

Lampiran 7

PENJELASAN PERLAKUAN HEWAN COBA

A. Perlakuan Sebelum Penelitian

Tikus dipelihara dan diadaptasikan dalam laboratorium selama 1 minggu pada temperatur ruangan konstan (20-25°C) dengan 12 jam siklus terang-gelap (Gibson and Skett, 1994). Untuk tempat pemeliharaan digunakan box plastik berukuran 15 x 30 x 42 cm³, masing-masing untuk 4-5 ekor tikus, ditutup dengan kawat kasa, dan diberi alas sekam yang diganti setiap 3 hari sekali. Kebutuhan makanan tikus dewasa adalah 50 gr/hari/ekor. Diet normal terdiri dari 67% *Comfeed* PAR-S, 33% terigu dan air secukupnya (Anwari, 2003).

B. Perlakuan Selama Penelitian

Prosedur Pencabutan Gigi

Sebelum dilakukan pencabutan gigi insisivus kanan rahang bawah, pada masing-masing tikus perlu dilakukan anestesi dengan ketamine 0,2 ml secara intraperiotenal sehingga tikus menjadi tidak sadarkan diri. Sebelum dianestesi, dibagian yang akan di anestesi di sterilisasi dengan povidone iodine. Di bawah efek anestesi, gigi tikus tersebut dicabut dengan menggunakan *needle holder modifikasi*. Pencabutan gigi dilakukan searah dengan soket gigi dan dilakukan secara hati-hati dengan kekuatan yang sama untuk meminimalisir patahnya gigi. kemudian soket diirigasi dengan larutan akuades steril. Setelah dilakukan pencabutan dan perlakuan, hewan coba diberi analgesik novalgin 500mg/KgBB untuk menghindari tikus mati dini dan diberi makanan secukupnya dengan menjaga kesehatan hewan coba.

Pemberian Ekstrak Persea americana

Pemberian ekstrak Alpukat atau *Persea americana* diberikan sekali sehari secara per oral setelah pencabutan gigi selama 5 hari. Pemberian pada kelompok perlakuan I (150 mg/Kgbb/hari ekstrak), II (300 mg/Kgbb/hari ekstrak), dan III (450 mg/Kgbb/hari ekstrak) secara per oral (p.o) dengan menggunakan spuit yang ujungnya dipasang sonde *gastric* sehingga dapat masuk ke mulut tikus hingga ke lambung. Pemberian dilakukan satu kali per hari sebanyak 1 ml.

Perawatan Pasca Pencabutan Gigi

Sebelum dan sesudah pencabutan cara pemberian makannya berbeda. Untuk menghindari gangguan penyembuhan luka pada soket dan rasa sakit pada soket karena makanan. Sebelum pencabutan, pemberian makanan berupa Comfeed tanpa pengenceran, sedangkan untuk pemberian makanan setelah pencabutan gigi dengan mengencerkan makanan tikus dan pemberiannya dilakukan secara per oral dengan sonde *gastric* yang langsung menuju lambung tanpa melewati mulut. Pemberian makan dilakukan secara rutin setiap jam makan tikus. Selain itu juga dilakukan pemberian air minum dari air mineral secukupnya.

Setelah dilakukan pencabutan, tikus langsung diberi analgesik untuk mengatasi rasa sakit. Obat yang digunakan adalah Novalgine 500 mg/ml untuk analgesic dengan dosis 0,3 ml IM selama 1 hari.

Pembedahan Hewan Coba

Pengambilan sampel dimulai dengan terminasi hewan coba dengan larutan eter dosis lethal. Kemudian larutan alkohol 70% untuk sterilisasi scalpel dan larutan formalin 10% untuk fiksasi setelah rahang bawah tikus

diambil. Pada hari ke-5 dan ke-7 dilakukan eutanasia pada seekor tikus masing-masing kelompok perlakuan dengan menggunakan inhalasi eter dosis lethal. Sebelum disembelih dan diambil rahang bawahnya, konfirmasi kematian tikus harus dilakukan dengan cara melihat respirasinya. Apabila sudah tidak ada aktivitas respirasi, tikus disembelih dengan menggunakan scalpel nomor 11 dan diambil rahang bawah dimana terdapat gigi yang sudah dicabut. Rahang bawah tikus kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi larutan formalin 10% dan diberi label. Jasad *Rattus norvegicus* kemudian dikuburkan pada lubang sebesar 50 cm x 30 cm x 50 cm.

C. Perlakuan Setelah Penelitian

Insinerasi Hewan Coba

Semua sisa organ tikus yang sudah dibedah dan tidak terpakai dilakukan prosedur insinerasi secara layak. Sampah dari prosedur pembedahan yang tidak terpakai dibuang dalam satu kantong plastik, sampah medis dipisahkan tersendiri dan diserahkan ke Rumah Sakit Saiful Anwar untuk proses pembuangan. Insinerasi dilakukan di halaman belakang laboratorium Farmakologi dengan membuat lubang sebesar 50 cm x 30 cm x 50 cm untuk 24 tikus.

Pembuatan Preparat Jaringan

Hasil potongan mandibula didekalsifikasi dengan direndam dalam larutan EDTA (*Etilen Diamin Tetraasetat Acid*) 14% selama 30 hari untuk menunggu jaringan tulang mandibula menjadi lunak dan dapat dipotong kecil menjadi persegi panjang.

Teknik Pemrosesan Jaringan

Melakukan proses fiksasi, dehidrasi, *clearing* dan impregnasi dengan cara mencelupkan jaringan ke dalam larutan seperti di bawah ini sesuai dengan waktu yang telah ditentukan.

Proses Persiapan Sediaan Histologi

Jaringan mandibula diproses untuk membuat sediaan histologi dengan menggunakan teknik rutin dengan prosedur sebagai berikut (Syafriadi dkk, 2006) :

1. Mandibula dipotong dengan arah sagital labio-lingual pada daerah insisiv sentralis mandibula, mulai dari bagian ujung sampai dasar mandibula untuk dibuat sediaan histologi.
2. Potongan mandibula dimasukkan ke dalam *automatic tissue processor*, kemudian dehidrasi dengan alkohol 99% secara bertahap (dari konsentrasi rendah ke tinggi) untuk membersihkan sisa – sisa fiksatif.
3. Melakukan proses *clearing* dengan mencelupkan jaringan ke dalam larutan *xylol*.
4. Melakukan proses impregnasi dengan mencelupkan jaringan ke dalam larutan parafin.
5. Kemudian melakukan pembuatan blok (*embedding*).
6. Melakukan prosedur penanaman dengan infiltrasi parafin cair pada suhu 57-59°C ke dalam kotak parafin untuk mengisi rongga dalam jaringan yang ditempati oleh air sehingga terbentuk blok parafin.
7. Mendinginkan sebentar blok parafin di dalam *freezer* agar tidak terlalu lunak, kemudian letakkan blok parafin yang sudah menempel pada pemegannya pada *rotary mikrotom* dan lakukan pemotongan tipis sesuai ketebalan yang dikehendaki.

8. Memasukkan irisan jaringan ke dalam *water bath* pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$.
9. Menyeleksi dan memindahkan hasil sayatan ke atas *object glass* yang telah diolesi *egg albumin* dan diberi label.
10. Membiarkan sediaan jaringan kering dan masukkan ke dalam oven dengan suhu $58-60^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit.
11. Selanjutnya, melakukan deparafinasi dengan *xylol* dan rehidrasi dengan alkohol (dari konsentrasi tinggi ke rendah) untuk menghilangkan *xylol*. Membilas sediaan dengan air mengalir, kemudian melakukan pengecatan.

