

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian yang berjudul “Pengaruh paparan pengharum ruangan cair terhadap gambaran histologi bronkus mencit (*Mus musculus*) dan sumbangsuhnya pada materi Pencemaran Lingkungan di kelas X SMA/MA” dilaksanakan pada bulan Maret 2020 – Mei 2020 di Laboratorium *Animal House* Abduh Tikus Center Palembang dan Laboratorium Patologi Anatomi Dyatnitalis Palembang.

B. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian yang bersifat kuantitatif. Data penelitian pada penelitian kuantitatif berupa angka-angka dan analisis menggunakan statistik. Desain penelitian yang digunakan adalah *True Experimental* dengan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini dilakukan dengan mengamati gambaran histologi bronkus mencit setelah pemaparan 3 ml pengharum ruangan cair dalam sehari. Subyek penelitian ada 20 ekor mencit. Eksperimen menggunakan mencit (*Mus musculus*) jantan dengan galur *swiss webster* yang berumur 3 bulan dan mempunyai berat badan 30 gram. Jumlah mencit yang digunakan adalah 20 ekor.

Penelitian ini menggunakan *post-test only control group* yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol dengan 5 kali ulangan. Sebelum penelitian dilaksanakan, 20 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan diaklimatisasi selama satu minggu di *Animal House* dan dilanjutkan tahap perlakuan selama 6

minggu. Mencit (*Mus musculus*) diberi pakan dan minum secara *ad libitum* (Setyaningsih, 2006). Dosis yang digunakan dalam penelitian ini telah dikonversikan ke hewan percobaan (mencit jantan) sehingga dihasilkan dosis optimum untuk perlakuan paparan pengharum ruangan sebesar 3 ml/kg BB dalam sehari (Laurance, 2008). Setelah itu mencit (*Mus musculus*) dibagi menjadi empat kelompok dengan rincian sebagai berikut:

- a. Kelompok kontrol tanpa perlakuan.
- b. Kelompok perlakuan satu (P1) diberi pengharum ruangan cair dengan dosis 1 ml/3x/hari selama 2 minggu.
- c. Kelompok perlakuan dua (P2) diberi pengharum ruangan cair dengan dosis 1 ml/3x/hari selama 4 minggu.
- d. Kelompok perlakuan tiga (P3) diberi pengharum ruangan cair dengan dosis 1 ml/3x/hari selama 6 minggu.

Masing-masing kelompok perlakuan (P1, P2, P3) diberi pengharum ruangan dengan banyak semprotan masing-masing di setiap perlakuan. Kemudian mencit (*Mus musculus*) dibedah, perfusi, dan diambil organnya untuk dijadikan sediaan prepat. Tiap kelompok ditempatkan pada satu kandang pemeliharaan yang diatur penempatan kandangnya, sehingga paparan tidak akan mempengaruhi satu sama lain. Pemberian makan dan minum diatur dengan porsi yang sama pada semua kelompok. Pakan standar yang diberikan adalah makanan sehari-hari berupa pelet. Kandang yang digunakan adalah kandang khusus untuk pemeliharaan dan perlakuan inhalasi yang berupa kotak box plastik (35x26x13) cm agar hewan percobaan lebih leluasa untuk bergerak dan sirkulasi udara dengan baik. Kandang juga dijaga kebersihannya agar mencit dapat bertahan hidup.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini ialah box plastik, botol semprot, suntikan 3 ml, gunting bedah, pisau bedah, silet bedah, pinset, spatula, papan bedah/sterofom, cutter, neraca analitik, masker, *gloves*, jarum pentul, kapas, tisu, botol wadah organ, label, objekglass, deckglass, mikroskop, gelas arloji, optilab, cawan petri, blok, *tissue processing*, *tissue embedding center*, *cooling plate*, mikrotom, *water bath*, dan *hot plate*.

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah mencit (*Mus musculus*), pengharum ruangan cair, aquades, NaCl 0,9 %, BNF 10 %, *Ketamine* 10 % dan *Xylazine* 2 %, alkohol 70 %, alkohol bertingkat rendah dan tinggi, *Canada Balsam* dan *Hematoxylin-Eosin* (HE).

