

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Desain pada penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan percobaan *post-test only control group design*. Pengambilan Hewan uji sebagai sampel akan dilakukan secara randomisasi pada kelompok eksperimen maupun kelompok kontrol dengan tanpa diadakan *pre-test*.

#### **B. Lokasi dan Waktu**

1. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan dilaksanakan di Laboratorium Biomedis FKIK UMY selama 22 hari.
2. Pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Umum-UGM selama 14 hari.
3. Pengamatan dan penilaian preparat, serta pengumpulan data dilaksanakan di Laboratorium Histologi FKIK UMY selama 2 bulan.

#### **C. Subyek Penelitian**

Penelitian menggunakan 18 hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan galur *Wistar* yang telah berumur 3 bulan dan mempunyai berat badan 150-300 gram. Hewan uji terbagi ke dalam 3 kelompok, menurut WHO tiap kelompok minimal 5 ekor, dan pada penelitian ini sampel yang digunakan 6 ekor setiap kelompok. Kelompok-

kelompok tersebut terbagi atas 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan.

#### 1. Kelompok Kontrol

a. Kelompok (K) : kelompok hewan uji yang tidak didedahkan pengharum ruangan

#### 2. Kelompok Perlakuan

a. Kelompok (PA) : kelompok hewan uji yang didedahkan pengharum ruangan berbentuk cair

b. Kelompok (PB) : kelompok hewan uji yang didedahkan pengharum ruangan berbentuk gel.

### D. Variabel

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

### 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

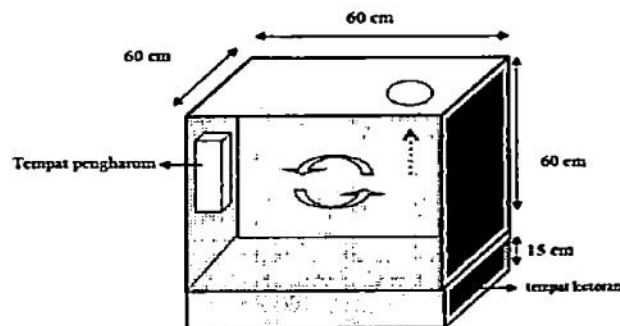
otomatis yang menyemprot setiap 10 menit sekali. Merk pengharum ruangan yang digunakan adalah Stella dengan aroma lemon.

## 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 6. 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 pendedahan pengharum dapat mencapai seluruh ruang kandang tanpa ada gangguan dari hewan uji itu sendiri.



Gambar 6. Kandang Perlakuan

#### 4. Gambaran histologi sel hepar

Gambaran histologi sel hepar yaitu rerata skor histopatologi sel hepar yang dihitung berdasarkan skor derajat perubahan struktur histologi sel hepar, dengan tingkat perubahan sebagai berikut :

- a. Normal : tampak sel berbentuk poligonal, sitoplasma berwarna merah homogen dan dinding sel berbatas tegas
- b. Degenerasi parenkimatosa : tampak sitoplasma keruh karena terdapat endapan protein
- c. Degenerasi hidropik : tampak vakuola pada sitoplasma sel maupun di sekeliling inti sel
- d. Nekrosis : tampak inti sel piknotik dan sitoplasma sel menggumpal.

Tabel 2. Skor penilaian derajat histopatologi sel hepar (Amalina, 2009)

Tingkat Perubahan	Skor
Normal	1
Degenerasi Parenkimatosa	2
Degenerasi hidropik	3
Nekrosis	4

#### F. Alat dan Bahan 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.

## 2. Bahan

Penelitian memerlukan beberapa bahan, meliputi: 18 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar* (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 pemeliharaan yang diatur penempatan kandangnya, sehingga pendedahan tidak mempengaruhi satu sama lain. Pemberian makan dan minum diatur dengan porsi yang sama pada semua kelompok. Kandang juga dijaga kebersihannya.

### 3. Pendedahan 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 pendedahan 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 pendedahan pengharum pada kelompok perlakuan tidak menjadi pencemar pada kelompok kontrol. Pendedahan 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 didedahkan pengharum ruangan.

##### b. Kelompok PA

Kelompok ini adalah kelompok hewan uji yang diberi pendedahan pengharum ruangan berbentuk cair setiap 10 menit. Pendedahan pengharum ruangan berbentuk cair ini dilakukan selama 8 jam/hari dengan jangka waktu 15 hari berturut-turut.

