

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Gambaran Umum Penelitian**

Penelitian ini awalnya menggunakan 28 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar sebagai sampel penelitian, tetapi pada saat proses pengamatan diketahui 4 sediaan rusak dan tidak dapat diamati sehingga total sampel yang diamati adalah 24 preparat. Tikus dibagi kedalam empat kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), pewangi (P1), Karbon (P2) dan Karbon Pewangi (P3). Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Tikus pada kelompok kontrol tidak diberikan perlakuan apapun, sedangkan tiga kelompok lain yaitu kelompok pewangi ruangan gel (P1), karbon aktif granular (P2) dan karbon aktif granular ditambah pewangi ruangan gel (P3) didedahkan pada pewangi ruangan berbentuk gel dan karbon aktif berbentuk granular sesuai kelompoknya masing-masing. Pendedahan pewangi ruangan gel diberikan dengan cara menggantungkan satu buah pewangi ruangan beraroma citrus pada tepi kandang perlakuan kelompok pewangi (P1). Pendedahan karbon dilakukan dengan cara meletakkan karbon aktif granular di kandang perlakuan kelompok karbon (P2) dengan cara digantungkan. Kelompok karbon ditambah pewangi (P3), pendedahan dilakukan dengan cara menggantungkan karbon aktif granular dan pewangi ruangan berbentuk gel pada satu kandang perlakuan secara bersamaan. Durasi pendedahan dilakukan selama delapan jam setiap hari. Total waktu yang diperlukan untuk pendedahan selama 35 hari dengan rincian 7 hari untuk aklimatisasi dan 28 hari untuk perlakuan.

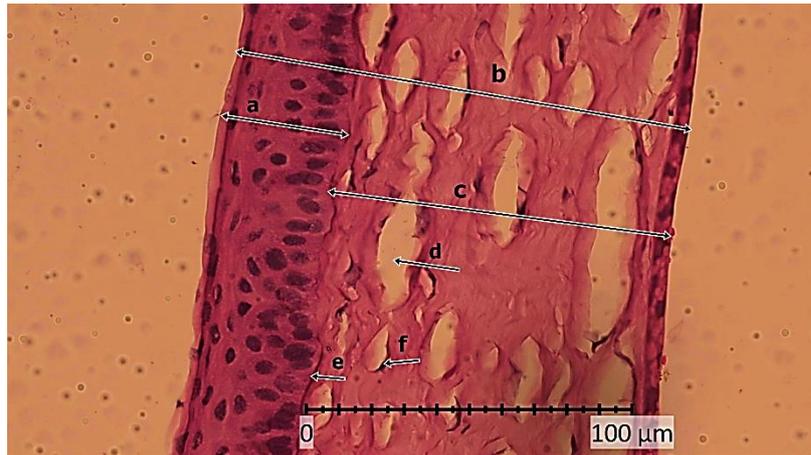
Setiap hari keempat kelompok tikus diberi pakan standar dengan porsi awal sekitar 250 gram yang ditingkatkan seiring bertambahnya usia tikus. Tikus juga diberi air mineral sebagai air minum. Penggantian sekam dilakukan setiap dua hari sekali bersamaan dengan penimbangan berat badan tikus.

Pembedahan tikus dilakukan pada hari ke 36 pendedahan. Sebelum dilakukan pembedahan tikus dimasukkan ke dalam toples tertutup berisi kloroform, setelah tikus kehilangan kesadaran kemudian dilakukan pembedahan. Pembedahan dilakukan untuk mengambil organ yang diteliti yaitu mata (kornea mata) untuk dibuat preparat histologi dengan metode blok paraffin dan pengecatan Hematoksin Eosin (HE). Preparat diamati pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 40x10 untuk mengamati ketebalan lapisan epitelium anterior, ketebalan total lapisan kornea dan jumlah sel-sel keratosit.

## **B. Hasil**

Perubahan histologi dari kornea diamati berdasarkan tiga variabel, yaitu ketebalan lapisan kornea keseluruhan, ketebalan lapisan epitelium anterior kornea dan jumlah sel-sel keratosit. Pengukuran tebal lapisan kornea keseluruhan dan tebal lapisan anterior dilakukan dengan perbesaran 40x menggunakan mikroskop cahaya dibantu dengan aplikasi *Optilab*. Kedua variabel tersebut diukur pada lima lapang pandang dari masing-masing preparat dan setiap lapang pandang dilakukan pengukuran sebanyak lima kali. Jumlah keratosit dari masing-masing preparat diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 40x pada lima lapang pandang dari setiap preparat.

