

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Desain Penelitian

Peneliti menggunakan desain penelitian eksperimental dengan rancangan percobaan *post-test only control group design*. Pengambilan sampel dilakukan secara randomisasi.

#### B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Penelitian dilakukan mulai dari bulan Juni 2011 hingga bulan November 2011.
2. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan dilaksanakan di Laboratorium Biomedis FKIK UMY.
3. Pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Umum UGM.
4. Pengamatan dan penilaian preparat, serta pengumpulan data dilaksanakan di Laboratorium Histologi FKIK UMY.

#### C. Subyek Penelitian

Penelitian menggunakan 18 hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan galur *Sprague Dowley* (SD) yang telah berumur 3 bulan dan mempunyai berat badan 150-300 gram. Hewan uji terbagi ke dalam 3 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

1. Kelompok Kontrol (K) : kelompok hewan uji yang tidak dipaparkan pengharum ruangan.
2. Kelompok Cair (PA) : kelompok hewan uji yang dipaparkan pengharum ruangan berbentuk cair.
3. Kelompok Gel (PB) : kelompok hewan uji yang dipaparkan pengharum ruangan berbentuk gel.

#### **D. Variabel Penelitian**

1. Variabel Bebas : paparan pengharum ruangan cair dan gel
2. Variabel Tergantung : gambaran histologi mukosa respiratorius *Rattus norvegicus*
3. Variabel Terkendali : Usia, jenis kelamin, berat badan, pola diit, tempat penelitian, lama perlakuan, jenis pengharum ruangan, durasi paparan

#### **E. Definisi Operasional**

1. Pengharum ruangan berbentuk cair

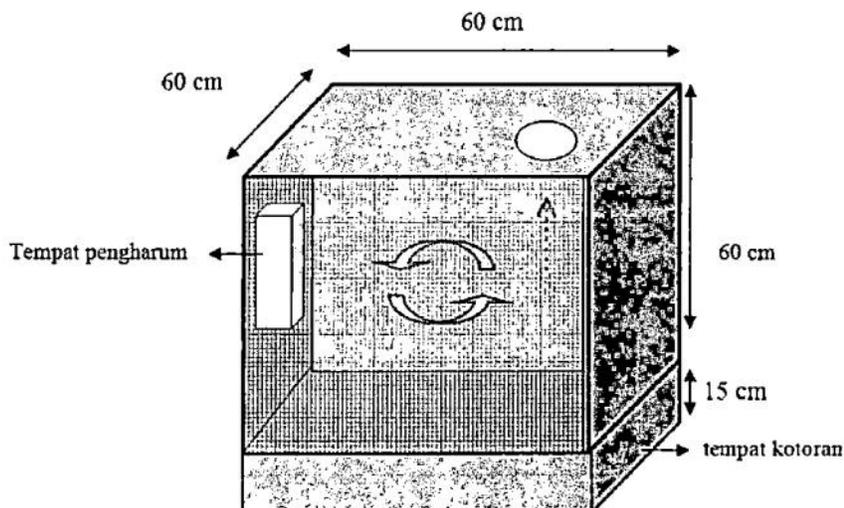
Pengharum ruangan yang digunakan adalah pengharum dalam bentuk cair yang penggunaannya dengan cara disemprot. Untuk memudahkan perlakuan, pengharum diletakkan pada alat bantu semprot otomatis. Merk pengharum ruangan yang digunakan adalah Stella dengan aroma lemon.

## 2. Pengharum ruangan berbentuk gel

Pengharum ruangan yang digunakan adalah pengharum ruangan padat yang berbentuk gel. Merk yang digunakan adalah Stella dengan aroma lemon.

## 3. Kandang perlakuan

Kandang penelitian khusus dirancang seperti pada Gambar 4. Bagian bawah kandang yang digunakan sebagai pondasi sekaligus tempat kotoran hewan uji terbuat dari bahan kayu. Dinding kandang tersusun dari 2 lapis bahan, bahan bagian dalam berupa kawat strimin dan bahan bagian luar berupa plastik tebal agar aktivitas hewan uji bisa diamati dengan mudah. Tempat pengharum diletakkan dalam kandang hewan uji. Pengharum dikaitkan pada dinding strimin bagian atas. Hal ini bertujuan agar paparan pengharum dapat mencapai seluruh ruang kandang tanpa ada gangguan dari hewan uji itu sendiri.



