

### BAB III

#### METODELOGI PENELITIAN

##### 1. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah laboratorium berbasis eksperimental. Penelitian ini menggunakan 12 ekor marmut jantan (*Cavia cobaya*) yang dibagi menjadi 2 kelompok. Perlakuan yang akan diberikan gel getah jarak tintir (*Jatropha multifida L*) secara topikal adalah pada kelompok 1, pada kelompok 2, sebagai kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan apapun. Pemberian gel getah jarak tintir, dilakukan setiap hari sebanyak 1 kali pada siang hari pukul 12.00 WIB. Perlakuan diberikan sampai luka pada gingiva marmut jantan pasca pencabutan menutup sempurna atau sembuh dan sesuai dengan parameter yang telah ditetapkan.

##### 2. Tempat dan Waktu

###### 1. Tempat

Penelitian dilakukan di:

- a. Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) unit III, untuk pembuatan gel
- b. Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) unit IV, untuk pemeliharaan marmut dan pencabutan gigi marmut

###### 2. Waktu

Penelitian dilakukan pada bulan juni sampai dengan september 2011.

### **C. Populasi dan Sampel Penelitian**

Pengambilan sampel dilakukan secara acak (metode random), pada populasi sebanyak 12 marmut yang memenuhi syarat. Populasi sebanyak 12 marmut yang mana dari populasi tersebut dibagi menjadi 2 kelompok sehingga, tiap-tiap kelompok terdapat 6 ekor marmut. Subyek penelitian ini adalah marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diperoleh dari LPPT Unit IV UGM, dimana marmut tersebut dibeli dari peternakan yang ada di daerah Bantul. Marmut tersebut dibeli oleh pengelola atau teknisi hewan dari LPPT Unit IV. Marmut yang digunakan adalah berjenis kelamin jantan dengan berat sekitar 250-350 gram dengan usia 3-3,5 bulan.

### **D. Kriteria Inklusi dan eksklusi**

#### **1. Kriteria Inklusi**

- a. *Cavia cobaya* jantan yang berumur 3-3,5 bulan
- b. Berat badan *cavia cobaya* 250-350 gram dan tidak boleh berbeda jauh, agar perbandingan lebih valid
- c. *Cavia cobaya* tidak cacat
- d. *Cavia cobaya* yang memiliki waktu perdarahan yang normal yaitu 3-8 menit (dilakukan tes perdarahan terlebih dahulu dengan metode Duke)

#### **2. Kriteria eklusi**

- a. *Cavia cobaya* bukan berjenis kelamin jantan dan berumur lebih dari bulan 3-3,5
- b. Berat badan *cavia cobaya* memiliki perbedaan sangat jauh

- c. Cavia cobaya sakit atau mati saat penelitian
- d. Cavia cobaya memiliki cacat (mempunyai kelainan kongenital)

## **E. Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi oprasional**

### **1. Identifikasi variabel**

#### **a. Variabel Pengaruh**

Variabel pengaruh pada penelitian ini adalah getah jarak tintir.

#### **b. Variabel Terpengaruh**

Variabel terpengaruh pada penelitian ini adalah penyembuhan luka pasca pencabutan gigi incisivus rahang atas

### **2. Variabel terkendali**

Sebagai variabel terkendali adalah sebagai berikut:

1. Jenis kelamin marmut adalah jantan
2. Umur marmut berusia kurang lebih 3-3,5 bulan
3. Berat badan marmut 250-350 gram
4. Keadaan marmut yang tampak sehat (tidak sakit dan tidak mempunyai cacat kongenital)
5. Pakan marmut
6. Kandang marmut
7. Gigi yang dicabut adalah gigi incisivus rahang bawah.
8. Bahan anestesi menggunakan ketamin secara injeksi intra muskuler
9. Alat pencabutan gigi yaitu ekskavator, sonde dan klem
10. Penentuan waktu perdarahan dengan menggunakan *stopwatch*
11. Pembuatan gel getah jarak tintir dan bahan basis (dasar) gel