Hasil pengamatan mikroskopis kornea mata *Rattus norvegicus* pada pebesaran 400x yang mewakili masing-masing kelompok perlakuan dapat di lihat pada gambar-gambar berikut:



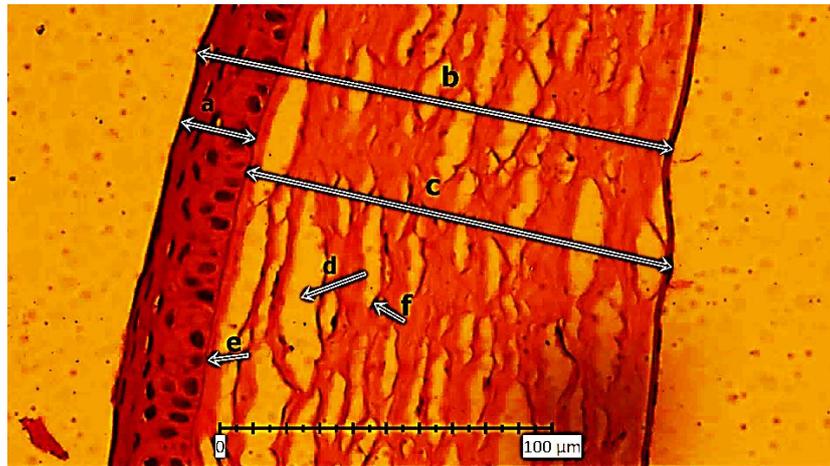
Gambar 4. Gambar histologi kornea *Rattus norvegicus* kelompok kontrol (HE,400x)

Keterangan: (a) Epitelium anterior (b) Tebal kornea keseluruhan (c) stroma (d) vakuolisasi (e) Membrana Bowman (f) Keratosit

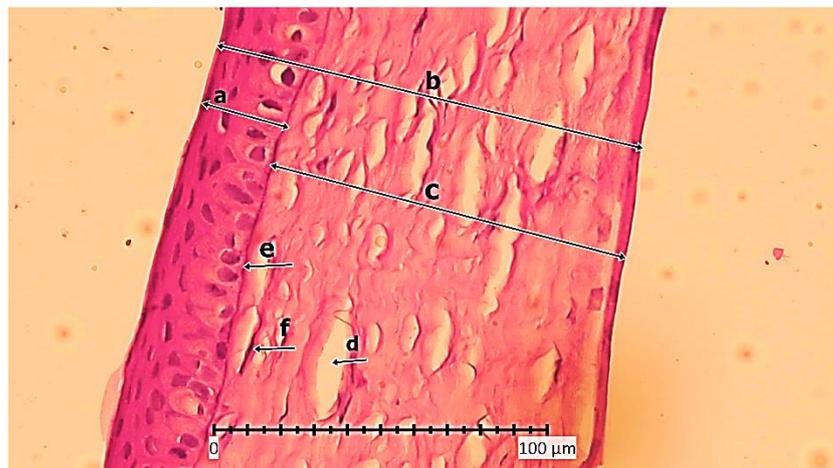


Gambar 5. Gambar histologi kornea *Rattus norvegicus* yang didedahkan pada pewangi ruangan gel selama 8 jam/hari selama 35 hari (HE<400x)

Keterangan: (a) Epitelium anterior (b) Tebal kornea keseluruhan (c) stroma (d) vakuolisasi (e) Membrana Bowman (f) Keratosit



Gambar 6. Gambar histologi kornea *Rattus norvegicus* yang didedahkan pada karbon aktif granular selama 8 jam/hari selama 35 hari (HE<400x)  
 Keterangan: (a) Epitelium anterior (b) Tebal kornea keseluruhan (c) stroma (d) vakuolisasi (e) Membrana Bowman (f) Keratosit



Gambar 7. Gambar histologi kornea *Rattus norvegicus* yang didedahkan pada karbon aktif granular dan pewangi ruangan gel selama 8 jam/hari selama 35 hari (HE<400x)  
 Keterangan: (a) Epitelium anterior (b) Tebal kornea keseluruhan (c) stroma (d) vakuolisasi (e) Membrana Bowman (f) Keratosit

Berikut data hasil penghitungan rata-rata dari setiap variabel disajikan pada tabel 3.

**Tabel 3.** Data Hasil Penelitian Pengaruh Penggunaan Karbon Aktif Terhadap Gambaran Histologi Kornea *Rattus norvegicus* yang Diinduksi oleh Pewangi Ruangan

<b>Kelompok</b>	<b>Ketebalan Lapisan Kornea Keseluruhan (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Ketebalan Epitel Anterior (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Jumlah Keratosit</b>
<b>Kontrol</b>	683,12	157,38	17,83
<b>Pewangi</b>	817,28	160,08	25,80
<b>Karbon</b>	753,05	155,72	17,47
<b>Karbon + Pewangi</b>	770,33	159,97	20,90

### 1. Ketebalan Lapisan Kornea Keseluruhan

**Tabel 4.** Ukuran Rata-Rata Ketebalan Lapisan Kornea Keseluruhan Kornea Mata *Rattus norvegicus* yang didedahkan pada karbon aktif granular dan pewangi ruangan gel selama 8 jam/hari selama 35 hari (HE<400x)

