

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Jenis Penelitian**

Jenis Penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian laboratorium eksperimental

#### **4.2 Subjek dan Spesimen Penelitian**

Penelitian ini menggunakan tikus jenis Sprague-Dawley dengan usia 4 bulan, jenis kelamin yang sama (jantan) dan dengan berat badan setiap ekor sekitar 220 gram sebagai subjek penelitian. Sebagai spesimen penelitian adalah irisan mukosa mulut dari setiap subjek penelitian.

#### **4.3 Tempat Penelitian**

Tempat

- Laboratorium Biologi Oral FKG UI
- Kandang Hewan Bagian Histologi FK UI
- Laboratorium Histologi FK UI

#### **4.4 Alat dan Bahan yang Digunakan**

Alat :

1. Gunting Jaringan
2. Pinset
3. *Scalpel*
4. Sarung Tangan
5. Masker
6. Mikroskop cahaya

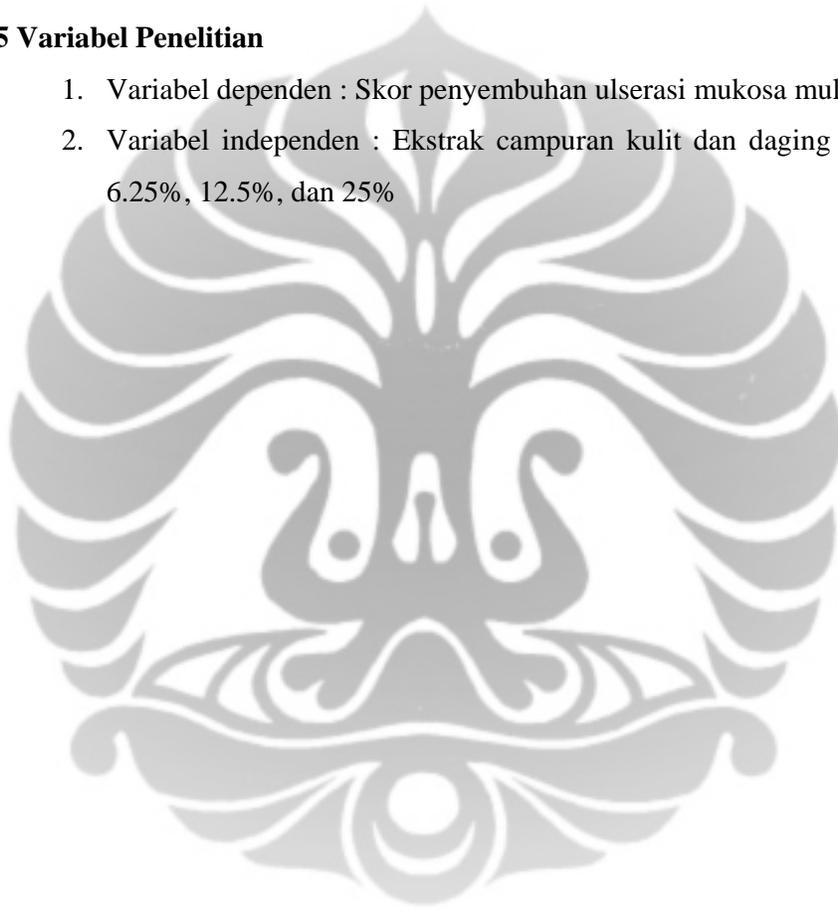
Bahan :