Gambar 4. Kandang perlakuan

#### 4. Kriteria penilaian

Analisis dilakukan dengan menilai gambaran histologi mukosa respiratorius nasal. Mukosa respiratorius diamati pada bagian yang melapisi septum nasal. Analisis terdiri dari penilaian terhadap perubahan ketebalan epitel, adanya sebukan sel radang, penampakan sel goblet, dan lamina propria. Perubahan ketebalan epitel respiratorius dinilai secara kuantitatif melalui pengukuran secara langsung menggunakan alat bantu mikroskop dan mikrometer dengan perbesaran 400x dalam 5 lapang pandang, sedangkan adanya sebukan sel radang, eksudat, penampakan sel goblet, dan lamina propria dinilai secara deskriptif.

### F. Instrumen Penelitian

#### 1. Alat

Alat yang diperlukan meliputi : kandang hewan uji, perlengkapan pemeliharaan, perlengkapan bedah, timbangan badan hewan uji, alat bantu semprot otomatis, tempat organ (toples), mikroskop cahaya, dan mikrometer.

#### 2. Bahan

Penelitian memerlukan beberapa bahan, meliputi: 18 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* (berjenis kelamin jantan, berumur 3 bulan, dan berat badan 150-300 gram), pengharum ruangan cair, pengharum ruangan gel, Formalin 10%, pakan standar dan minuman tikus

## G. Cara Kerja

### 1. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji menggunakan tikus putih, dipilih sesuai galur, usia, dan jenis kelamin yang telah ditentukan. Pada awal penelitian, hewan uji ditimbang dan dipilih yang mempunyai berat 150-300 gram. Aklimatisasi dilakukan pada hewan uji selama 1 minggu.

### 2. Pengelompokan Hewan Uji

Hewan uji dikelompokkan secara acak menjadi 3 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor yang terbagi atas 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok percobaan. Tiap kelompok ditempatkan pada satu kandang perlakuan berbeda yang diatur penempatan kandangnya, sehingga paparan tidak mempengaruhi satu sama lain. Pemberian makan dan minum diatur dengan porsi yang sama pada semua kelompok. Kandang juga dijaga kebersihannya.

### 3. Pemaparan Pengharum Ruangan

Pengharum berbentuk cair dipasang pada alat bantu semprot otomatis dan dikaitkan pada dinding bagian atas kandang kelompok PA. Pengharum ruangan gel juga dikaitkan pada dinding bagian atas kandang kelompok PB. Peletakan pengharum diatur sedemikian rupa sehingga paparan pengharum dapat menyebar ke seluruh ruang kandang tanpa adanya gangguan dari tikus itu sendiri. Kandang kelompok kontrol perlu diletakkan di ruang yang terpisah dengan ruang tempat meletakkan

kelompok perlakuan agar paparan pengharum pada kelompok perlakuan tidak menjadi pencemar pada kelompok kontrol. Pemaparan pengharum ruangan dilakukan selama 8 jam selama kurun waktu 15 hari berturut-turut.

#### 4. Perlakuan

Perlakuan hewan uji disesuaikan dengan pengelompokannya.

##### a. Kelompok K

Kelompok K merupakan kelompok kontrol. Pada kelompok ini, hewan uji tidak dipaparkan pengharum ruangan.

##### b. Kelompok PA

Kelompok ini adalah kelompok hewan uji yang diberi paparan pengharum ruangan berbentuk cair. Pemaparan pengharum ruangan berbentuk cair ini dilakukan selama 8 jam/hari selama jangka waktu 15 hari berturut-berturut.

##### c. Kelompok PB

Kelompok PB adalah kelompok yang dipaparkan pengharum ruangan berbentuk gel. Pemaparan pengharum ruangan berbentuk gel dilakukan selama 8 jam/hari selama jangka waktu 15 hari berturut-turut.

#### 5. Pemeliharaan

Makanan dan minuman diberikan dengan porsi yang sama pada semua kelompok percobaan dan setiap hari ditimbang pakan yang tersisa.

Setiap 2 hari sekali dilakukan penimbangan berat badan agar kesehatan hewan uji dapat terpantau. Pembersihan kandang dilakukan secara teratur.

#### 6. Pembedahan dan Pengambilan Organ

Hewan uji diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya selama 15 hari. Pada hari ke-16, dilakukan pembedahan pada semua hewan uji yang sebelumnya telah dilakukan dekapitasi. Pembedahan menggunakan alat-alat bedah sederhana dan dilakukan pengambilan jaringan yang akan diteliti. Jaringan yang telah diambil direndam pada larutan formalin.