<b>Kelompok Perlakuan</b>	<b>Rata-rata (<math>\mu\text{m}</math>) (<math>\bar{x} \pm \text{SD}</math>)</b>
Kontrol (K)	683,12 $\pm$ 57,44
Pewangi (P1)	817,28 $\pm$ 153,56
Karbon (P2)	753,05 $\pm$ 79,40
Karbon Pewangi (P3)	770,33 $\pm$ 65,30

Hasil uji normalitas sebaran data variabel ketebalan lapisan kornea keseluruhan menggunakan Uji *Shapiro Wilk* dari kelompok Kontrol (K) adalah  $p=0,969$ , kelompok yang didedahkan pada pewangi (P1) adalah  $p=0,062$ , kelompok yang didedahkan pada karbon aktif (P2) adalah  $p=0,998$ , kelompok yang didedahkan pada karbon aktif dan pewangi (P3) adalah  $p=0,529$ . Kemudian dilanjutkan dengan *Test of Homogeneity of Variances* didapatkan hasil varian 0,011

( $p < 0,05$ ) maka data tidak homogen. Pengujian dilanjutkan dengan uji non-parametrik karena tidak memenuhi persyaratan distribusi normal dan data homogen. Uji non-parametrik yang digunakan yaitu *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai  $p = 0,198$  ( $p > 0,05$ ) memiliki arti bahwa data dari keempat kelompok tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

## 2. Ketebalan Epitel Anterior

**Tabel 5.** Ukuran Rata-Rata Ketebalan Epitel Anterior Kornea Mata *Rattus norvegicus* yang didedahkan pada karbon aktif granular dan pewangi ruangan gel selama 8 jam/hari selama 35 hari (HE $<400\times$ )

<b>Kelompok Perlakuan</b>	<b>Rata-rata (<math>\mu\text{m}</math>) (<math>\bar{x} \pm \text{SD}</math>)</b>
Kontrol (K)	157,38 $\pm$ 22,40
Pewangi (P1)	160,08 $\pm$ 11,59
Karbon (P2)	155,72 $\pm$ 28,95
Karbon Pewangi (P3)	159,97 $\pm$ 15,52

Data dari hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* untuk variabel ketebalan epitel anterior kornea dari kelompok kontrol (K) adalah  $p = 0,461$  , kelompok pewangi (P1) adalah  $p = 0,913$  , kelompok karbon (P2) adalah  $p = 0,526$  dan kelompok karbon pewangi (P3) adalah  $p = 0,708$ . Data dari keempat kelompok tersebut memenuhi persyaratan  $p > 0,05$  maka persebaran data dikatakan normal. Kemudian dilihat dari hasil *Test of Homogeneity of Variances* didapatkan hasil  $p = 0,156$  ( $p > 0,05$ ) memiliki arti data tersebut homogen. Pengujian data kemudian dilanjutkan menggunakan *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* didapatkan  $p = 0,979$  yang berarti tidak memenuhi kriteria  $p < 0,05$  sehingga dikatakan data-data dari keempat kelompok tersebut tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

### 3. Jumlah Keratosit

**Tabel 6.** Jumlah Keratosit Kornea Mata *Rattus norvegicus* yang didedahkan pada karbon aktif granular dan pewangi ruangan gel selama 8 jam/hari selama 35 hari (HE<400x)

Kelompok Perlakuan	Rata-rata ( $\mu\text{m}$ ) ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ )
Kontrol (K)	17,83 $\pm$ 1,50 <sup>a</sup>
Pewangi (P1)	25,80 $\pm$ 3,34 <sup>c</sup>
Karbon (P2)	17,47 $\pm$ 3,07 <sup>ab</sup>
Karbon Pewangi (P3)	20,90 $\pm$ 0,43 <sup>b</sup>

Keterangan. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan pada uji statistik Kruskal-Wallis dengan Post Hoc Mann Whitney Test dengan tingkat signifikansi 95%

Data hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* untuk variabel jumlah keratosit, yaitu kelompok kontrol (K) adalah  $p=0,956$ , kelompok pewangi (P1) adalah  $p=0,531$ , kelompok karbon (P2) adalah  $p=0,525$  dan kelompok karbon ditambah pewangi (P3) adalah  $p=0,964$ . Data dari keempat kelompok tersebut memenuhi kriteria  $p>0,05$  maka sebaran data dikatakan normal. Kemudian dilihat hasil dari *Test of Homogeneity of Variances* didapatkan hasil  $p=0,037$  ( $p<0,05$ ) memiliki arti data keempat kelompok tidak homogen. Pengujian dilanjutkan menggunakan uji non parametrik yaitu *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ) memiliki arti data terdapat perbedaan yang signifikan antara keempat kelompok.

Hasil uji *Mann Whitney* untuk kelompok K dengan kelompok P1 didapatkan perbedaan *Mean Rank* di mana kelompok K memiliki nilai 3,50, lebih rendah dari kelompok P1 yang memiliki nilai 9,50. Kedua kelompok memiliki perbedaan yang signifikan dilihat dari nilai  $p=0,004$  ( $p<0,05$ ) sehingga kelompok K dengan kelompok P1 memiliki perbedaan yang bermakna.

