

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*True Experimental*) dengan *post test only control group design* secara *in vivo* karena dalam penelitian ini menggunakan *rattus novergicus* sebagai kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dan sampel yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus Norvegicus*). Teknik pengelompokan menggunakan teknik *random sampling* karena hewan coba, bahan pakan, dan bahan penelitian adalah homogen. Dalam hal ini tikus coba mendapatkan peluang yang sama untuk menjadi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Sampel tikus putih (*rattus novergicus*) diperoleh dari Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Kriteria inklusi yang ditetapkan untuk diteliti adalah *rattus novergicus* jantan galur wistar yang sehat (tidak ada kelainan genetik, tidak cacat, mata jernih dengan bulu lebat dan tumbuh merata, serta tidak digunakan untuk penelitian lain) sebanyak 24 ekor dengan usia antara 2-3 bulan dengan berat badan 180-250 gram. Tikus putih harus dengan tingkat kesehatan dan pergerakan yang baik. Sedangkan kriteria eksklusi yang ditetapkan untuk diteliti adalah tikus putih yang sakit atau mati pada saat proses penelitian berlangsung.

Dalam penelitian ini terdapat 4 kelompok. Maka besar sampel penelitian yang diperlukan dapat ditentukan dengan menggunakan rumus (Supranto J, 2000):

$$(np - 1) - (p - 1) \geq p^2$$

$$(4n - 1) - (4 - 1) \geq 4^2$$

$$(4n - 1) - 3 \geq 16$$

$$4n \geq 20$$

$$n \geq 5$$

Dalam penghitungan diatas di dapat besar sampel minimal adalah 5, untuk menghindari adanya tikus yang sakit atau mati, maka pada penelitian ini digunakan sejumlah 6 ekor tikus *rattus norvegicus* untuk masing-masing kelompok. Kelompok I sebagai kelompok kontrol terdiri dari 6 ekor tikus tanpa pemberian gel ekstrak rimpang kunyit (kelompok kontrol) sedangkan pada kelompok II-IV sebagai kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari 6 ekor tikus yang akan diberikan gel ekstrak rimpang kunyit dengan dosis berbeda tiap kelompok (kelompok perlakuan).

Perencanaan konsentrasi gel ekstrak rimpang kunyit dalam penelitian ini menggunakan penelitian yang sudah ada sebelumnya yaitu mengacu pada penelitian Anggraeni, 2013, yaitu untuk konsentrasi I yang diberikan pada kelompok II menggunakan konsentrasi 2%, kemudian konsentrasi II pada kelompok III menggunakan konsentrasi 4%, serta konsentrasi III pada kelompok IV menggunakan konsentrasi 6%.

4.3 Variabel Penelitian

1. Variabel terikat: Jumlah sel epitel yang terlihat pada pemeriksaan histopatologi
2. Variabel bebas: Rimpang kunyit
3. Variabel moderator:
 - a. Pakan hewan coba
 - b. Kesehatan hewan coba
 - c. Lingkungan kandang (suhu, kelembaban, intensitas cahaya)

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan yaitu pada bulan Oktober-Januari, dengan rincian tempat penelitian:

- 1) Pembuatan Gel ekstrak rimpang kunyit di Laboratorium Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- 2) Pemeliharaan dan pemberian perlakuan pada hewan coba bertempat di Laboratorium ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- 3) Pengamatan sediaan Histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

Tentunya sebelum melakukan penelitian pada setiap prosedur digunakan masker dan sarung tangan.

4.5.1 Alat penelitian

- 1) *Electric blender*
- 2) Evaporator
- 3) Termometer suhu



- 4) Timbangan digital
- 5) Kandang hewan coba berukuran 15 x 30 x 42 cm² dengan penutup box berupa kawat kasa serta sekam sebagai alas box.
- 6) Tempat makanan dan minuman serta ruangan yang tidak terkena sinar matahari langsung.
- 7) Iecron dan *needle holder modifikasi*
- 8) *Syringe*
- 9) Sonde gastrik
- 10) Scalpel No. 11
- 11) Rotari mikrotom
- 12) wadah plastik
- 13) Gelas ukur
- 14) Toples plastik yang sudah diberi label untuk fiksasi
- 15) Mikroskop OLYMPUS seri XC10 yang dilengkapi software OLYVIA
(*viewer for imaging application*)
- 16) Kamera digital