1. Tikus Sprague Dawley, usia 4 bulan, jantan, 220 gram.
2. Larutan NaCl 0,9%

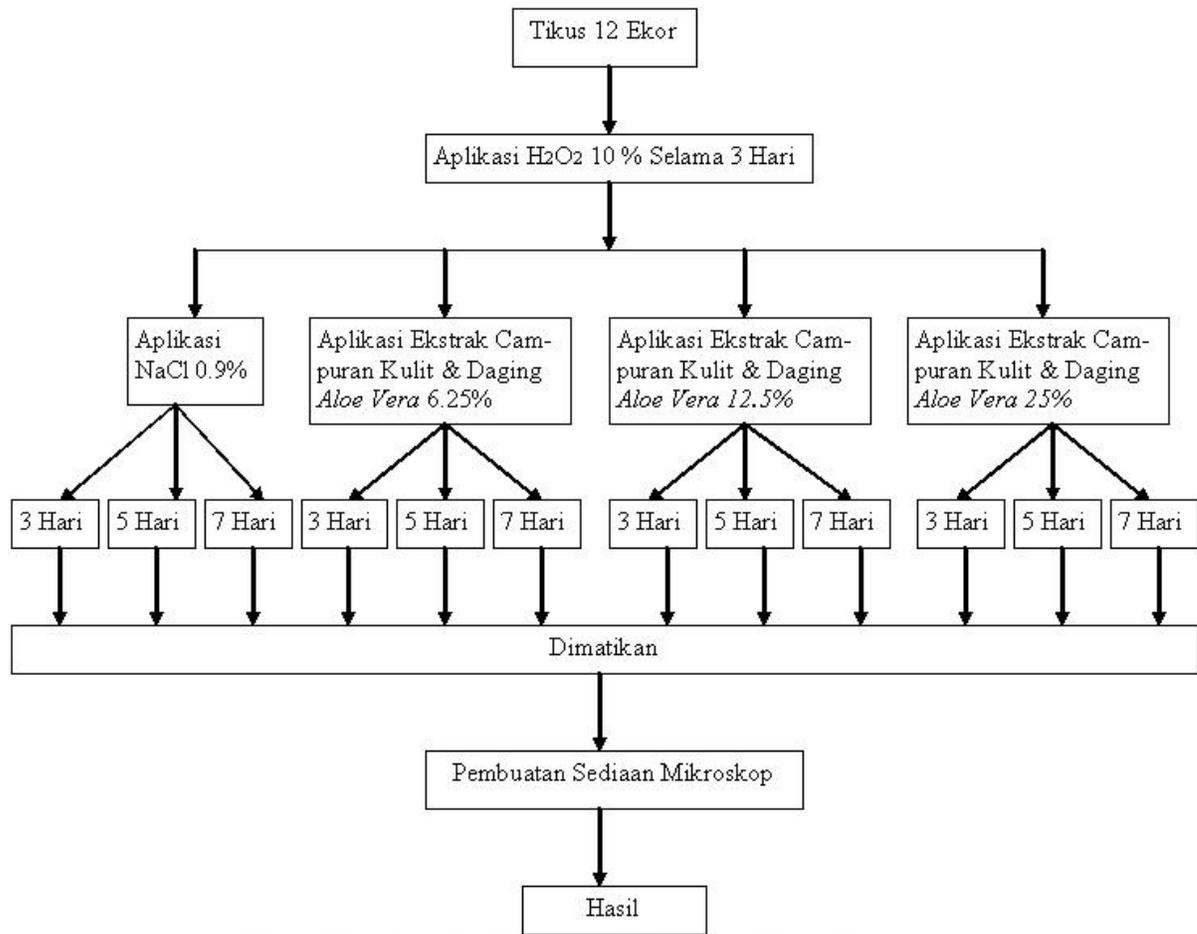
3. Ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 6.25%, 12.5% dan 25%
4. Larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %
5. Cotton Buds
6. Larutan Formalsaline 10%
7. Eter 5 %
8. Pewarnaan HE (Hematosiklin Eosin)

#### 4.5 Variabel Penelitian

1. Variabel dependen : Skor penyembuhan ulserasi mukosa mulut
2. Variabel independen : Ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 6.25%, 12.5%, dan 25%



#### 4.6 Skema penelitian



#### 4.7 Definisi Operasional

##### 4.7.1 Ulserasi mukosa mulut

Adalah luka terbuka pada mukosa mulut setelah diaplikasi dengan Hidrogen peroksida 10%.

##### 4.7.2 Ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 6.25%, 12.5% dan 25%

Adalah kandungan campuran kulit dan daging *Aloe vera* (*the whole leaf Aloe vera*) yang dibuat dengan cara di-press menggunakan vakum kemudian diambil cairannya (berwarna kuning), yang selanjutnya diencerkan dengan menambahkan akuades.

1. Ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 6.25% adalah larutan ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* yang diencerkan dengan aquades dengan rasio 1:16
2. Ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 12.5% adalah larutan ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* yang diencerkan dengan aquades dengan rasio 1:8
3. Ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 25% adalah tepung kulit aloe vera yang diencerkan dengan aquades dengan rasio 1:4.

#### **4.7.3 Penyembuhan ulserasi mukosa mulut**

Adalah proses penyembuhan yang terjadi pada ulserasi mukosa mulut yang dinilai dengan skor radang sebagai berikut :

0 : jaringan tampak normal, lapisan epitel utuh, ukuran pembuluh darah normal

1 : lapisan epitel utuh, tampak adanya pelebaran pembuluh darah

2 : lapisan epitel tidak utuh, tampak adanya pelebaran pembuluh darah dan mulai terdapat sel radang kronik.

3 : lapisan epitel tidak utuh, tampak adanya pelebaran pembuluh darah dan terdapat sel radang kronik dalam jumlah sedang dan berkelompok disekitar epitel

4 : lapisan epitel tidak utuh, tampak adanya pelebaran pembuluh darah dan terdapat sel radang kronik yang memadat hampir pada semua jaringan, serta ada terobosan sel radang kronik ke jaringan submukosa.

Penetapan skor diatas merupakan kombinasi dari skor yang digunakan Eda<sup>24</sup> dan Schlossberg<sup>25</sup>.