Hasil uji *Mann Whitney* untuk kelompok K dengan kelompok P2 didapatkan perbedaan *Mean Rank* di mana kelompok K memiliki nilai 6,92, lebih tinggi dari nilai kelompok P2 yaitu 6,08. Nilai signifikansi kedua kelompok adalah  $p=0,688$ . Memiliki arti bahwa kelompok K dengan kelompok P2 tidak memiliki perbedaan yang signifikan atau tidak bermakna.

Hasil uji *Mann Whitney* untuk kelompok K dengan kelompok P3 didapatkan perbedaan *Mean Rank* di mana kelompok K memiliki nilai 3,58, lebih rendah daripada kelompok P3 yang memiliki nilai 9,42. Kedua kelompok memiliki perbedaan yang signifikan dilihat dari nilai  $p=0,005$  ( $p<0,05$ ), sehingga terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K dengan kelompok P3.

Hasil uji *Mann Whitney* untuk kelompok P1 dengan kelompok P2 didapatkan perbedaan *Mean Rank* di mana kelompok P1 memiliki nilai 9,33, lebih tinggi daripada kelompok P2 yang memiliki nilai 3,67. Kedua kelompok memiliki perbedaan yang signifikan dilihat dari nilai  $p=0,006$  ( $p<0,05$ ), sehingga terdapat perbedaan yang signifikan atau bermakna antara dua kelompok tersebut.

Hasil uji *Mann Whitney* untuk kelompok P1 dengan kelompok P3 didapatkan perbedaan *Mean Rank* di mana kelompok P1 memiliki nilai 9,42, lebih tinggi daripada nilai kelompok P3 yaitu 3,58. Kedua kelompok diketahui memiliki perbedaan yang signifikan dilihat dari nilai  $p=0,005$  ( $p<0,05$ ), sehingga kedua kelompok yang dibandingkan memiliki perbedaan yang bermakna.

Hasil uji *Mann Whitney* untuk kelompok P2 dengan kelompok P3 didapatkan perbedaan *Mean Rank* di mana kelompok P2 memiliki nilai 4,50, lebih

rendah dari nilai kelompok P3 yaitu 8,50. Nilai signifikansi kedua kelompok yaitu  $p=0,054$  ( $p>0,05$ ) memiliki arti kedua kelompok yang dibandingkan tidak memiliki perbedaan yang signifikan atau tidak bermakna.

### **C. Pembahasan**

Berikut ini adalah pembahasan dari penelitian yang dijelaskan berdasarkan setiap variabel penelitian.

#### **1. Ketebalan Lapisan Kornea Keseluruhan**

Hasil penghitungan ketebalan rata-rata setiap kelompok menunjukkan bahwa kelompok kontrol memiliki angka rata-rata ketebalan paling kecil yaitu  $683,1216 \mu\text{m}$  diikuti oleh kelompok karbon ( $753,0483 \mu\text{m}$ ), kelompok karbon + pewangi ( $770,3300 \mu\text{m}$ ) dan kelompok pendedahan pewangi ruangan ( $817,2833 \mu\text{m}$ ).

Hasil penelitian pada variabel ketebalan lapisan kornea keseluruhan memang tidak signifikan namun antara kelompok kontrol (K) dan kelompok pewangi ruangan gel (P1) lebih tebal lapisan kornea keseluruhan pada kelompok P1. Kelompok P1 diketahui menggunakan pewangi ruangan dengan kadar formaldehida  $0,62 \text{ ppm}$ . Maurer (2001) melakukan penelitian untuk mengetahui efek paparan aseton, sikloheksanol, parafluoroanilin dan formaldehida pada tikus. Hasilnya diketahui pemaparan formaldehida memberikan efek kerusakan kornea paling parah. Pemaparan formaldehida menyebabkan terjadi pembengkakan pada kornea dan menyebabkan ketebalan kornea sebelum dan setelah perlakuan berubah secara signifikan (Maurer *et al.*, 2001). Selain formaldehida dalam pewangi

ruangan juga terdapat zat-zat kimia lain yang pada penelitian ini tidak diukur kadarnya namun dapat mempengaruhi ketebalan kornea. Zat lain yang dapat menjadi penyebab bertambahnya ketebalan kornea adalah toluena dan xilena menyebabkan terjadinya inflamasi pada kornea (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 2014). D-limonene juga dapat menyebabkan terjadinya iritasi pada kornea mata (SEPTONE, 2010).