4.5.2 Bahan penelitian

- 1) Ekstrak Rimpang kunyit (*curcuma longa linn.*)
- 2) Carbomer sebagai *gelling agent*
- 3) Etanol, sebagai pelarut
- 4) Makanan hewan coba berupa *comfeed*
- 5) Minuman berupa air putih (PDAM)
- 6) Anastesi ketamin 40 ml/Kg/BB
- 7) Anastesi ketamin 60 ml/Kg/BB
- 8) Larutan Pehacain 0,2 – 0-3 cc

- 9) Obat analgesik Novalgin 500 mg/ml dengan dosis 0,3 ml
- 10) Larutan eter dosis lethal
- 11) Larutan alkohol 70%
- 12) Larutan formalin 10% untuk Fiksasi jaringan
- 13) Alkohol dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95%, dan 100%
- 14) Larutan xylol/ xylene
- 15) Parafin
- 16) Larutan Hematoksilin dan Eosin untuk pengecatan
- 17) Air dan aquades
- 18) Kapas dan Kassa steril
- 19) Cover glass dan object glass

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Ekstrak Rimpang Kunyit

Bagian kunyit yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian rimpang dari kunyit yang dapat diperoleh di Materia Medika Batu, Malang. Dengan kriteria berwarna jingga kecoklatan atau berwarna kuning terang sampai kuning kehitaman. Warna daging rimpangnya jingga kekuningan (Winarto, 2003). Ekstrak dibuat dengan metode *maserasi* rimpang segar kunyit dengan menggunakan etanol 96%. Konsentrasi gel ekstrak rimpang kunyit yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2%, 4%, dan 6%. Kunyit yang telah menjadi gel diaplikasikan secara topikal dengan menggunakan *syringe* yang sudah dimodifikasi, ke dalam soket bekas pencabutan gigi yang sudah dibersihkan dengan menggunakan kassa steril.

4.6.2 Sel Epitel

Sel epitel yang diteliti dalam penelitian ini adalah sel epitel yang diambil dari mukosa puncak soket. Jumlah sel epitel yang terbentuk pada daerah luka bekas pencabutan gigi adalah banyaknya sel epitel pada hari ke-7 yang diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Sel epitel yang diamati merupakan sel epitel *squamous* stratified berwarna keunguan pada pewarnaan HE (*Hematoksilin Eosin*).

4.6.3 Soket gigi

Socket adalah lubang tempat terpasangnya bagian yang sesuai (Dorland, 1998). Dapat diartikan soket gigi adalah lubang dalam tulang alveolar pada rahang sebagai tempat akar gigi untuk melekat. Bagian soket gigi yang dimaksud dalam penelitian ini adalah soket gigi mandibula pada *rattus novergicus* yang nantinya dilakukan pembelahan secara sagital untuk dilakukan pembuatan sediaan histologi.

4.6.4 Pencabutan gigi

Extraction atau pencabutan merupakan tindakan menarik keluar (Dorland, 1998). Jadi Pencabutan gigi atau *tooth Extraction* adalah pengeluaran gigi dari soketnya yang kemudian akan menimbulkan luka bekas pencabutan. Pencabutan gigi dilakukan pada gigi incisivus kanan rahang bawah *rattus novergicus* galur wistar jantan dilihat dari segi efisiensi dan teknik pencabutannya. Pencabutan pada gigi anterior khususnya incisivus lebih mudah dan lebih aman daripada pencabutan pada gigi posterior seperti pada gigi molar. Karena incisivus bawah tidak tertanam terlalu kuat, pengungkitan dengan tang yang terkontrol tekanannya akan mengurangi kemungkinan terjadi fraktur (Peterson, 2003).

4.7 Prosedur penelitian

4.7.1 Prosedur Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Rimpang Kunyit

4.7.1.1 Prosedur persiapan sampel Rimpang kunyit :

- 1) Kunyit yang digunakan pada penelitian ini adalah rimpang kunyit yang didapatkan dari Materia Medika Batu, Malang.
- 2) Kunyit dibersihkan dengan cara dicuci dengan air.
- 3) Kunyit dipotong kecil dan tipis, kemudian keringkan dengan dijemur sinar matahari sampai kering/ dikeringkan menggunakan *oven*.
- 4) Kunyit yang sudah kering dihaluskan untuk dibuat serbuk menggunakan *electric blender* setelah jadi dalam bentuk bubuk kemudian di lakukan tahap ekstraksi dengan metode *maserasi*.

