

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian Eksperimental Murni dengan pendekatan *post test only control group design* yaitu kegiatan percobaan yang dilakukan dengan cara memberikan intervensi pada tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar usia 2 bulan dengan cara memberikan paparan lalu dilakukan pengamatan setelah terjadinya paparan (post-test). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang ditimbulkan (Perubahan Gambaran Histologi Pulmo), sebagai suatu akibat dari adanya paparan dari obat nyamuk spray dan obat nyamuk *one push* .

B. Subyek Penelitian

Subyek pada penelitian ini adalah menggunakan hewan coba *tikus Rattus norvegicus* Galur *Wisttar* dengan usia dewasa 60 hari sebanyak 30 ekor. Subyek yang diambil dalam penelitian ini mempunyai kriteria yaitu :

1. Inklusi
 - a. Usia 2 bulan
 - b. Sehat
 - c. Berat 200-250 gram
 - d. Tidak ada kelainan anatomi

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi :

- a. Pada penelitian ini, peneliti melakukan intervensi terhadap subyek penelitian di Laboratorium Histologi Fakultas Kesehatan dan Ilmu Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- b. Pembuatan preparat pulmo di lakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Asri Medical Center.

2. Waktu :

Pada penelitian ini, percobaan dilakukan selama 125 hari.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

- a. Paparan obat nyamuk spray
- b. Paparan obat nyamuk *one push*

2. Variabel Tergantung

Perubahan gambaran histologi pulmo tikus *Rattus norvegicus* Galur *Wistar* usia dewasa (2 bulan)

3. Variabel terkontrol

- a. Subyek penelitian meliputi :
 - 1) Jenis hewan uji sama berasal dari galur wistar
 - 2) Jenis kelamin hewan uji sama yaitu jantan
 - 3) Umur hewan uji sama yaitu 2 bulan
- b. Perawatan : jenis dan kualitas pakan, minum, serta kandang setiap hewan uji sama.

- c. Bahan perlakuan : penggunaan obat nyamuk spray dan obat nyamuk *one push* dengan aroma jeruk.

E. Definisi Oprasional

1. Obat nyamuk spray adalah obat nyamuk dalam bentuk cairan yang berisi. Cara penggunaan dari obat nyamuk jenis ini adalah dengan cara disemprotkan pada ruangan. Obat nyamuk spray memiliki 3 bahan aktif yaitu *praletrin* (0,1%), *sifultrin* (0,05%), dan *d-alletrin* (0,57%) (Fumakila, 2015).
2. Obat nyamuk *one push* adalah obat nyamuk dengan sediaan berupa botol berukuran kecil. Obat nyamuk jenis ini penggunaannya hanya memerlukan satu kali semprot pada ruangan. Obat nyamuk *one push* memiliki kandungan zat aktif *transfultrin* (21,3%) (Fumakila, 2015).
3. Ketebalan septum interalveolaris adalah ketebalan septum di antara alveolus yang dapat diamati dari potongan melintang pulmo, di bawah alat bantu “Miconos Sigma” dengan perbesaran 40X10 dan diambil dalam 5 lapang pandang, yaitu : Pada tepi kanan atas, kiri atas, tengah, kanan bawah, dan kiri bawah. Ketebalan septum dihitung dengan menggunakan software “Image Raster”.
4. Diameter alveolus adalah diameter yang dapat diamati dari potongan melintang pulmo, di bawah alat bantu “Miconos Sigma” dengan perbesaran 40X10 dan diambil dalam 5 lapang pandang, yaitu : pada tepi kanan atas, kiri atas, tengah, kanan bawah, dan kiri bawah.

Diameter alveolus dihitung dengan menggunakan software “Image Raster”.

F. Instrumen Penelitian

1. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu : kandang pemeliharaan, kandang perlakuan, perlengkapan makan hewan coba, minor set, mikroskop (Miconos Sigma), gelas benda, papan pembedahan, pot air (digunakan untuk menyimpan organ), software “Image Raster” (digunakan untuk mengukur gambaran histologi preparat), sarung tangan lateks, dan masker.
2. Bahan–bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu : obat nyamuk spray, obat yamuk one push, pakan standar hewan coba, air mineral, folmalin buffer (untuk mengawetkan organ), Clorofom (untuk membius hewan coba saat pembedaha), NaCl Fisiologis (untuk membersihkan atau mencuci organ), Alkohol 70%, dan kapas.