D. Definisi Operasional Variabel

Beberapa istilah yang akan didefinisikan secara operasional dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut.

1. Pengharum ruangan cair

Pengharum ruangan cair adalah produk yang mengandung bahan kimia bertujuan mengurangi bau yang tidak menyenangkan di ruangan tertutup yang berbentuk cair.

2. Histologi

Histologi adalah ilmu yang mempelajari jaringan penyusun tubuh, kimia jaringan dan sel dipelajari dengan metode analitik mikroskopik dan kimia.

3. Bronkus

Bronkus adalah percabangan tenggorokan menuju paru kiri-kanan. Tiap bronkus bercabang membentuk cabang kecil, dan tiap cabang bronkus ini membentuk banyak ranting.

4. Mencit

Mencit (*Mus musculus*) adalah hewan kelas Mamalia yang paling sering digunakan dalam sebuah penelitian. Hewan ini sering dijadikan hewan uji coba karena dapat mewakili hewan dari kelompok Mamalia, dan kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, sistem reproduksi, pernapasan, peredaran darah, serta ekskresi menyerupai manusia.

5. Materi Pencemaran Lingkungan

Pada proses pembelajaran dengan pokok bahasan Pencemaran Lingkungan dapat menggunakan modul pembelajaran sebagai media pembelajaran di kelas X SMA/MA.

6. Parameter Histologi

Parameter histologi yang diukur meliputi ketebalan epitel pelapis pada bronkus (mm) mencit jantan.

E. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini terdapat dua variabel, yaitu variabel X (mempengaruhi) dan variabel Y (dipengaruhi), yaitu:

1. Variabel X: paparan pengharum ruangan cair
2. Variabel Y: histologi bronkus mencit (*Mus musculus*)

F. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Menurut Sugiyono (2017), populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri dari objek atau subjek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang telah ditetapkan untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulan. Adapun populasi dalam penelitian ini adalah 25 ekor mencit.

2. Sampel

Menurut Sugiyono (2017), sampel adalah sebagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut. Adapun sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 ekor mencit jantan galur *Swiss Webster*.

Penentuan besar sampel berdasarkan ketentuan WHO dengan jumlah sampel minimal 5 ekor tiap kelompok (Arumingtyas, 2010). Sedangkan, banyaknya pengulangan ditentukan berdasarkan rumus Federer (Nugroho, 2018).

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

t = kelompok perlakuan

n = jumlah pengulangan atau sampel tiap kelompok

G. Prosedur Penelitian

1. Hewan Percobaan

Hewan percobaan dalam penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster* berumur 3 bulan dengan berat badan 30 gram yang diperoleh dari *Animal House* Abduh Tikus Center Palembang. Sebelum diberi perlakuan, terlebih dahulu mencit diaklimatisasi selama 7 hari di *Animal House* Abduh Tikus Center Palembang (Setyaningsih, 2006). Kriteria inklusi berumur 2-3 bulan dengan berat 30 gram, selama 7 hari diaklimatisasi sebelum perlakuan, tidak sakit, aktivitas normal (Susilorini, 2013). Kriteria eksklusi sehat dengan tanda-tanda mata jernih, rambut tidak berdiri, dan berat badan relatif stabil (Maislisdiani, 2016).

Mencit yang digunakan dalam penelitian ini mencit jantan galur *Swiss Webster* yang memiliki rambut halus berwarna putih serta ekor berwarna kemerahan dengan ukuran lebih panjang dari pada badan dan kepala. Menurut Nugroho (2018), ciri-ciri lain mencit secara umum adalah tekstur rambut lembut dan halus, bentuk hidung kerucut terpotong, bentuk badan silindris agak membesar ke belakang warna rambut putih, mata merah, ekor merah muda.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Tolistiawaty (2014), syarat mencit dapat digunakan sebagai hewan percobaan adalah harus bebas dari kuman patogen, karena adanya kuman patogen dapat mengganggu jalannya reaksi pada percobaan yang akan diujikan. Kemampuan dalam memberikan reaksi imunitas yang baik. Kepekaan terhadap suatu penyakit. Nutrisi, kebersihan, pemeliharaan, dan kesehatan hewan baik dan terjaga.