4.7.1.2 Prosedur Ekstraksi Rimpang kunyit :

- 1) Serbuk kunyit (*simplisia*) yang didapatkan dari rimpang kunyit, dimasukkan ke dalam wadah, setelah itu ditambahkan pelarut *etanol* (alkohol 96%) dengan perbandingan 10 : 1.
- 2) Kemudian direndam selama 24 jam dengan melakukan pengadukan secara berkala.
- 3) Setelah itu dilakukan penampungan *filtrat*.
- 4) Ampas yang didapatkan dari penyaringan kemudian direndam kembali dengan menggunakan *etanol* 96%. Prosedur ini dilakukan sebanyak 3 kali.
- 5) Setelah *filtrat* didapatkan maka dilakukan *evaporasi* dengan menggunakan evaporator hingga dihasilkan ekstrak semi padat *etanol* rimpang kunyit.

4.7.1.3 Proses Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Rimpang Kunyit :

Komponen Formula	Konsentrasi 2%	Konsentrasi 4%	Konsentrasi 6%
Rimpang Kunyit	0,02 ml	0,04 ml	0,06 ml
Carbomer	1,5 mg	1,5 mg	1,5 mg
TEA	0,56 ml	0,56 ml	0,56 ml
Gliserin	10 ml	10 ml	10 ml
Propilparaben	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml
Propilenglikol	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
Aquadest ad.	100 ml	100 ml	100 ml

Tabel 4.1 Formulasi Gel Mukoadhesif Ekstrak Rimpang Kunyit

Formulasi pembuatan sediaan gel ekstrak rimpang kunyit mengacu pada penelitian lina *et al*, 2012 (Tabel 4.1). Basis gel yang digunakan dalam penelitian adalah Carbomer. Adapun prosedur pembuatan gel ekstrak rimpang Kunyit:

1. Carbomer didispersikan terlebih dahulu ke dalam 100 ml aquades kemudian diaduk dan ditunggu selama 30 menit hingga terbentuk basis gel.
2. Selanjutnya ditambahkan komponen lain seperti Trietanolamin (TEA), Propilparaben, metilparaben dan gliserin sesuai takaran, kemudian diaduk sampai tercampur homogen.
3. Kemudian Ekstrak rimpang kunyit dimasukkan ke dalam basis gel tersebut dan diaduk hingga homogen. Kemudian sediaan gel masing-masing disimpan pada wadah yang tertutup rapat dan diberi label.

4.7.2 Pemilihan hewan coba

Hewan coba yang dipilih adalah tikus jantan galur wistar *rattus norvegicus* yang diperoleh dari Laboratorium ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. *Rattus norvegicus* jantan galur wistar sesuai dengan kriteria

sampel sebanyak 24 ekor dengan usia antara 2-3 bulan dengan berat badan 180-250 gram.

4.7.3 Perawatan hewan coba

Kandang hewan coba berukuran 15 x 30 x 42 cm² dengan pembagian tiap kandang berisi 3 ekor tikus wistar. Kandang dilengkapi dengan penutup box berupa kawat kasa serta sekam sebagai alas box. Tikus kemudian diadaptasikan selama 1 minggu dan diberi makanan berupa *comfeed* serta minuman air putih (PDAM) diletakkan dalam tempat makanan dan minuman serta ditempatkan dalam suhu ruangan dan tidak terkena sinar matahari secara langsung.

4.7.4 Proses pencabutan gigi tikus

Gigi tikus yang akan dicabut adalah gigi incisivus kanan rahang bawah, ditinjau dari teknik dan resistensi minimalnya terhadap komplikasi. Sebelum dilakukan anastesi, daerah operasi di sterilisasi dengan menggunakan alkohol 70%. Kemudian tikus diberi larutan general anastesi ketamin 40 ml/Kg/BB secara *intraperitoneal* terlebih dahulu. Selanjutnya dilakukan anastesi dengan larutan pehacain sebanyak 0,2 – 0,3 cc secara *submukous* tujuannya untuk mengkondisikan sesuai pencabutan gigi pada umumnya. Kemudian dilakukan pencabutan gigi dengan menggunakan lecron dan *needle holder modifikasi* yang sudah disterilisasi terlebih dahulu, lecron modifikasi dimasukkan ke soket dan digunakan untuk merusak stabilitas jaringan periodontal gigi tikus, kemudian menggunakan *needle holder modifikasi* untuk mengambil gigi dari dalam soket, dilakukan dengan gerakan searah dengan soket gigi dan dilakukan secara hati-hati dengan kekuatan yang sama untuk meminimalisir patahnya gigi. Kemudian perdarahan di kontrol menggunakan kasa steril dan daerah luka pada soket gigi



dibersihkan dengan aquades untuk menghilangkan debris dan sisa-sisa pencabutan gigi.