G. Jalannya penelitian

1. Aklimatisasi hewan coba selama 7 hari.
2. Pengelompokan hewan coba ke dalam lima kelompok perlakuan , yang terdiri dari
 - a. Kelompok Kontrol (K)
 - b. Kelompok pemberian perlakuan obat nyamuk one push 5 menit (P1)
 - c. Kelompok pemberian perlakuan obat nyamuk one push 10 menit (P2).

- d. Kelompok pemberian perlakuan obat nyamuk spray 5 menit (P3)
- e. Kelompok pemberian perlakuan obat nyamuk spray 10 menit (P4)

Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 6 tikus.

3. Pemberian tanda pada subyek penelitian, dengan menggunakan pikrat kemudian dimasukkan ke dalam bak sesuai dengan kelompok perlakuan masing-masing.
4. Pemberian perlakuan
 - a. Siapkan kelompok (P1) dan (P3) lalu masukan ke dalam kandang perlakuan. Kandang perlakuan 1 digunakan untuk kelompok (P1) sedangkan kandang perlakuan 2 digunakan untuk kelompok (P3).
 - b. Disemprotkan obat nyamuk one push (1 kali semprotan) pada kandang perlakuan pertama dan semprotkan obat nyamuk spray (1 kali semprotan) pada kandang perlakuan kedua (penyemprotan dilakukan secara bersama-sama).
 - c. Tutup kandang perlakuan dan diamkan selama 5 menit.
 - d. Setelah 5 kelompok (P1) dan (P3) di keluarkan dari kandang perlakuan.
 - e. Pintu kandang perlakuan dibiarkan terbuka dan biarkan hingga 10 menit.
 - f. Masukan kelompok (P2) pada kandang perlakuan pertama dan kelompok (P4) pada kandang perlakuan kedua.
 - g. Disemprotkan obat nyamuk spray (1 kali semprotan) pada kandang perlakuan pertama dan semprotkan obat nyamuk *one push* (1 kali

semprotan) pada kandang perlakuan kedua. (penyemprotan dilakukan secara bersama-sama).

- h. Tutup kandang perlakuan dan diamkan selama 10 menit.
- i. Setelah 10 menit kelompok (P2) dan (P4) dikeluarkan dari kandang perlakuan.

5. Perlakuan pemeliharaan

- a. Hewan coba diberikan makanan standard 2 gram dalam sehari.
- b. Hewan coba diberikan minum ad libitum.

6. Pembedahan Tikus

- a. Hewan coba dibius dengan cara kapas diberi dengan cairan klorofom kemudian diletakkan pada kandang tikus yang akan di bedah. Tikus ditunggu hingga tidak sadarkan diri. Apabila tikus sudah tidak sadarkan diri barulah tikus dibedah.
- b. Bedah tikus dengan menggunakan alat minor set.
- c. Organ yang diambil adalah pulmo.
- d. Organ yang telah diambil dimasukan ke dalam pot air yang telah diisi dengan formalin, kemudian ditutup dengan rapat.

7. Pembuatan preparat

Organ pulmo yang disimpan dengan formalin 10% kemudian dibuat preparat histologi dengan metode parafin blok menggunakan teknik pewarnaan *Hematoxylin* dan *Eosin* (HE).

8. Pengamatan preparat pulmo

Pengamatan dilakukan di bawah bantuan alat “Miconos Sigma” dalam lima lapang pandang, yaitu : tepi kanan atas, kiri atas, tengah, kanan bawah, dan kiri bawah. Masing masing lapang pandang diamati dan dilakukan pengukuran pada 10 septum interalveolaris dan 10 diameter alveolus. Amati terjadinya perubahan ketebalan septum interalveolaris dan penyempitan atau pelebaran diameter alveolus.

H. Analisis Data

Analisis data dengan menggunakan uji parametrik *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey test*.