Mencit digunakan yaitu mencit jantan usia 3 bulan karena mencit termasuk dalam kriteria mencit dewasa dan memiliki organ tubuh yang sudah matang seperti pada sistem pernapasan khususnya organ bronkus yang digunakan dalam penelitian ini. Kriteria mencit tersebut memiliki berat badan sekitar 30 gram dan panjangnya 2,5 - 3 inch. Menurut Putri (2018), alasan penggunaan mencit galur *Swiss Webster* sebagai hewan percobaan adalah karena mencit mudah beradaptasi dengan lingkungan yang baru, tingkat reproduksinya tinggi, biaya relatif murah, anatomi dan fisiologi mudah dipahami, karakteristik mencit mirip manusia.

Konsumsi pakan mencit berkisar 3-4 g perhari dari pakan yang kering atau sekitar 20% dari berat bobot tubuhnya dan kebutuhan air sebanyak 3 ml perhari. Pertumbuhan berat badan yang normal pada mencit setiap harinya mencapai 1 gr/ekor/hari. Berat badan mencit jantan umur 4 minggu dewasa mencapai 20-40 gram dan betina 18-35 gram (Tolistiawaty, 2014).

Hewan percobaan digunakan mempunyai keseragaman berat badan dan umur. Hal ini bertujuan untuk memperkecil variabilitas biologis antar hewan percobaan yang digunakan, sehingga dapat memberikan respon yang relatif lebih seragam (Ngatidjan, 2006). Mencit jantan digunakan dengan alasan kondisi biologisnya stabil bila dibandingkan dengan mencit betina yang kondisi biologisnya dipengaruhi oleh masa siklus estrus sehingga mencit jantan dapat mewakili mencit betina dalam keadaan biologis yang lebih stabil (Musser, 2008). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Rakhmadi (2009), mencit jantan dapat mewakili kondisi mencit betina pada saat keadaan normal dan tidak mengalami fase estrus yang menyebabkan hormon menjadi

meningkat sehingga reseptornya akan lebih banyak. Hal ini dapat menyebabkan ketidaksesuaian antara hormon dan reseptor yang akan menghambat sistem yang ada di dalam tubuh, seperti terjadi stres, kerusakan sel bahkan kematian sel.

2. Penentuan dan Persiapan dosis Perlakuan Paparan Pengharum Ruangan

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini disesuaikan dengan dosis yang telah dilakukan oleh Zuhair (2012) pada kelinci, yaitu 1 ml/kg BB. Dosis tersebut akan digunakan untuk hewan percobaan (mencit) dengan cara dikonversikan dan perhitungan konversi dosis berdasarkan tabel konversi dosis kelinci ke mencit (Laurence, 2008). Untuk pengharum ruangan cair, pemaparan dilakukan menggunakan botol semprot.

3. Pengelompokan Hewan Percobaan

Penelitian ini menggunakan mencit jantan (*Mus musculus*) dengan galur *Swiss Webster* sebanyak 20 ekor. Kemudian mencit dibagi menjadi 1 kelompok kontrol (K) dan 3 kelompok perlakuan (P1, P2, P3). Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.

4. Isolasi Organ (Bronkus)

Setelah dilakukan perlakuan terakhir, mencit dibunuh dengan cara dibius menggunakan *Ketamine* dan *Xylazine*. Proses mematikan mencit secara kimia dengan menggunakan anestesi terlebih dahulu untuk menghindari rasa nyeri yang dirasakan mencit. Pembiusan dilakukan secara intraperitoneal dengan dosis *Ketamine* 10 % dan *Xylazine* 2 %, lalu membiarkan sampai mencit tidak bergerak. Penggunaan *Ketamine* dan *Xylazine* sebagai anestesi mempunyai keuntungan, antara lain: mudah dalam pemberian, ekonomis, induksinya cepat,

mempunyai pengaruh relaksasi yang baik dan jarang menimbulkan komplikasi klinis (Yudaniayanti, 2010).

