

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Desain yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental murni laboratorium yang dilakukan dengan hewan uji secara *in vivo*.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### 1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan Uji dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

##### 2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September 2015.

#### **C. Subyek Penelitian**

##### 1. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah gigi tikus jantan *Sprague Dawley* dengan berat badan 250-300 gram dan berumur 3-4 bulan yang diperoleh dari peternakan hewan uji di Condong Catur, Yogyakarta. Jumlah sampel masing-masing hari adalah 3 gigi ( $n=3$ ) dan total sampel sebanyak 9 gigi. Setiap 1 ekor tikus diambil 1 gigi yaitu gigi molar rahang atas kanan dan kiri, sehingga penelitian ini menggunakan 3 ekor tikus pada masing-masing hari. Jumlah tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 9 ekor.

## 2. Jaringan yang diamati

Jaringan yang diamati adalah pembuluh darah yang terdapat pada gigi molar tikus *Sprague Dawley* dengan pulpa terbuka hari 1, 3, dan 7.

### **D. Identifikasi Variabel Penelitian**

#### 1. Variabel Pengaruh

Pulpa terbuka akibat iatrogenik

#### 2. Variabel Terpengaruh

Pembuluh darah pada pulpa

#### 3. Variabel Terkendali

- a. Gigi tikus *Sprague Dawley* dengan berat 250-300 gram, berjenis kelamin jantan, dan berumur 3-4 bulan
- b. Makanan tikus
- c. Round bur no 10
- d. Sonde
- e. Kedalaman kavitas 1 – 1,2 mm (pulpa terbuka)

### **E. Definisi Operasional**

1. Pulpa gigi merupakan jaringan lunak yang terletak di daerah tengah pulpa. Jaringan pulpa membentuk, mendukung, dan dikelilingi oleh dentin.
2. Pulpa terbuka adalah pulpa yang terbuka akibat iatrogenik dengan diberikan jejas mekanis pada gigi tikus. Jejas mekanis pada penelitian ini didapatkan dari preparasi kavitas menggunakan round bur sedalam 1 hingga 1,2 mm<sup>2</sup> atau hingga mencapai pulpa (Puspita, et al., 2011).

3. Pembuluh darah yang mensirkulasi pada daerah pulpa adalah pembuluh darah aferen dan eferen yang memiliki fungsi untuk mengatur daerah pulpa dan gigi.
4. Jumlah vaskularisasi dinilai dengan cara menghitung jumlah jaringan vaskuler yang terdapat di area pulpa gigi bagian mesial dan distal mulai dari tanduk pulpa hingga bagian apikal (perhitungan dengan 4 lapang pandang).
5. Gambaran histologis pembuluh darah diperoleh dari preparasi histologi dengan pewarnaan HE yang diamati dibawah mikroskop perbesaran 400x (Permatasari, Soesanto, Simandjuntak, 2014)

#### **F. Alat dan Bahan Penelitian**

1. Alat Penelitian
  - a. Kandang tikus
  - b. Timbangan
  - c. S spuit injeksi (Terumo, Philippines)
  - d. *Round bur* no 10 diameter 1 mm<sup>2</sup> (Edenta, Swiss)
  - e. *Handpiece* (W&H, German)
  - f. Sonde (Dentika, Pakistan)
  - g. Bengkok
  - h. Pinset anatomis
  - i. Pinset sirugis
  - j. Scapel
  - k. Botol

- l. Spidol
  - m. Label
  - n. *Glass plate*
  - o. Mikroskop cahaya perbesaran 1000x (Olympus, Jepang)
2. Bahan Penelitian
- a. Masker
  - b. *Handsoen*
  - c. *Gloves*
  - d. Larutan anestesi diazepam cair dengan dosis yang ditetapkan berdasarkan rumus.
  - e. Cotton Bud, cotton ball
  - f. Kassa
  - g. Povidon Iodine
  - h. Alcohol swabs
  - i. Larutan desinfektan alcohol 90%
  - j. Bahan fiksasi buffer formalin 10%
  - k. Bahan dekalsifikasi asam formic
  - l. Hematoxylin eosin

#### **G. Jalannya Penelitian**

1. Mempersiapkan *ethical clearance* yang dikeluarkan oleh Komisi etik penelitian FKIK UMY
2. Disediakan 9 tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* sehat yang berumur 3-4 bulan dengan berat badan 250-300 gram. 9 tikus dibagi menjadi 3

kelompok sehingga masing masing hari terdapat 3 tikus. Masing-masing tikus diambil 1 gigi yaitu gigi molar rahang atas kanan dan kiri.

3. Tikus diaklimatisasi selama 3 hari sebelum perlakuan. Selama aklimatisasi tikus hanya diberi air putih dan pakan pellet.
4. Preparasi dilakukan pada 3 tikus dengan lama perlakuan 7 hari, kemudian pada tikus dengan lama perlakuan 3 hari dan selanjutnya pada tikus dengan lama perlakuan 1 hari
5. Dilakukan anestesi pada tikus menggunakan larutan anestesi *diazepam* dengan dosis yang telah ditentukan berdasarkan rumus