### 3. Variabel tak terkendali

Sebagai variabel tak terkendali adalah sebagai berikut:

1. Kondisi sistemik marmut
2. Nilai ambang rasa sakit
3. Bakteri dalam rongga mulut marmut
4. Psikologis marmut (stress)

### 4. Definisi operasional penelitian

#### a. Jarak tintir

Jarak tintir merupakan tanaman yang berasal dari Amerika yang beriklim tropis, dalam bahasa Inggris tanaman ini dinamakan *coral plant*. Jenis tanaman ini adalah perdu tegak, dengan ketinggian bisa mencapai 2-4 m, bunganya berwarna merah dan bijinya mengandung racun, memiliki rasa agak pahit dan getahnya akan membuat luka terasa agak perih. Dibalik rasa perihnya jarak tintir mempunyai efek farmakologis diantaranya penurunan panas, anti-inflamasi, dan menghambat pendarahan.

#### b. Gel

Gel merupakan sistem semi padat (massa lembek) yang dapat diberikan untuk penggunaan topikal atau dimasukkan ke dalam lubang tubuh. Keuntungan dari gel adalah menyerap dan mengandung banyak air, bersifat mendinginkan sehingga dapat mengurangi rasa perih dari getah jarak itu sendiri (Syamsuni, 2005).

c. Penyembuhan luka

Penyembuhan luka melalui reaksi radang yang tujuan utamanya ialah membentuk jaringan parut yang keras, untuk menggabungkan bagian luka dan mengembalikan fungsinya. Terjadinya penyembuhan luka melalui mekanisme hemostasis, pengurangan sel-sel radang dan pembentukan kolagen dari sel-sel fibroblas (Sabiston, 1992).

Parameter atau indikasi yang digunakan atau menyatakan luka bekas pencabutan gigi dapat dikatakan sembuh adalah:

- a. merapatnya jaringan yang luka
- b. tidak ada pernanahan
- c. tidak ada lesi dan warna kemerahan (Sjamsuhidajat & Jong, 1997).

Parameter tersebut diatas dapat tercapai dalam jangka waktu 3 minggu sampai 1,5 bulan, namun untuk penutupan luka yang sempurna (fase remodelling) dapat terjadi selama berbulan-bulan bahkan bertahun-tahun. Mengetahui ada tidaknya eksudat, maka dapat dilakukan penekanan dengan menggunakan jari telunjuk, pada daerah luka (Sari, 2009). Secara histologi parameter luka yang menunjukkan luka pasca pencabutan gigi telah sembuh adalah:

- a. merapatnya lapisan epidermis (re-epitalisasi)
- b. pembentukan neokapiler (neokapilarisasi)
- c. pembentukan sel-sel fibroblas yang ada dalam luka.

Waktu penyembuhan dihitung dalam hari yang berdasarkan indikator kesembuhan yang bisa dihitung persentase penyembuhan lukanya. Proses penyembuhan luka jaringan khusus seperti pembuluh darah, tergantung dari besarnya luka, derasnya arus darah yang keluar dan kemampuan tampon jaringan sekitarnya (Sjamsuhidajat & Jong 2004).

- d. Ekstraksi/ pencabutan gigi

Merupakan suatu proses bedah sederhana yang dapat dilakukan dengan menggunakan tang, elevator dan peralatan lainnya yang bertujuan untuk memisahkan gigi dari soket pada tulang alveolar (Dental dictionary, 2008). Pencabutan gigi bersifat *irreversibel* yang artinya gigi yang dicabut tidak akan tumbuh kembali kecuali untuk gigi decidui, yang mana gigi penggantinya (gigi permanen) akan tumbuh untuk menggantikan posisi gigi yang sudah dicabut, dapat pula diartikan bahwa pencabutan gigi adalah mengambil gigi dari rongga mulut menggunakan tang dan elevator (Howe, 1999).