Selanjutnya, kegiatan pembedahan (sesuai kode etik pembedahan hewan) dengan menggunakan teknik perfusi. Perfusi merupakan metode pada histoteknik, untuk proses fiksasi cairan ke dalam jaringan dengan waktu yang cukup cepat, sehingga gambaran histologi yang diperoleh mewakili keadaan sesaat sebelum kematian. Metode ini membutuhkan peran pembuluh darah, yang akan menyalurkan dan memberikan akses ke setiap jaringan dalam waktu cepat. Sel akan memulai proses autolisis segera setelah terjadinya anoksia (kekurangan oksigen). Jadi, semakin cepat larutan fiksatif sampai ke setiap sel, maka proses autolisis akan semakin cepat berhenti.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Ravif (2016), metode perfusi sudah banyak dilaksanakan di berbagai laboratorium riset. Darah akan dikeluarkan dan dikuras dengan menyuntikan larutan fisiologis. Cara memasukkan larutan pada metode ini ada 2 macam, yaitu metode gravitasi dan pompa peristaltik. Metode gravitasi menggunakan bantuan dari gaya gravitasi sehingga metode ini paling mudah dilakukan. Kelemahan dari metode ini adalah, apabila ada sel darah yang menyumbat suatu pembuluh darah kapiler akan menyebabkan cairan yang dimasukkannya tidak dapat sampai pada daerah tersumbat secara bersamaan sehingga tujuan keseragaman hasil akan sulit didapatkan. Sedangkan metode pompa peristaltik merupakan proses mendorong cairannya menggunakan metode pompa peristaltik, metode ini membuat hasil yang didapat akan lebih maksimal dan keseragaman hasil akan lebih optimal.

Setelah itu organ paru-paru bagian bronkus dapat diambil lalu difiksatif dengan cara merendam organ dalam larutan BNF 10 % agar organ menjadi awet, kaku, dan keadaan sama seperti saat masih hidup. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Rahmadani (2018), fiksasi adalah suatu metode untuk mempertahankan komponen-komponen sel atau jaringan agar tidak mengalami perubahan dan tidak mudah rusak. Bahan pengawet yang rutin digunakan dalam proses fiksasi adalah larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%.

5. Pembuatan Preparat Histologi

Pembuatan preparat menggunakan metode paraffin blok dengan teknik pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Metode paraffin adalah metode yang paling sering digunakan. Keuntungan menggunakan metode ini yaitu irisan dapat lebih tipis, mudah dikerjakan, dan proses pengerjaannya lebih cepat. Menurut Sari (2015), proses pengolahan pembuatan blok ini dimulai dari fiksasi, dehidrasi, penjernihan (*clearing*), infiltrasi paraffin, penanaman (*embedding*), penyayatan (*section*), penempelan (*affiksing*), defaranisasi, pewarnaan (*staining*), penutupan (*mounting*), dan *labeling*.

- a. Fiksasi merupakan suatu usaha untuk mempertahankan komponen-komponen sel atau jaringan agar tidak mengalami perubahan dan tidak mudah rusak. Proses fiksasi ini diharapkan setiap molekul pada jaringan yang hidup tetap berada pada tempatnya dan tidak ada molekul baru yang timbul. Proses fiksasi dilakukan dengan cara merendam organ dalam larutan BNF 10 %. *Buffered Neutral Formalin* (BNF) 10% merupakan cairan fiksatif untuk mengawetkan jaringan pada pemeriksaan histologi rutin. Alasan pemilihan cairan ini karena penggunaannya lebih mudah dan

dapat digunakan untuk mengawetkan jaringan dalam kurun waktu yang cukup lama. Namun, daya fiksasinya lebih lambat yakni 12 sampai 24 jam (Fauzi, 2018).