Ketebalan kornea keseluruhan sendiri merupakan akumulasi dari ketebalan lapisan epitelium anterior, stroma dan endotelium. Stroma merupakan lapisan yang memiliki proporsi paling besar dalam kornea yaitu sekitar 90% dari ketebalan total kornea, yang terdiri dari matriks ekstraseluler kaya kolagen yang merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi ketebalan kornea, keratosit serta lapisan dalam sel endotel. Matriks ekstraseluler stroma terutama terdiri dari kolagen tipe I dengan sedikit kolagen tipe V dan empat proteoglikan. Tiga dengan rantai sulfat keratan yaitu lumican, keratocan, osteoglisin dan satu dengan tipe rantai kondroitin sulfat yaitu decorin. Inti dari protein proteoglikan dan kolagen tipe V memiliki peran dalam meregulasi pertumbuhan kolagen fibril. Sintesis kolagen yang terdapat pada lapisan stroma diketahui memiliki pengaruh terhadap proses wound healing kornea. Selain kolagen tipe I dan tipe V pada stroma juga terdapat kolagen tipe XII. Kolagen tipe XII diketahui memiliki peranan untuk menjaga keseimbangan bentuk stroma dan pembentukan fibril (Young *et al.*, 2002).

Respon stroma terhadap cedera yang terjadi merupakan bentuk respon lanjutan dari proses penyembuhan awal yang dilakukan oleh epitelium anterior. Respon tersebut mengarah kepada pembengkakan stroma, invasi sel-sel inflamasi.

Respon tersebut dapat terjadi meskipun cedera tersebut tidak sampai mengenai stroma (Eraslan & Toker, 2009).

Rata-rata ketebalan kelompok Kontrol (K) dibandingkan dengan kelompok karbon aktif granular (P2), kelompok pewangi (P1) dan kelompok pendedahan pewangi ruangan+karbon aktif granular (P3) menunjukkan ketebalan rata-rata P2 mendekati kelompok K. Karbon aktif merupakan material yang digunakan untuk memfiltrasi senyawa kimia berbahaya yang mengkontaminasi air dan udara (*United States Environmental Protection Agency*, 2012). Jenis karbon aktif yang digunakan pada penelitian ini adalah karbon aktif berbentuk granular. Karbon aktif granular diketahui dapat menyerap berbagai polutan berbahaya hingga polutan radioaktif seperti radon. Penelitian lain yang dilakukan Sari (2014) mengemukakan kegunaan lain dari karbon aktif, bahwa karbon aktif merupakan bahan penyerap ion logam berat, semakin lama karbon aktif berinteraksi dengan larutan yang terkontaminasi ion logam berat semakin berkurang kandungan logam berat di dalamnya (Budi Ratna Sari *et al.*, 2014). Pari (2004) yang melakukan penelitian mengenai efektivitas penggunaan karbon aktif untuk menyerap formaldehida pada kayu lapis juga menunjukkan penggunaan karbon aktif dapat mengurangi kadar emisi formaldehida pada bahan penelitian dan mengurangi kadar formaldehida bebas (Pari *et al.*, 2004). Berdasarkan pemaparan di atas maka dapat menjelaskan mengapa ketebalan lapisan kornea keseluruhan kelompok P2 mendekati kelompok K karena fungsi dari karbon aktif terutama karbon aktif granular yang dapat menyaring polutan kimiawi yang berbahaya. Pada penelitian ini polutan yang diketahui kadarnya adalah formaldehida sebesar 0,62 ppm. Karbon aktif granular

menyaring udara yang berada di dalam kandang perlakuan sehingga akan mengurangi paparan polutan yang mengenai mata tikus jantan yang menjadi subjek penelitian.

Tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan namun terdapat suatu kecenderungan hasil yaitu kelompok pendedahan karbon aktif granular memiliki hasil lebih bagus dari kelompok pewangi dan kelompok karbon aktif + pewangi yang juga memiliki ketebalan lebih kecil dari pewangi. Hasil tersebut dapat menunjukkan suatu kecenderungan bahwa penggunaan karbon aktif berpotensi mengurangi kerusakan kornea akibat pendedahan oleh pewangi ruangan.

## **2. Ketebalan Epitel Anterior**

Epitel anterior sebagai lapisan terluar dari kornea membuatnya menjadi lapisan yang paling rentan terhadap cedera dan paling awal terkena dampak dari cedera tersebut. Ketika terjadi cedera yang mengenai kornea mata maka epitel merupakan lapisan yang paling cepat dan efektif dalam melakukan proses penyembuhan untuk mengembalikan struktur dan fungsinya kembali normal. Meskipun, ada beberapa jenis cedera yang memerlukan proses penyembuhan yang lama. Hal tersebut apabila cedera disebabkan oleh luka bakar alkali, infeksi dan luka yang berhubungan dengan neuropati diabetes (Willcox *et al.*, 2014).