e. Marmut (*Cavia Cobaya*) jantan

Merupakan hewan mamalia berdarah panas yang merupakan hewan asli asal Amerika selatan. Marmut memiliki 20 gigi, yaitu sepasang gigi incisivus rahang atas dan rahang bawah, sepasang premolar atas dan bawah dan 3 pasang molar atas dan bawah. Gigi caninus tidak dimiliki oleh binatang ini dikarenakan jenis hewan ini adalah hewan pengerat. Dilakukan uji dengan mengambil darah marmut bertujuan untuk mengetahui apakah marmut mempunyai waktu perdarahan yang normal atau tidak, sehingga untuk mengambil darah yang sedikit kurang dari 0,25 cc maka, dapat diambil melalui telinga yaitu pada bagian vena tepi dan untuk pengambilan darah dengan jumlah yang banyak, dapat diambil melalui jantung, atau vena metatarsal (Sutherland and Festing, 1987).

## F. Instrumen Penelitian

### 1. Alat penelitian

Alat penelitian yang digunakan adalah:

#### a. Alat utama

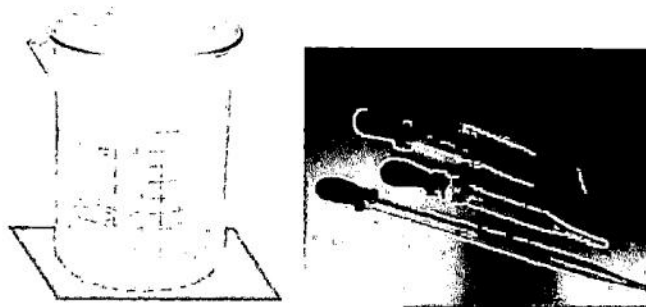
1. Seperangkat alat pencabutan yaitu ekskavator, sonde dan klem
2. Seperangkat alat pembuat gel yaitu gelas ukur, gelas breker, botol tampung getah jarak, pipet tetes, neraca analitik, dan pengaduk

b. Alat bantu

1. Kandang marmut diberi kode nomor
2. Timbangan berat badan dan timbangan analitik
3. Pinset
4. Sarung tangan
5. Masker wajah
6. Stopwatch
7. *Cotton bud*
8. Kertas
9. Spuit injeksi 1 ml



**Gambar 3. Alat untuk pencabutan**



**Gambar 4. Alat gelas breker dan pipet tetes (dari kiri ke kanan)**



Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

a. Bahan utama

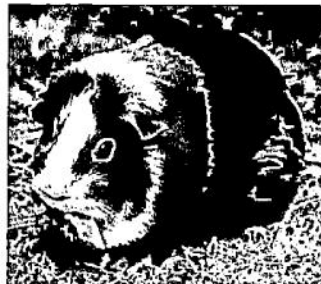
1. Tanaman jarak tintir (*Jatropha multifida L*) dan bagian yang diambil adalah getah dari tanaman tersebut.
2. Marmut (cavia cobaya) jantan sebanyak 12 ekor

b. Bahan bantu

1. Bahan dasar pembuatan gel seperti *natrium CMC (CMC-Na)* 5 gr dan 100 gr (10%), akuades steril.
2. Larutan eter dan ketamin
3. Alkohol 70%



**Gambar 5. Bahan CMC-Na**



**Gambar 6. Jarak tintir dan marmut jantan**

## G. Cara kerja

### a). Tahap Persiapan

#### 1. Pengambilan getah

Tanaman jarak yang akan diambil getahnya ini, tumbuh di dataran rendah di wilayah Ngebel, Kecamatan Kasihan Kabupaten Bantul. Pengambilan getah jarak dilakukan di pekarangan rumah salah seorang penduduk di wilayah Ngebel. Pengambilan getah jarak tintir, dengan cara mematahkan rantingnya kemudian getah diambil atau diteteskan kedalam botol yang tersedia.