- b. Pemotongan bagian yang akan diamati dan diteliti dari sampel organ dengan menggunakan pisau. Kemudian dimasukkan ke dalam kaset/blok yang akan digunakan untuk pembuatan blok.
- c. Dehidrasi merupakan metode yang digunakan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan setelah dilakukan proses fiksasi sehingga nantinya dapat diisi dengan parafin untuk membuat blok preparat. Proses dehidrasi ini menggunakan alkohol bertingkat mulai dari alkohol 96%, 85%, 75% dan alkohol absolut. Prosesnya, suatu jaringan akan dicelupkan di masing-masing alkohol dengan kisaran waktu tertentu sampai prosesnya berakhir.
- d. Penjernihan (*clearing*) merupakan metode yang digunakan mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantikannya dengan suatu larutan yang berikatan dengan parafin. Pada proses *clearing* ini sangat krusial karena apabila pada jaringan masih tersisa alkohol walaupun sedikit, parafin tidak akan bisa masuk ke dalam jaringan. Sehingga jaringan nantinya tidak akan sempurna dalam pembuatan *blocking*, pemotongan, dan pewarnaan. Proses *clearing* ini menggunakan bermacam-macam zat penjernih yaitu *xylol* atau *xylena* dan toluol atau *toluene*. Tahapan *clearing* bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan, karena alkohol dan parafin tidak dapat menyatu, sehingga larutan yang akan dimasukkan ke dalam jaringan dapat berikatan dengan parafin. Tahap ini dilakukan dengan menggunakan

tissue processing yang terdiri dari formalin, alkohol, etanol, *xylol*, dan *wax* (lilin).

- e. Penanaman (*embedding*) merupakan proses untuk mengeluarkan cairan pembening dari jaringan dan digantikan dengan parafin. Jaringan ini harus terbebas dari cairan pembening karena nantinya akan mengkristal dan ketika dipotong jaringan akan mudah robek. Berdasarkan metode prosesnya yaitu jaringan akan dibenamkan di larutan parafin selama 3x dan dalam jangka waktu tertentu sambil dipanaskan agar parafinnya tidak membeku. Tahap ini dilakukan dengan menggunakan *tissue embedding center*.
- f. Pembuatan *blocking* merupakan proses pembuatan preparat agar dapat dipotong menggunakan mikrotom. Proses ini menggunakan parafin sebagai alat menempelkan jaringannya agar mudah dipotong. Prosesnya yaitu dengan menyiapkan tempat blockingnya, dan menuangkan parafin dilanjutkan dengan memasukan organ ke dalam parafin yang sudah disediakan. Selanjutnya setelah blok parafin kering dan sudah beku dapat dikeluarkan dari tempat blocking dan dapat dilanjutkan ke proses selanjutnya. Untuk membekukan blok dilakukan dengan menggunakan cooling plate. Blok parafin yang sudah beku dan akan dipotong harus diberi label atau *affixing*, metode ini bertujuan agar diketahui organ yang akan dipotong nanti. Pengecoran (*blocking*) adalah proses pembuatan blok preparat agar dapat dipotong dengan mikrotom.
- g. Pemotongan jaringan dilakukan menggunakan alat khusus dengan pisau yang sangat tipis dan tajam yang disebut mikrotom. Mikrotom adalah alat

yang dapat mengiris potongan blok dengan sangat tipis dan sesuai dengan ukuran ketebalan yang kita inginkan. Pemotongan dilakukan menggunakan mikrotom dengan cara merekatkan blok parafin diatas blok kayu dengan cara memanaskan salah satu sisi blok parafin hingga sedikit mencair kemudian langsung tempelkan. Letakan blok parafin dan blok kayu tersebut pada pemegang (*holder*) di mikrotom dan kencangkan. Lakukan pemotongan jaringan ini dengan ketebalan 6 μm . Jika diperlukan sudut kemiringan pisau mikrotom diatur pada sudut 20-30°. Hasil potongan blok parafin kemudian direndam dalam *water bath* dengan suhu air 37-40°C hingga potongan organ terlihat meregang. Kemudian oleskan putih telur yang dicampur dengan gliserin pada kaca objek secara tipis dan merata. Lalu ambil potongan tersebut menggunakan kaca objek ke dalam *water bath*. Letakan kaca objek tersebut pada *hot plate* dengan suhu 40-45°C hingga kering. Setelah kering dan potongan melekat dengan kuat pada kaca objek, angkat dari *hot plate* dan potongan siap untuk diwarnai.