Proses penyembuhan luka pada epitel kornea dapat dibagi menjadi empat tahapan tertentu. Tahap pertama disebut sebagai fase laten karena tidak terdapat pergerakan sel maupun perubahan jumlah sel. Selama tahap ini berlangsung terjadi peningkatan aktivitas metabolik dan reorganisasi dari struktur sel untuk persiapan

menuju tahap selanjutnya. Tahap kedua adalah migrasi, ditandai dengan pergeseran sel-sel disekitar daerah perlukaan dan menutupi daerah tersebut. Tahap ketiga adalah fase proliferasi dimana sel-sel mulai membelah, memulihkan struktur epitel dan sambungan antarsel. Tahap akhir yaitu kembalinya substrat sel dalam epitelium. Seringkali fase berikutnya terjadi sebelum fase sebelumnya selesai namun, urutan fase tetaplah sama. Jadi, selama proses penyembuhan epitel terdapat empat fase yang berlangsung secara tumpang tindih untuk mengembalikan struktur dan fungsi epitelium (Willcox *et al.*, 2014).

Waktu yang diperlukan setelah terjadi cedera epitelium sampai terjadi respon dari kornea berlangsung cepat. Respon dimulai dalam satu jam pertama setelah cedera terjadi. Setelah terjadi cedera pada epitel, sitokin dilepaskan dari epitel yang mengalami cedera dan membrana basalis epitel termasuk *Interleukin-1* (IL-1) dan *Tumor Necrosis Factor alpha-1* (TNF  $\alpha$ -1), *Bone Morphogenic Proteins* (BMP) 2 dan 4, *Epidermal Growth Factor* (EGF) dan *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF). Waktu yang dibutuhkan setelah pelepasan sitokin sampai terjadi penyembuhan tahap awal dari epitel berlangsung selama 12-48 jam. Faktor pertumbuhan yaitu EGF dan PDGF serta sitokin lainnya membantu terjadinya proses penyembuhan ini. Sel-sel pada epitel akan mengalami replikasi dan menutupi luka yang terjadi pada epitel (Eraslan & Toker, 2009).

Hasil analisis data terhadap variabel ketebalan epitel anterior yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok yang mendapat perlakuan pendedahan. Sesuai dengan penjelasan

pada paragraf sebelumnya hal ini dapat terjadi kemungkinan karena epitel merupakan lapisan kornea yang dapat memperbaiki diri secara cepat.

Hasil penelitian penelitian ini juga selaras dengan penelitian oleh Nastiti (2015) yang melakukan penelitian mengenai pengaruh pendedahan pewangi ruangan spray dan pewangi ruangan gel. Hasil penelitian tersebut mengemukakan bahwa tidak adanya perbedaan signifikan variabel ketebalan epitel anterior kornea disebabkan karena proses *wound healing* yang sudah berjalan yang menyebabkan ketebalan epitel anterior kembali ke ukuran normal (Nastiti, 2015).

Proses penyembuhan cedera atau *wound healing* epitelium kornea yang telah dijelaskan tersebut kemungkinan menjadi sebab tidak terdapatnya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Proses pendedahan pada penelitian ini yang dilakukan selama 35 hari, sehingga proses *wound healing* epitelium kornea sudah berjalan yang menyebabkan ketebalan epitelium kornea tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Hasil pengamatan kelompok pendedahan karbon aktif memiliki hasil yang lebih bagus dari kelompok kontrol. Kelompok pendedahan pewangi ruangan gel memiliki ketebalan yang paling tebal di antara kelompok lain.

Pewangi ruangan gel yang digunakan dalam penelitian ini diketahui memiliki kadar formaldehida 0,62 ppm. Berdasarkan beberapa sumber penelitian lain menyebutkan bahwa pemaparan secara langsung formaldehida sebanyak 2 ppm dapat menyebabkan iritasi pada mata manusia dan pemaparan 20 ppm secara langsung akan menyebabkan penkerutan kornea mata secara permanen. *Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) atau Badan Administrasi

Kesehatan dan Keselamatan Kerja Amerika Serikat mengajurkan supaya pemaparan terhadap formaldehida tidak melebihi 0,75 ppm selama 8 jam (Office of Environment, Health & Safety University of California, 2012). Kemungkinan hal ini juga mempengaruhi hasil penelitian ini karena kadar formaldehida yang digunakan lebih rendah dari batas maksimal. Selain itu waktu pemaparan dan cara pendedahan juga dapat mempengaruhi hasil.

Karbon aktif yang digunakan dalam penelitian merupakan karbon aktif berbentuk granular. Karbon aktif berbentuk granular tersebut memiliki rentang luas yaitu dapat menetralsir berbagai jenis kontaminan udara maupun air. Penelitian yang hampir serupa pernah dilakukan oleh Akpa (2014) yang meneliti adsorpsi benzene pada karbon aktif menunjukkan bahwa terjadi penurunan adsorpsi benzene apabila ukuran partikel karbon aktif ditingkatkan. Peningkatan adsorpsi akan terjadi apabila dilakukan penambahan dosis adsorben (Akpa & Nmegbu, 2014). Proses adsorpsi yang dilakukan karbon aktif granular dalam menyaring kontaminan tersebut hanya berlangsung dalam beberapa menit, penelitian ini sendiri sudah dilakukan dalam waktu 35 hari maka rata-rata ketebalan epitel anterior kelompok karbon aktif lebih bagus dari kelompok kontrol dapat terjadi dikarenakan adanya karbon aktif granular yang berfungsi sebagai penyaring udara dari kontaminan.