#### 7. Pembuatan Preparat

Jaringan nasal didekalsifikasi dengan EDTA 5% dalam buffer Tris 0,05 M (pH 7,5). Spesimen diiris melintang pada segmen yang sama antara hewan uji satu dengan yang lain, yaitu pada batas antara tulang rawan dan tulang keras yang terdapat bagian mukosa respiratorius. Pembuatan preparat menggunakan metode blok paraffin, lalu dipotong pada ketebalan 5  $\mu\text{m}$ , dan dilakukan pewarnaan dengan teknik *Hematoxylin Eosin* (HE) untuk pemeriksaan mikroskopis cahaya.

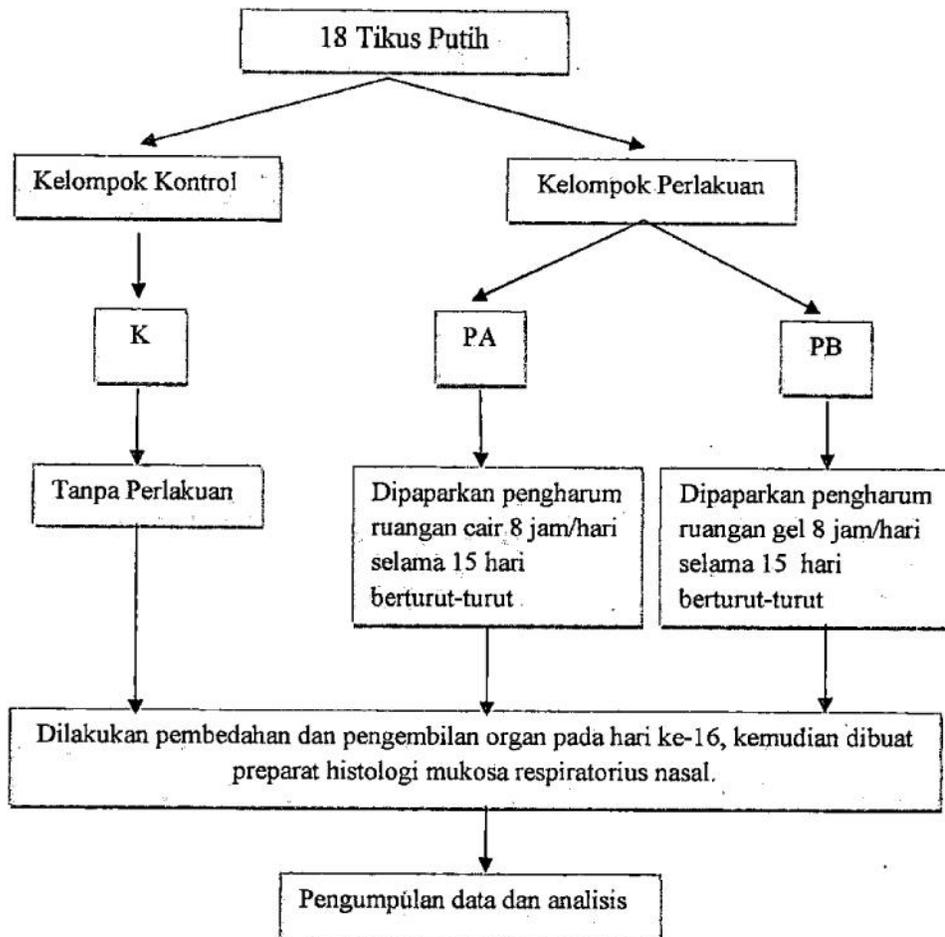
#### 8. Uji Histopatologis

Preparat diamati secara histologis di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Analisis dilakukan dengan menilai gambaran histologi mukosa respiratorius. Pengamatan dan pengukuran secara kuantitatif tiap preparat dilakukan pada 5 lapang pandang yang terdiri dari pengukuran

ketebalan epitel respiratorius. Sedangkan sebaran sel radang, produksi mukus (sel goblet), serta perubahan gambaran histologis pada lamina propria juga turut diamati secara deskriptif.

#### **H. Analisis Data**

Data dianalisis menggunakan metode statistik *One-Way Anova*. Pada hasil analisis, apabila sebaran data tidak normal atau variansi berbeda, analisis dilakukan dengan menggunakan *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *post hoc Mann-Whitney*.

**I. Skema Penelitian**

Gambar 5. Alur penelitian