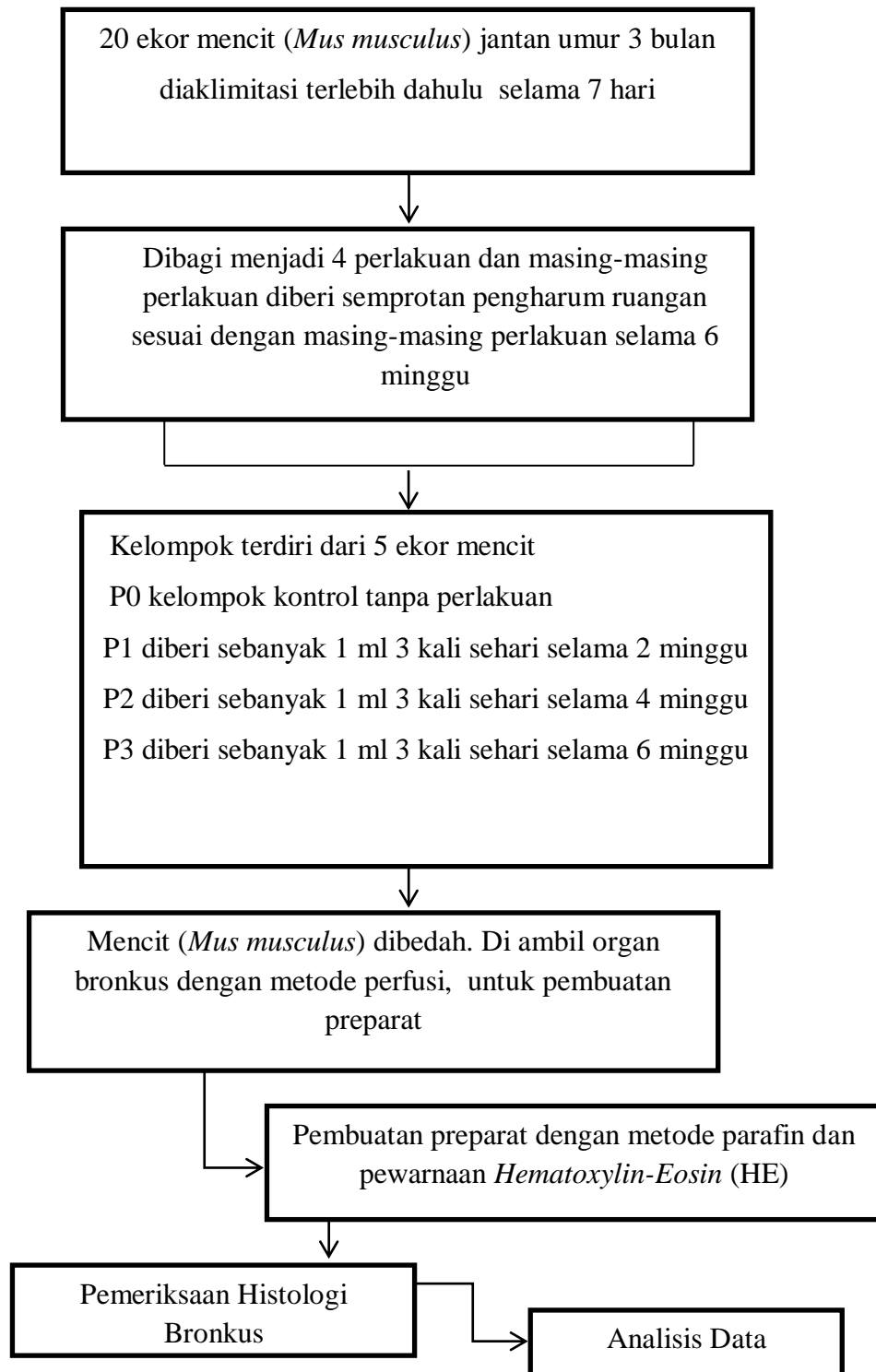
- h. Pewarnaan merupakan teknik untuk memberikan warna pada komponen selular dengan tujuan dapat membedakan antar sel tersebut. Sebelum memulai proses pewarnaan masukkan *xylol*, alkohol dengan konsentrasi 75%, 85%, 96%, alkohol absolut, alkohol asam, hematoksilin, eosin, aquades, ke dalam *staining jar* dengan volume $\frac{3}{4}$ bagian. Masukkan dan rendam cawan yang berisi *xylol* selama 10 menit sebanyak 2 kali. Lalu pindahkan dan rendam cawan ke dalam *staining jar* berisi alkohol absolut selama 5 menit sebanyak 2 kali. Lalu pindahkan dan rendam cawan ke dalam *staining jar* berisi alkohol 96%, 85%, 75% selama 5 menit. Lalu

