Pascairadiasi.
- Lima ekor dibuat sediaan histologi jaringan testisnya pada 10 hari Pascairadiasi.

- Lima ekor dibuat sediaan histologi jaringan testisnya pada 20 hari Pascairadiasi.

Untuk melihat gambaran histologisnya akibat iradiasi sinar-X pada ovarium (Perkembangan foliikel), digunakan sebanyak 50 ekor mencit betina selain sampel tersebut di atas, yang terdiri atas 45 ekor mendapat iradiasi dan 5 ekor tidak mendapat iradiasi.

Mencit betina sebanyak 45 ekor tersebut dibagi menjadi 3 kelompok seperti halnya pada mencit jantan. Tiap-tiap kelompok mencit tersebut dibuat sediaan histologi dari jaringan ovariumnya dengan metode Pemotongan ("The Sectional Methode"/"Paraffin Wax Methode") dan pewarnaan HE.

#### 2.4.2. Teknik Pengambilan

Dari masing-masing kelompok, yang tiap kelompoknya berjumlah 100 ekor :

5 ♂ + 0 rad dikawinkan dengan 5 ♀ + (1x200) rad

5 ♂ + 0 rad dikawinkan dengan 5 ♀ + (2x200) rad

5 ♂ + 0 rad dikawinkan dengan 5 ♀ + (3x200) rad

5 ♂ + (1x200) rad dikawinkan dengan 5 ♀ + 0 rad

5 ♂ + (2x200) rad dikawinkan dengan 5 ♀ + 0 rad

5 ♂ + (3x200) rad dikawinkan dengan 5 ♀ + 0 rad

5 ♂ + (1x200) rad dikawinkan dengan 5 ♀ + (1x200) rad

5 ♂ + (2x200) rad dikawinkan dengan 5 ♀ + (2x200) rad

5 ♂ + (3x200) rad dikawinkan dengan 5 ♀ + (3x200) rad

5 ♂ + 0 rad dikawinkan dengan 5 ♀ + 0 rad.

## 2.5. Metode Pengumpulan Data serta Alat yang digunakan

### 2.5.1. Metode Pengumpulan Data

Dari kelompok perkawinan 1 hari Pascairadiasi

- Menghitung jumlah anak mencit (F1 dan F2) yang dilahirkan.
- Menghitung jumlah anak mencit jantan (F1 dan F2) yang dilahirkan.
- Mengukur masa kehamilan mencit Parental betina.
- Mengukur masa kumpul mencit Parental jantan dan betina sampai melahirkan anak.
- Mengukur kenaikan berat-badan anak mencit (F1 dan F2).

Dari kelompok perkawinan 10 hari Pascairadiasi

- Menghitung jumlah anak mencit (F1) yang dilahirkan.

Dari kelompok perkawinan 20 hari Pascairadiasi

- Menghitung jumlah anak mencit (F1).
- Mengukur berat-badan mencit Parental selama 10 hari berturut-turut.

Pada sediaan histologi yang diperoleh dari testis mencit jantan di luar kelompok tersebut di atas, dilihat banyaknya tingkatan epitel tubulus seminiferous yang berdiameter bulat pada potongan melintang testis di bawah mikroskop cahaya biasa. Demikian pula pada sediaan histologi yang diperoleh dari ovarium

mencit betina dilihat banyaknya folikel matang yang mengalami kerusakan.

#### 2.5.2. Alat yang digunakan

- Penglihatan
- Alat timbang berat-badan mencit.
- Mikroskop cahaya dan elektron.

#### 2.6. Alat-alat Perlengkapan yang dipakai

- Pesawat sinar-X (DT) merk Stabilipan buatan Siemen.
- Kandang mencit terbuat dari plastik, ditutup dengan kawat dan dilengkapi dengan tempat air minum berupa botol yang diberi pipa gelas dan alas kandang diberi sekam padi.
- Rak untuk menyimpan kandang mencit yang terbuat dari kayu.
- Kotak plastik untuk menyimpan mencit pada waktu diiradiasi.
- Mikroskop cahaya.
- Mikroskop elektron.

#### 2.7. Model Analisis

Analisis Variansi berfungsi untuk menguji hipotesis juga untuk melihat sejauhmana perbedaan efek dosis iradiasi terhadap timbulnya efek-efek sebagai berikut :

- Kelompok perkawinan 1 hari Pascairadiasi :
  - Jumlah anak mencit (F1 dan F2) yang dilahirkan.

- Jumlah anak mencit jantan (F1 dan F2) yang dilahirkan.
- Masa kehamilan mencit Parental betina.
- Masa kumpul mencit Parental jantan dan betina sampai melahirkan anak.
- Kenaikan berat-badan anak mencit (F1 dan F2)
- Kelompok perkawinan 10 hari Pascairadiasi :
  - Jumlah anak mencit (F1) yang dilahirkan.
- Kelompok perkawinan 20 hari Pascairadiasi :
  - Jumlah anak mencit (F1) yang dilahirkan.