4.7.5 Proses Pemberian Gel Ekstrak Rimpang Kunyit

Pemberian gel ekstrak rimpang kunyit dilakukan satu hari pasca pencabutan gigi dengan menggunakan *syringe* yang dimodifikasi pada 4 kelompok yang berbeda, dengan rincian:

- 1) Kelompok I terdiri dari 6 ekor *rattus norvegicus* tanpa pemberian gel ekstrak rimpang kunyit.
- 2) Kelompok II terdiri dari 6 ekor *rattus norvegicus* menggunakan konsentrasi 2% gel ekstrak rimpang kunyit sebanyak 0,02 cc/ ekor/ hari.
- 3) Kelompok III terdiri dari 6 ekor *rattus norvegicus* menggunakan konsentrasi 4% gel ekstrak rimpang kunyit sebanyak 0,04 cc/ ekor/ hari.
- 4) Kelompok IV terdiri dari 6 ekor *rattus norvegicus* menggunakan konsentrasi 6% gel ekstrak rimpang kunyit sebanyak 0,06 cc/ ekor/ hari.

Setelah pemberian gel ekstrak selesai, tikus dirawat dengan diberi makan dan minum seperti biasa untuk menjaga agar tikus tetap dalam keadaan sehat.

4.7.6 Perawatan hewan coba pasca ekstraksi gigi

Untuk mencegah infeksi yang terjadi pada soket mandibuia *Rattus norvegicus*, maka selama 1 hari pasca ekstraksi, tikus diberi obat analgesik. Obat yang digunakan adalah Novalgin 500 mg/kg/BB dengan dosis 0,3 ml secara *intramuscular* selama 1 hari. Perawatan berupa pemberian makan dilakukan

setelah pencabutan gigi agar tikus tetap sehat setelah pemberian perlakuan. Untuk menghindari gangguan penyembuhan luka akibat pemberian makan, maka dilakukan pengenceran makanan dan pemberiannya melalui sonde gastrik yang dilewatkan melalui mulut tikus yang nantinya makanan dapat langsung masuk menuju lambung. Hal tersebut dilakukan secara rutin pagi dan sore hari. Selain itu pemberian minum secukupnya dengan air gula juga perlu dilakukan agar tikus dapat makan dengan normal kembali pasca dilakukan pencabutan gigi.

4.7.7 Pengambilan Sampel

Tikus dikorbankan dengan cara dimasukkan ke dalam *box* berisi gas anestesi eter dosis lethal hingga tikus dipastikan tidak bernyawa lagi. Dinyatakan tikus tidak bernyawa lagi dapat dilihat dari respirasinya dimana merupakan tanda tikus dapat bernafas, bila sudah tidak ada aktivitas respirasi, maka tikus dapat dilakukan pembedahan dan pengambilan pada rahang bawahnya. Selanjutnya semua kelompok baik kelompok kontrol dan perlakuan dilakukan pemotongan rahang bawah dilakukan dengan menggunakan scalpel No. 11 dan dilakukan pemotongan rahang bawahnya dimana sudah terdapat gigi yang sudah dicabut sebelumnya. Mandibula tikus yang sudah diambil nantinya dimasukkan ke dalam toples plastik yang sudah diisi dengan larutan formalin dan diberi label sesuai kelompoknya. Tidak lupa dengan memandang etik yang ada mengenai hewan coba, maka setelah dilakukan pengambilan, hewan coba dikuburkan dengan layak.