#### **4.8 Prosedur Penelitian**

##### **4.8.1 Persiapan Ekstrak Campuran Kulit dan Daging *Aloe vera***

*The whole leaf Aloe vera* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Kavera, yaitu salah satu pusat penelitian milik FMIPA Universitas Indonesia.

#### 4.8.2. Perlakuan Pada Hewan Coba

1. Tikus 12 ekor dipersiapkan.
2. Pada hari pertama sampai hari ke 3, dengan menggunakan *cotton buds* pada semua tikus diaplikasi dengan larutan  $H_2O_2$  10% pada daerah vestibulum labial inferior sebanyak 3x5 menit.
3. Tikus dikelompokkan secara acak menjadi empat kelompok. Kelompok Kontrol (3 ekor tikus) dan kelompok Perlakuan (9 ekor), masing-masing dibagi dalam 3 kelompok aplikasi yang terdiri dari tiga ekor.
4. Kelompok Perlakuan I diaplikasi dengan ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 6.25%. Kelompok Perlakuan II diaplikasi dengan ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 12.5%. Kelompok Perlakuan III diaplikasi dengan ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 25%.
5. Pada hari ke-4, 5, 6:
  - a. Kelompok Kontrol diaplikasi dengan larutan isotonis NaCl selama 3x5 menit dalam selang waktu 90 menit.
  - b. Kelompok Perlakuan I diaplikasi dengan ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 6.25%, sebanyak 3x5 menit dalam selang waktu 90 menit.
  - c. Kelompok Perlakuan II diaplikasi dengan ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 12.5% sebanyak 3x5 menit dalam selang waktu 90 menit.
  - d. Kelompok Perlakuan III diaplikasi dengan ekstrak campuran kulit dan daging *Aloe vera* 25%, sebanyak 3x5 menit dalam selang waktu 90 menit.
6. Pada hari ke-7:
  - a. Satu ekor tikus dari Kelompok Kontrol dimatikan dengan inhalasi eter 5%. Kemudian dibuat spesimen labium rahang bawah, difiksasi dengan formalsaline 10% dan dibuat sediaan mikroskopik.
  - b. Masing-masing satu ekor tikus dari Kelompok Perlakuan dimatikan dengan inhalasi eter 5%. Kemudian dibuat spesimen labium rahang

- bawah, difiksasi dengan formalsaline 10% dan dibuat sediaan mikroskopik.
- c. Sisa tikus diperlakukan sama seperti pada hari ke-4, sampai hari ke-9.
7. Hari ke-10:
- a. Satu ekor tikus dari Kelompok Kontrol dimatikan dengan inhalasi eter 5%. Kemudian dibuat spesimen labium rahang bawah, difiksasi dengan larutan formalsaline 10% dan dibuat sediaan mikroskopik.
  - b. Masing-masing satu ekor tikus dari Kelompok Perlakuan dimatikan dengan inhalasi eter 5%. Kemudian dibuat spesimen labium rahang bawah, difiksasi dengan larutan formalsaline 10% dan dibuat sediaan mikroskopik.
  - c. Sisa tikus diperlakukan sama seperti pada hari ke-4, sampai hari ke-11.
8. Hari ke-12 seluruh sisa tikus dimatikan dengan inhalasi eter 5%. Kemudian dibuat spesimen labium rahang bawah, difiksasi dengan formalsaline 10% dan dibuat sediaan mikroskopik.
9. Dengan menggunakan mikrotom, semua spesimen diiris dengan ketebalan 5  $\mu\text{m}$  dan dibuat sebanyak 50 irisan. Irisan yang diambil adalah irisan ke 10,20,30,40,50 kemudian dipulas dengan Hematosiklin Eosin (HE) untuk pembuatan sediaan mikroskopik. HE mewarnai jaringan berdasarkan tingkat pH. Hematoksilin bersifat basa dan mewarnai komponen jaringan yang bersifat asam (inti atau asam nukleat). Eosin bersifat asam dan mewarnai komponen jaringan yang bersifat basa (sitoplasma, otot, jaringan ikat, sel darah merah, matriks tulang)<sup>26</sup>. Dari tikus yang ada diperoleh 60 sediaan mikroskopik
10. Sediaan mikroskopik dilihat dibawah mikroskop cahaya Olympus tipe BH-2
11. Perbandingan antar kelompok dilakukan secara mikroskopik dengan pembesaran 4x dan 10x dan masing-masing sediaan dinilai dengan menggunakan metode skoring kombinasi Eda<sup>24</sup> dan Schlossberg<sup>25</sup>.

#### 4.9 Analisis Data

Data-data ulserasi mukosa mulut yang diperoleh pada setiap kelompok penelitian dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dan Mann-Whitney<sup>27</sup>.