pindahkan dan rendam cawan ke dalam *staining jar* berisi aquades selama 4 menit, kemudian ke *staining jar* yang berisi hematoksilin dan yang berisi eosin. Teteskan dan ratakan *Canada Balsam* secukupnya di atas preparat dan ditutup dengan *coverglass*. Jangan biarkan ada gelembung udara pada preparat. Berikan nama organ atau kode organ serta tanggal pembuatan. Teknik pewarnaan ini membantu dalam menghasilkan kontras dimana setiap warna memiliki afinitasnya masing-masing. Contohnya pewarnaan sel, yaitu nukleus memiliki afinitas tinggi terhadap pewarnaan hematoksilin, sedangkan sitoplasma memiliki afinitas tinggi terhadap pewarnaan eosin. Pewarnaan dengan menggunakan hematoksilin dan eosin merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam pembuatan preparat histologis. Pewarnaan ini terdiri atas 2 jenis zat warna, yaitu hematoksilin yang fungsinya untuk mewarnai inti sel menjadi biru. Sedangkan eosin fungsinya untuk mewarnai sitoplasma menjadi merah.

6. Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan histologi dilakukan pada irisan melintang bronkus untuk setiap perlakuan. Mikroskop yang digunakan adalah mikroskop cahaya yang telah dimodifikasi dengan menambahkan kamera digital dan monitor. Parameter yang diamati adalah ketebalan epitel pelapis pada bronkus yang akan diukur menggunakan image raster. Preparat diamati secara histologis di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x dan 400x. Pengamatan dan pengukuran secara kuantitatif tiap preparat dilakukan pada 3 lapang pandang yang terdiri dari pengukuran ketebalan epitel pelapis (mm).

Alur Penelitian



H. Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data kuantitatif dilakukan dengan mengukur ketebalan epitel pelapis (mm) pada bronkus mencit dengan menggunakan bantuan mikrometer dan optilab pada setiap sampel. Pada penelitian ini menggunakan image raster untuk mengukur ketebalan epitel pelapis.

I. Teknik Analisa Data

Analisis data merupakan penguraian data hingga menghasilkan simpulan. Analisis yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan uji normalitas dan homogenitas. Setelah terbukti berdistribusi normal dan homogen baru dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Apabila terbukti ada pengaruh akan dilakukan uji lanjut *Post Hoc Tukey* (Yuningtyaswari, 2015).

Tabel 3.1 Ketebalan Epitel Pelapis pada Bronkus Mencit

Kelompok	Tebal Epitel Pelapis (mm)	Rata-Rata
Kelompok Kontrol (K)		
Kelompok Perlakuan satu (P1)		
Kelompok Perlakuan dua (P2)		
Kelompok Perlakuan tiga (P3)		

Adapun RPP yang disumbangsihkan pada penelitian ini yaitu pada KD 3.11 bab perubahan lingkungan sub materi pencemaran lingkungan. RPP berisi acuan guru dalam melaksanakan kegiatan pembelajaran, sehingga pembelajaran yang dilakukan terarah. Menurut Mukarramah (2015), Perencanaan pembelajaran meliputi penyusunan RPP dan penyiapan media serta sumber belajar, perangkat penilaian pembelajaran, dan skenario pembelajaran.

Lembar validasi RPP digunakan untuk memperoleh informasi tentang kualitas RPP berdasarkan penilaian para validator ahli yaitu dari dosen dan guru biologi. Kriteria yang dinilai dalam Rencana Pelaksanaan Pembelajaran (RPP) meliputi perumusan tujuan pembelajaran, isi yang disajikan, bahasa, waktu, dan pemilihan materi pembelajaran. Lembar validasi RPP terdiri empat skor jawaban yaitu 1, 2, 3, dan 4. Jumlah butir pertanyaan sebanyak 7 butir, sehingga rentang skor yang diperoleh yaitu antara 7-28. Kemudian hasil skor yang diperoleh dihitung menggunakan rumus yaitu (Centaury, 2015) :