4.7.8 Pembuatan sediaan Histologi

Pada tahap ini dilakukan proses pengolahan jaringan dengan cara mencelupkan jaringan ke dalam larutan yang telah ditentukan sesuai proses seperti dibawah ini:

a) Fiksasi/ *fixation*

Dalam proses ini dilakukan pengambilan jaringan tubuh, yaitu pemotongan mandibula tikus dengan melakukan insisi menggunakan scalpel No. 11. Larutan yang digunakan untuk fiksasi adalah larutan formalin 10% karena merupakan larutan yang paling umum digunakan. Tujuannya untuk mengeraskan dan mengawetkan jaringan serta mencegah jaringan agar tidak membusuk. Proses ini dilakukan selama kurun waktu 2 jam. (Jusuf, 2009)

b) Dehidrasi

Dalam proses ini air ditarik kedalam jaringan dengan menggunakan alkohol secara bertahap sehingga nantinya dapat diisi dengan parafin untuk membuat blok preparat. Terdapat beberapa macam cairan yang dipakai dalam proses dehidrasi. Setelah jaringan selesai difiksasi jaringan dipindahkan kedalam alkohol mulai dari konsentrasi 70% selama 1 hari, alkohol 80% selama 1 hari, alkohol 90% selama 1 hari, alkohol 95% selama 1 hari, alkohol 95% selama 1 hari, alkohol 100% selama 1 hari, dan alkohol 100% selama 1 hari (Jusuf, 2009).

c) Pembeningan/ *Clearing*

Pembeningan merupakan tahap dimana alkohol dikeluarkan dari jaringan dan diganti dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Larutan yang digunakan dalam pembeningan jaringan

adalah xylol/ xylene. Setelah jaringan dikeluarkan dari cairan dehidrasi (alkohol), jaringan dimasukkan ke dalam xylol 1 selama 1 jam, kemudian dimasukkan kembali ke dalam xylol 2 selama 1 jam. Dilakukan pengulangan *clearing* agar dipastikan jaringan menjadi bening dan bebas dari cairan alkohol. Jaringan tidak dapat langsung masuk kedalam parafin bila masih mengandung alkohol disebabkan keduanya tidak dapat saling melarutkan (Jusuf, 2009).

d) Pembenaman/ *Embedding*

Pembenaman merupakan proses untuk mengeluarkan cairan pembening (*clearing agent*) dan diganti dengan parafin. Pada tahap ini jaringan harus bebas dari *clearing agent* karena cairan dapat mengkristal dan sewaktu dipotong dengan mikrotom akan mengakibatkan jaringan mudah sobek. Zat embedding yang digunakan adalah parafin cair panas (56-59°C). Jaringan direndam dalam parafin cair 1 (58-60°C) selama 2 jam, kemudian dimasukkan dalam parafin cair 2 (58-60°C) selama 2 jam. Setelah proses ini, jaringan dapat dimasukkan ke dalam blok parafin dan dilakukan pengecoran/ *Blocking* (Jusuf, 2009).

e) Pengecoran/ *Blocking*

Pada tahap ini dilakukan pembuatan blok preparat agar dapat dilakukan pemotongan dengan mikrotom. Untuk membuat blok preparat terdapat 2 cara yaitu:

1. Cara lama dengan menggunakan potongan besi berbentuk L (Leuckhart). Kemudian 2 buah potongan besi disusun diatas lembaran logam hingga rapat dan membentuk ruang seperti

kubus. Setelah itu menuangkan sedikit parafin cair di bagian pinggir tempat pertemuan potongan besi agar tak bocor. Jaringan kemudian dimasukkan ke dalam ruangan kubus. Selanjutnya parafin dituangkan ke dalam ruangan kubus tersebut. Gelembung udara diusahakan tidak masuk ke dalam blok parafin.

2. Cara baru yaitu dengan menggunakan cetakan dari plastik dan piringan logam. Dimana *histoplate* dari plastik diletakkan di atas piringan logam (seperti cetakan membuat es batu). Kemudian menuangkan sedikit cairan parafin ke dalam cetakan tersebut. Secepatnya memasukkan jaringan dengan menggunakan pinset yang telah dipanaskan (agar parafin tak beku) dan diatur posisinya di dalam cetakan. Parafin cair kemudian dituangkan kembali hingga menutupi seluruh cetakan tersebut. Selama tindakan ini cetakan (*histoplate* dari plastik) dan piringan logam harus diletakkan di atas *hot plate* (Jusuf, 2009).

f) Pemotongan (*Mounting*)

Pada tahap ini blok preparat dipotong dengan menggunakan mikrotom dengan langkah-langkah seperti berikut:

1. Rekatkan blok parafin yang mengandung preparat pada tempat duduknya di mikrotom. Tempat duduk blok parafin beserta blok parafinnya kemudian diletakkan pada pemegangnya (*holder*) pada mikrotom dan dikunci dengan kuat.
2. Letak pisau mikrotom pada tempatnya dan atur sudut kemiringannya. Biasanya sudut kemiringan berkisar 20-30 derajat.