$$\text{Dosis (ml)} = \frac{\text{Berat tikus(g)} \times 7,5}{1000 \times 5}$$

Efek anestesi obat ditunggu selama 10-15 menit setelah injeksi

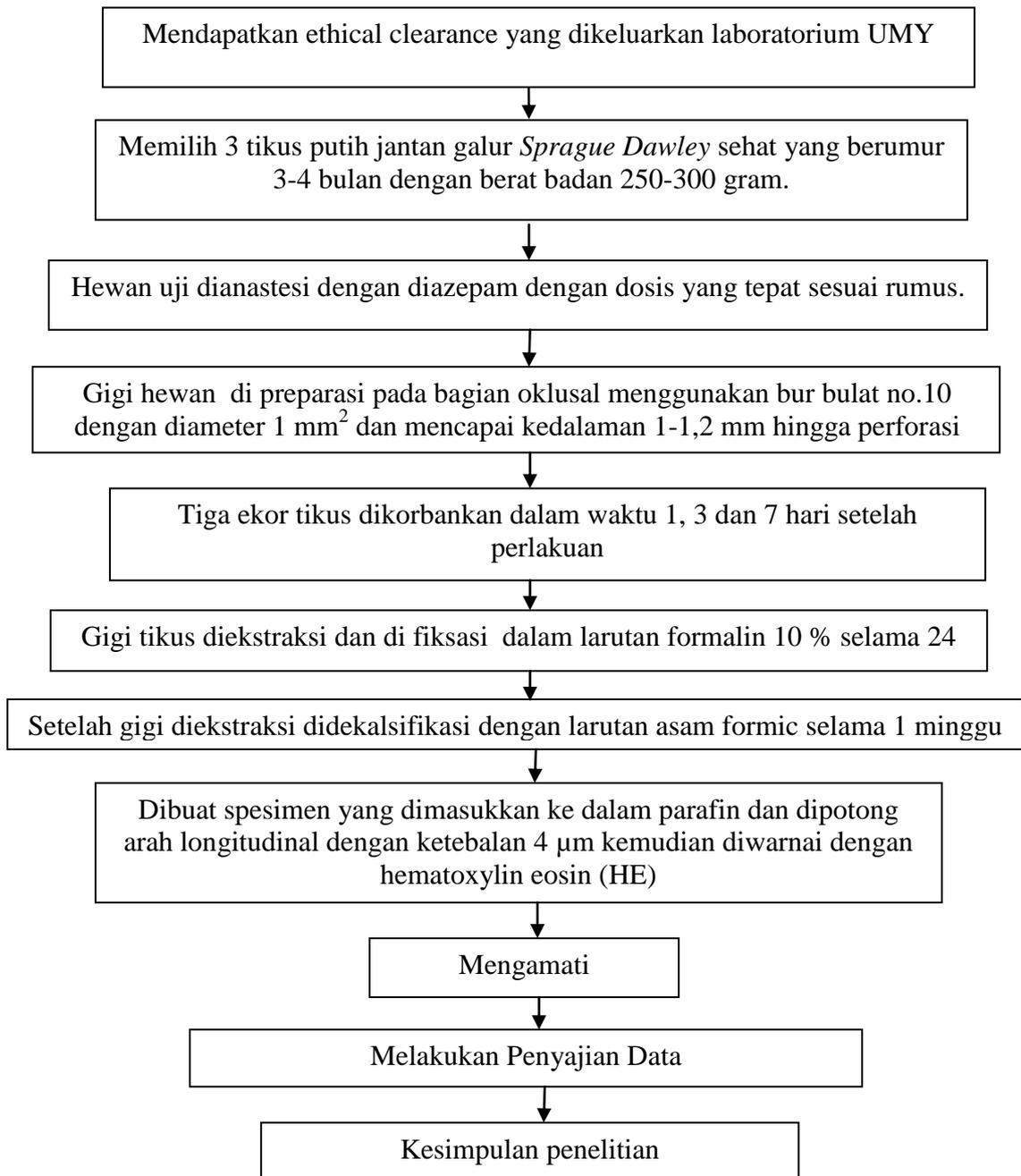
6. Dilakukan preparasi kavitas pada gigi tikus dengan kedalaman 1-1,2 mm (hingga perforasi pulpa) menggunakan round bur no 10 diameter 1 mm<sup>2</sup> dan aplikasi sonde penuh
7. Langkah ke 4 dan 5 diulangi pada kelompok gigi tikus dengan perlakuan hari yang berbeda
8. Tikus dengan gigi yang sudah diberi jejas dibiarkan selama masing-masing hari perlakuan ( 1, 3 dan 7 hari )
9. Sembilan ekor tikus dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan larutan chloroform untuk diambil gigi molar 1 kanan rahang atas yang telah di beri perlakuan ( jejas mekanik)
10. Dilakukan dekapitasi rahang tikus
11. 9 gigi difiksasi dalam larutan formalin 10% selama 24 jam

12. Gigi didekalsifikasi menggunakan larutan asam formic selama 1 minggu
13. Spesimen gigi ditanam ke dalam paraffin kemudian dipotong menggunakan mikrotom *rotary* mengarah longitudinal dengan ketebalan 4  $\mu\text{m}$
14. Pembuatan preparat HE
15. Mengamati gambaran vaskularisasi dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000x
16. Analisis data
17. Menarik kesimpulan dari hasil penelitian

#### **H. Analisis Data**

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan jumlah pembuluh darah yang terdapat di bagian gigi yang diberi jejas merupakan data numerik dengan skala rasio, selanjutnya dihitung rerata jumlah pembuluh darah berdasarkan kelompok. Data dilakukan uji normalitas terlebih dahulu menggunakan uji Saphiro-wilk ( $N < 50$ ) dan diuji homogenitas dengan uji Levene. Penelitian ini menggunakan uji ANOVA satu arah (*one way ANOVA*) untuk mengetahui pengaruh lamanya pulpa terbuka akibat jejas mekanis terhadap jumlah pembuluh darah. Selanjutnya untuk melihat signifikansi perbedaan jumlah vaskularisasi masing-masing kelompok dilakukan uji Tukey.

## I. Alur Penelitian



Gambar 2. Sketsa Alur Penelitian