$$P = \frac{\text{perolehan skor}}{\text{skor maksimum}} \times 100\%$$

Pada lembar validasi RPP yang telah divalidasi oleh dosen terdapat 5 butir pertanyaan mendapatkan skor 4 dan 2 butir pertanyaan mendapatkan skor 3, sehingga skor yang diperoleh yaitu 26. Kemudian dihitung menggunakan rumus:

$$P = \frac{26}{28} \times 100\% = 92,85\%$$

Sedangkan pada lembar validasi RPP yang telah divalidasi oleh guru biologi terdapat 6 butir pertanyaan mendapatkan skor 4 dan 1 butir pertanyaan mendapatkan skor 3, sehingga skor yang diperoleh yaitu 26. Kemudian dihitung menggunakan rumus:

$$P = \frac{27}{28} \times 100\% = 96,42\%$$

Sehingga didapatkan nilai rata-rata validasi RPP yaitu

$$\begin{aligned} \text{Rata-Rata} &= \frac{\text{validasi dosen} + \text{validasi guru}}{2} \\ &= \frac{92,85 + 96,42}{2} = 94,63\% \text{ (sangat valid)} \end{aligned}$$

Adapun nilai validitas RPP pada Kompetensi Dasar (KD) 3.11 yaitu

Tabel 3.2 Nilai Rata-Rata Validitas RPP pada KD 3.11

No.	Aspek yang diamati	Dosen ahli		Guru	
		Nilai (%)	Keterangan	Nilai (%)	Keterangan
1	Perumusan tujuan pembelajaran	100	Sangat valid	100	Sangat valid
2	Isi yang disajikan	83	Sangat valid	92	Sangat valid
3	Alokasi waktu	100	Sangat valid	100	Sangat valid

Sumbangsih penelitian berupa modul pembelajaran yang akan dianalisis datanya ditunjukkan pada Tabel 3.3. dengan nilai yang sudah divalidasi oleh dosen ahli dan guru.

Tabel 3.3 Nilai Rata-Rata Validitas Modul Pembelajaran

No.	Aspek yang diamati	Dosen ahli		Guru	
		Nilai (%)	Keterangan	Nilai (%)	Keterangan
1	Penggunaan bahasa				
2	Isi dan konsep materi				
3	Tampilan media				

Kategori validitas perangkat pembelajaran berdasarkan nilai akhir yang didapat dilihat pada tabel 3.4 di bawah ini (Centaury, 2015) :

Tabel 3.4 Kategori Validitas Perangkat Pembelajaran

Interval	Kategori
0-20	Sangat tidak valid
21-40	Tidak valid
41-60	Kurang valid
61-80	Valid
81-100	Sangat valid

Untuk mengukur tingkat kevalidan media pembelajaran, dapat dilihat menggunakan tabel 3.5 (Setiawati, 2017):

Tabel 3.5 Kriteria Kevalidan Media Pembelajaran

Persentase (%)	Kriteria Kevalidan
80-100	Sangat valid
66-79	Valid
56-65	Cukup valid
40-55	Kurang valid
30-39	Tidak valid

Kriteria kevalidan media dapat dilihat dari persentase yang didapat dari masing-masing aspek. Lembar penilaian aspek bahasa terdiri dari 6 indikator, diantaranya penggunaan bahasa sesuai dengan EYD, kesederhanaan struktur kalimat, bahasa yang digunakan sesuai dengan tingkat perkembangan kognisi siswa, kesesuaian kalimat yang tepat dalam kemampuan membaca siswa, bahasa yang digunakan komunikatif, dan kalimat digunakan jelas dan mudah dimengerti. Lembar penilaian aspek materi terdiri atas 7 indikator, diantaranya kesesuaian materi dengan tujuan pembelajaran, kesesuaian contoh soal dan materi, kesesuaian evaluasi dengan materi, alokasi waktu, susunan materi, dan fungsi-fungsi gambar. Lembar penilaian aspek media terdiri atas 7 indikator, yaitu kesesuaian media dengan materi, kesesuaian tampilan dengan materi, media pembelajaran mendukung proses pembelajaran, pemilihan ukuran dan tipe font, ketepatan pemilihan *background*, fungsi-fungsi gambar, ketepatan komposisi warna.