3. Atur ketebalan potongan yang diinginkan, biasanya dipakai ketebalan antara 5-7 mikrometer
4. gerakkan blok preparat ke arah pisau sedekat mungkin dan potonglah blok preparat secara teratur dan ritmis. Buang pita-pita parafin yang awal tanpa jaringan hingga kita mendapatkan potongan yang mengandung preparat jaringan
5. Pita parafin yang mengandung jaringan lalu dipindahkan secara hati-hati menggunakan sengkeliit atau kuas kedalam waterbath yang temperaturnya diatur 37-40 derajat dan biarkan beberapa saat hingga poita parafin tersebut mengembang.
6. Setelah pita parafin terkembang dengan baik, tempelkan pita parafin tersebut pada kaca objek yang telah dicoated dengan cara memasukkan kaca objek itu kedalam waterbath dan menggerakkannya ke arah pita parafin. Dengan menggunakan sengkeliit atau kuas pita parafin ditempelkan pada kaca objek. Setelah melekat kaca objek digerakkan keluar dari waterbath dengan hati-hati agar pita parafin tidak melipat.
7. Letakkan kaca objek yang berisi pita parafin di atas hotplate dengan temperatur 40-45 derajat, biarkan selama beberapa jam. Cara lainnya adalah dengan melewati kaca objek di atas api sehingga pita parafin melekat erat di atas kaca objek.
8. Setelah air kering dan pita parafin telah melekat dengan kuat, simpan kaca objek berisi potongan parafin dan jaringan sampai saatnya untuk diwarnai (Jusuf, 2009).

g) Pewarnaan/ Staining

Penelitian ini menggunakan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) karena merupakan pewarnaan yang umum digunakan secara rutin. Pada pulsan HE digunakan 2 macam zat warna yaitu Hematoksilin yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik) serta eosin yang merupakan *counterstaining* hematoksilin, digunakan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dan memberikan warna merah muda dengan nuansa yang berbeda. Proses pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) adalah sebagai berikut:

1. Deparafinisasi dengan xylol selama 2x 2 menit
2. Hidrasi dengan serial Alkohol 100% selama 2x 2 menit – 95% selama 2 menit – 90% selama 2 menit– 80% selama 2 menit- 70% selama 2 menit– Distilled water selama 3 menit.
3. Inkubasi dalam larutan hematoksilin Mayers selama 15 menit
4. Cuci dalam air mengalir selama 15-20menit
5. Observasi di bawah mikroskop, bila masih terlalu biru cuci lagi di air mengalir selama beberapa menit. Bila sudah cukup warnanya lanjutkan ke langkah selanjutnya (Jusuf, 2009).