### **3. Jumlah Keratosit**

Hasil penelitian untuk variabel jumlah keratosit yang diuji menggunakan uji *Kruskal Wallis* didapatkan hasil  $p=0,01$  ( $p<0,05$ ) memiliki arti bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok yang mengalami

pendedahan. Kemudian untuk mengetahui nilai kebermaknaan perbedaan antar kelompok dilanjutkan dengan uji *Mann Whiney*.

Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok Kontrol (K) dan pendedahan pewangi ruangan gel (P1). Hasil penelitian ini juga selaras dengan penelitian oleh Nastiti (2012) yang mengemukakan bahwa terdapat pengaruh buruk pendedahan pewangi ruangan berbentuk gel dan spray terhadap gambaran histologi kornea bayi *Rattus norvegicus* jantan. Selain itu penelitain tersebut juga mengungkapkan bahwa jumlah sel keratosit ditemukan lebih banyak pada tikus dengan pendedahan pewangi gel daripada pendedahan pewangi spray (Nastiti, 2015). Penelitian tersebut menggunakan bayi tikus jantan sedangkan pada penelitian ini menggunakan tikus putih jantan yang telah dewasa dengan pewangi ruangan berbentuk gel. Namun, terdapat suatu persamaan selain hasil yang signifikan yaitu kelompok pendedahan pewangi ruangan gel memiliki jumlah sel keratosit lebih banyak dibanding kelompok lain (Nastiti, 2015). Hal ini berhubungan dengan ukuran partikel pewangi ruangan berbentuk gel yang dalam pemakaiannya berukuran sangat kecil yaitu 0,1  $\mu\text{m}$ . Ukuran yang sangat kecil tersebut memudahkan partikel-partikel tersebut untuk menembus lapisan epitelium kornea hingga menimbulkan reaksi dari keratosit yang dorman, membuat keratosit tersebut menjadi aktif, berproliferasi dan mengambil dalam proses perbaikan jaringan yang rusak akibat masuknya artikel kimia dari pewangi ruangan gel (Ruzer & Harley, 2013) (Wilson *et al.*, 2007).

Selain ukuran partikel yang menjadi penyebab terjadinya kerusakan pada kornea adalah senyawa-senyawa yang memang terkandung pada pewangi ruangan.

Pewangi ruangan diketahui mengandung senyawa benzil alkohol, *phthalate*, aseton, benzil benzoat, butana, terpene, limolen, benzil salisilat, toluena serta formaldehida. Senyawa-senyawa tersebut atau turunannya yang terbentuk selama terjadi reaksi antara pewangi dengan lingkungan dapat menyebabkan dampak kesehatan yang merugikan bagi manusia (Adane *et al.*, 2014). Pewangi ruangan gel yang digunakan pada penelitian diketahui mengandung formaldehida dengan kadar 0,62 ppm. Keberadaan formaldehida tersebut memiliki peran terhadap kerusakan kornea yang terjadi dan peningkatan jumlah keratosit. Paparan dengan bahan yang mengandung formaldehida dengan kadar 0,05-2,0 ppm dapat menimbulkan terjadinya iritasi pada mata (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2015).

Sel stroma kornea atau keratosit berada di antara lamela kolagen dan bertanggung jawab untuk mensekresi komponen matriks ekstraseluler (ECM) suatu komponen yang diperlukan untuk mempertahankan struktur dan fungsi normal dari kornea (Petroll & Lakshman, 2015). Keratosit memiliki morfologi dendritik. Sel-sel keratosit menghasilkan lumikan dan keratan, dua jenis proteoglikan sulfat keratan yang berfungsi untuk menjaga transparansi dan bentuk stroma. Keratosit sendiri cenderung diam tak bergerak namun akan merespon dengan cepat apabila terjadi luka. Bentuk keratosit yang biasanya sebagai dendritik akan berubah menjadi fibroblastik selama proses penyembuhan luka (West-Mays & Dwivedi, 2006) (Musselmann *et al.*, 2005). Peranan keratosit dimulai ketika lapisan epitelium kornea terkena cedera atau iritasi. Setelah terjadi cedera pada lapisan epitelium kemudian sitokin akan dirilis dari epitelium yang mengalami cedera dan membana basalis epitel, salah satu sitokin yang memiliki peranan adalah IL-1. Apabila barrier

epitel kemudia rusak maka IL-1 dapat mencapai stroma dan berikatan dengan reseptornya di keratosit. Ikatan antara IL-1 dan reseptornya tersebut memodulasi apoptosis keratosit. Setelah terjadi apoptosis dari keratosit maka dalam 12 sampai 24 jam kemudian akan dimulai proses proliferasi dan migrasi keratosit. Proses penyembuhan dan pengembalian keadaan menjadi normal tersebut memerlukan waktu beberapa bulan hingga bertahun-tahun untuk menghilangkan cedera dan mengembalikan keratosit ke dalam bentuk yang tidak aktif (Eraslan & Toker, 2009). Oleh karena itu, pada penelitian ini ditemukan jumlah keratosit kelompok pewangi yang paling banyak dapat menjadi indikasi bahwa proses penyembuhan akibat iritasi masih berlangsung.