##### c. Kelompok PB

Kelompok PB adalah kelompok yang didedahkan pengharum ruangan berbentuk gel. Pendedahan pengharum ruangan

berbentuk gel dilakukan selama 8 jam/hari dengan 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 penarikan pada tulang belakang. Pembedahan menggunakan alat-alat bedah sederhana dan dilakukan pengambilan jaringan yang akan diteliti. Jaringan yang telah diambil direndam pada larutan formalin.

7. Pembuatan Preparat

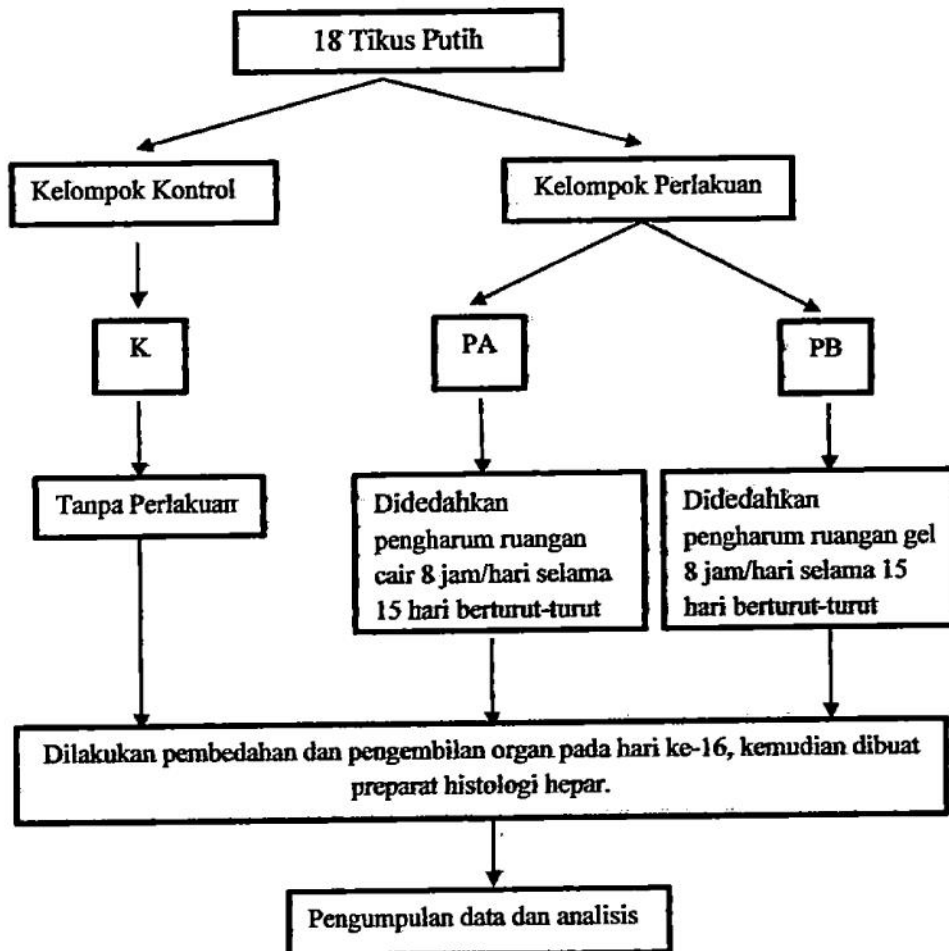
Jaringan hepar difiksasi dengan formalin 10% kemudian dibuat preparat histologi dengan metode parafin menggunakan teknik pewarnaan *Hematoxylin* dan *eosin (HE)*.

8. Uji Histopatologis

Gambaran histologi sel hepar merupakan gambaran mikroskopis yang terlihat pada lensa okuler mikroskop cahaya dengan perbesaran (40x10) dengan pengamatan lima kali lapang pandang dan setiap

lapang pandang pada 40 hepatosit dan dinilai skor tiap sel kemudian dihitung rerata skor dari lima lapang pandang untuk masing-masing tikus putih (*Rattus norvegicus*).

#### H. Skema Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian



## **I. Analisis Data**

Data skor kerusakan sel hepar dihitung dengan skoring derajat histopatologi sel hepar (Amalina, 2009). Dan dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk*. Apabila didapatkan distribusi data yang normal, maka dilakukan uji beda menggunakan uji *One Way Anova* dan jika didapatkan nilai  $p < 0,05$ , dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc*. Apabila didapatkan distribusi data yang tidak normal, maka dilakukan uji beda menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan jika didapatkan nilai  $p < 0,05$ , maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.