4.7.9 Pengamatan Jumlah sel epitel pada sediaan histologi mandibula

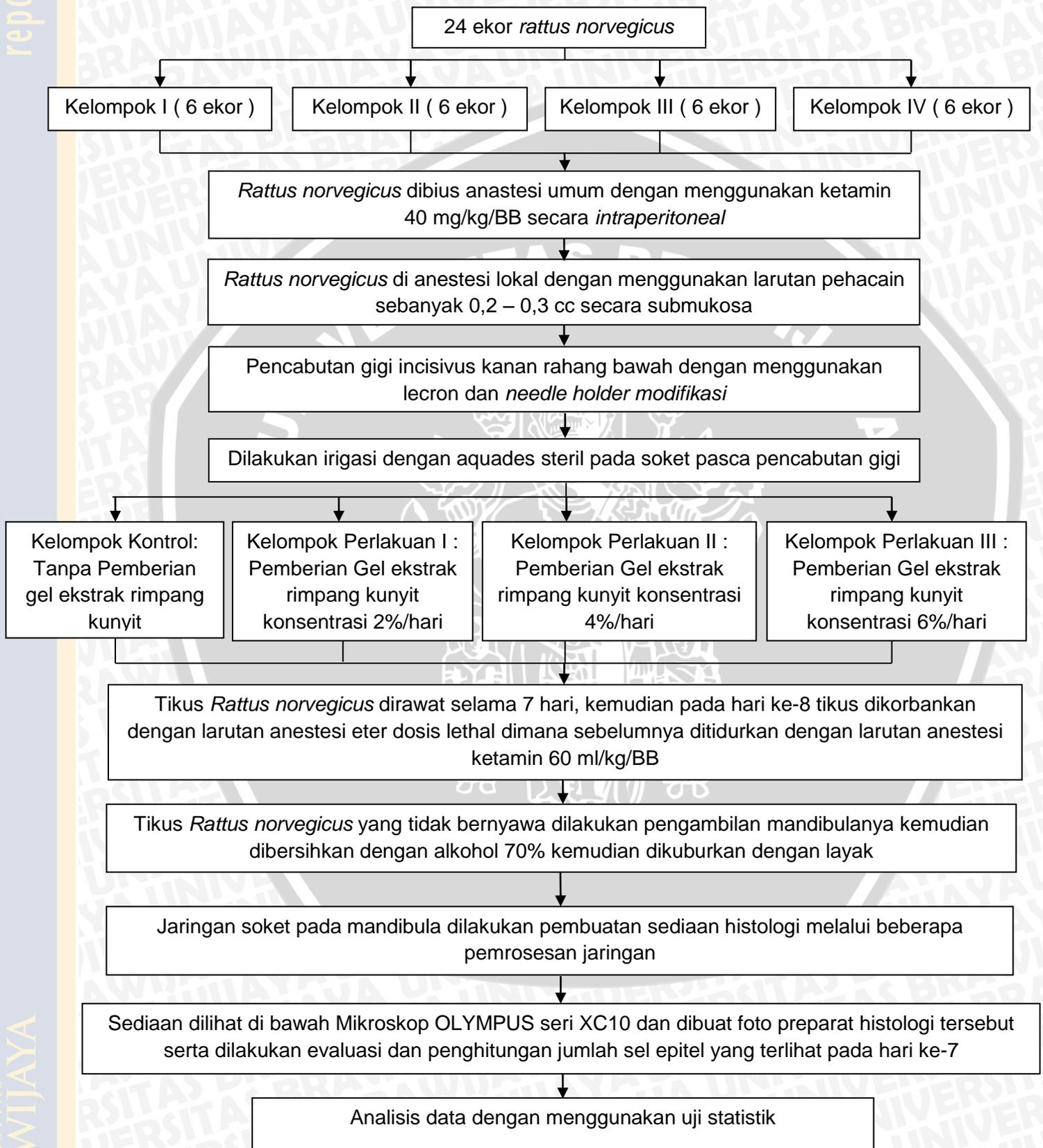
Rattus Norvegicus

Pengamatan jumlah sel epitel dilakukan secara histologis dengan menggunakan Mikroskop OLYMPUS seri XC10 yang dilengkapi software OLYVIA (*viewer for imaging application*) dan dibuat foto preparat histologi tersebut serta dilakukan evaluasi dan penghitungan jumlah sel epitel yang terlihat

pada hari ke-7, kemudian dilakukan perbandingan proses penyembuhan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.



4.8 Alur Penelitian



4.9 Analisa Data

Pengolahan data dilakukan dengan bantuan komputerisasi. Hasil penilaian tanda-tanda penyembuhan luka pasca pencabutan gigi didapat dari penelitian data jumlah sel epitel pada mukosa soket pasca pencabutan gigi dalam hitungan hari dengan signifikansi 0,05 ($p = 0,05$) dengan derajat kepercayaan 95%. Analisis data yang digunakan pertama kali adalah Uji normalitas data, Uji normalitas data berguna untuk menentukan data yang telah dikumpulkan berdistribusi normal atau diambil dari populasi normal atau tidak. Kemudian selanjutnya dilakukan uji homogenitas varian, tujuannya untuk menguji keberlakuan asumsi ANOVA. Jika didapatkan varian yang homogen, maka analisa dapat dilanjutkan dengan uji Oneway ANOVA. Uji Oneway ANOVA tujuannya untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok yang berbeda signifikan. Kemudian apabila hasil yang didapat bermakna dilanjutkan dengan Post Hoc test (uji *Honestly Significant Difference*) tujuannya untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dan hasil tes ANOVA. Uji post Hoc yang digunakan adalah uji Tukey dengan tingkat kemaknaan 95% ($p < 0,05$). Kemudian terakhir dilakukan uji Korelasi Pearson untuk mencari hubungan antara dua variabel yaitu variabel bebas dan terikat, yang telah ditentukan dari hasil uji Post Hoc (HSD) sebelumnya.