Perbedaan signifikan juga didapat pada uji *Mann Whitney* antara kelompok pendedahan pewangi ruangan gel (P1) dengan kelompok pendedahan karbon aktif granular (P2). Selain dibandingkan dengan kelompok P1, kelompok P2 juga dibandingkan dengan kelompok kontrol (K) dan didapatkan hasil yang tidak signifikan. Perbandingan rata-rata jumlah keratosit pun didapatkan hasil keratosit pada kelompok P2 memiliki jumlah paling sedikit. Efek penggunaan karbon aktif granular terhadap jumlah keratosit tidak bekerja secara langsung mempengaruhi organ target namun, karbon aktif granular bekerja dengan cara mempengaruhi udara di sekitarnya.

Segala jenis karbon aktif diketahui merupakan adsorben yang diketahui dapat menghilangkan polutan dari tanah, udara dan air secara efisien. Adsorpsi merupakan bentuk prosesnya yaitu sebagai metode fisik yang efektif pemisahan untuk eliminasi atau menurunkan konsentrasi berbagai polutan terlarut (organik,

anorganik). Terdapat bahan lain yang berfungsi sebagai adsorben selain karbon aktif yaitu silicagel dan alumina aktif (menyerap kelembaban), zeolit dan saringan molekuler dan resin sintetis namun, karbon aktif lebih efisien untuk mengurangi bahkan menghilangkan polutan. Karbon aktif merupakan agen adsorben yang dapat menghilangkan zat-zat toksik serta substansi bio refraksi seperti insektisida, herbisida hidrokarbon diklorinasi, ion logam berat serta fenol (Ansari & Khah-Mohammad, 2009). Penelitian lain yang mengindikasikan efektivitas dari karbon aktif yang dilakukan oleh Wasewar (2007) yang bertujuan untuk mengetahui efek penggunaan karbon aktif granular terhadap adsorpsi benzaldehida. Hasilnya menjelaskan bahwa karbon aktif berbentuk granular efektif menghilangkan benzaldehida dari larutan. Selain itu penelitian itu juga menjelaskan efektivitas karbon aktif granular dalam mengadsorpsi polutan bergantung kepada seberapa banyak polutan yang harus diadsorpsi dan ketersediaan karbon aktif granular sebagai agen yang melakukan adsorpsi (Wasewar *et al.*, 2007).

Bentuk karbon aktif sendiri bukan hanya berbentuk granular namun, ada yang berbentuk serbuk, ekstrusi dan butiran pellet. Dibandingkan dengan jenis karbon aktif lainnya karbon aktif granular dipilih karena memiliki ukuran partikel yang lebih besar dengan permukaan eksternal yang kecil sehingga dapat meningkatkan proses difusi dan adsorpsi udara serta dapat menyaring berbagai jenis polutan dengan lebih baik terutama polutan di udara (Andre, 2014).

Kelompok pendedahan pewangi ruangan gel ditambah karbon aktif granular (P3) ketika dibandingkan dengan kelompok K, P1 maupun P2 tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Karbon aktif granular merupakan jenis karbon aktif

yang memiliki ukuran partikel 0,2-5 mm termasuk karbon aktif yang dapat menyerap berbagai jenis polutan. Pewangi ruangan gel sendiri diketahui memiliki ukuran partikel keseluruhan yang paling kecilnya sampai dengan 0,1  $\mu\text{m}$ . Pada penelitian ini tidak diketahui ukuran partikel dari karbon aktif yang digunakan sehingga dapat terjadi suatu kemungkinan bahwa karbon aktif menyerap polutan dari pewangi ruangan namun ada sebagian dari polutan tersebut yang tidak teradsorpsi. Seperti yang telah disebutkan pada paragraf-paragraf sebelumnya adsorpsi pada karbon aktif bergantung kepada seberapa banyak polutan yang harus diadsorpsi dan seberapa banyak karbon aktif granular yang digunakan. Apabila terjadi ketidakseimbangan dalam hal ini polutan yang harus diserap lebih banyak maka proses adsorpsi akan berlangsung lebih lama dan ada kemungkinan polutan yang tidak teradsorpsi.

Berdasarkan penjelasan-penjelasan tersebut maka karbon aktif granular dapat mengurangi efek dari paparan polutan pewangi ruangan gel dengan kandungan formaldehida 0,62 ppm berdasarkan jumlah sel-sel keratosit dari hasil penelitian ini.