#### 2. Proses pembuatan gel

Pembuatan gel getah jarak tintir terdiri dari bahan basis gel dan sebagai basis digunakan bahan-bahan seperti *natrium CMC (CMC-Na) 5 gr (5%)* dan *akuades 100 gr (10%) steril*.

Adapun proses pembuatan gel adalah sebagai berikut:

- a. Siapkan bahan dasar pembuat gel yaitu serbuk CMC-Na.
- b. Timbang CMC-Na seberat 5 gr, masukan ke dalam gelas ukur.
- c. Larutkan bahan dasar dengan akuades sebanyak 100gr sedikit demi sedikit dan di aduk sampai rata
- d. Selanjutnya tambahkan getah jarak tintir 5 gr

- e. Masukkan getah kedalam gelas breker dan satukan dengan bahan dasar gel. Aduk sampai rata sehingga membentuk masa gel
- f. Setelah bahan menjadi padat maka, bahan tersebut di masukan ke botol gel dan disimpan di dalam lemari es bersuhu 4-6<sup>0</sup>C.

Dari hasil pembuatan gel diatas, maka akan dihasilkan gel yang berwarna bening ke kuning-kuningan

### 3. Cara pengaplikasian gel

- a. Siapkan gel getah jarak tintir
- b. Ambil gel dengan menggunakan spet dan dimasukan pada soket luka pasca pencabutan gigi marmut 1 x sehari yaitu pada pagi hari jam 12.00 WIB.
- c. Perlakuan tersebut terus dilakukan sampai luka pasca pencabutan pada marmut sembuh sesuai dengan indikator atau parameter sembuhnya luka.

### 4. Persiapan hewan uji

Sebelum dilakukan perlakuan pada marmut jantan, terlebih dahulu marmut diadaptasikan (diaklimatisasi) selama 3 hari. Hewan uji yang berjumlah 18 ekor kemudian dibagi menjadi 2 kelompok yaitu: kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (tanpa perlakuan), dimana tiap-tiap kelompok terdiri dari 9 ekor marmut jantan dan 3 marmut dari tiap kelompok

tersebut digunakan sebagai cadangan yang diperuntukan apabila salah satu dari obyek tersebut mati maka dapat diganti jadi total marmut yang digunakan 12 marmut. Masing-masing marmut ditempatkan pada kandang yang sama dan diberi nomer serta diletakkan pada kondisi lingkungan yang sama.

#### 5. Sterilisasi alat dan bahan

Pada penelitian ini, sebelum dilakukan penelitian diawali dengan proses sterilisasi alat dengan alkohol.

#### b). Jalanya Penelitian

##### 1. Menentukan waktu perdarahan (tes perdarahan)

Percobaan ini dilakukan untuk menilai factor hemostatis dan menentukan lama waktu perdarahan. Pada metode Duke, waktu perdarahan yang normal adalah 3-8 menit. Apabila terjadi kelainan darah, maka waktu perdarahan akan memanjang. Tes waktu perdarahan yaitu dengan metode Duke. Adapun cara kerjanya adalah:

- a. Bersihkan daun telinga marmut dengan alkohol 70%
- b. Sebelumnya marmut dianestesi dengan menggunakan ketamin (secara penyuntikan)
- c. Daerah telinga yang akan dilukai, dicukur bulunya dengan gunting, kemudian diberi luka sayatan dengan spiut injeksi 1 ml di vena pada bagian telinga marmut

sedalam 2 mm, jika terlihat darah keluar maka hidupkanlah *stopwatch*

- d. Isap tetesan darah yang keluar dengan menggunakan kertas saring setiap 30 detik keluarnya darah.
- e. Setelah darah berhenti maka matikan *stopwatch* kemudian catat waktunya (Guyton dan Hall, 2007).

## 2. Pencabutan gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan.

Pencabutan gigi marmut pada dasarnya sama seperti pencabutan gigi pada manusia, namun adanya perbedaan bentuk anatomi gigi marmut maka pencabutan gigi marmut tidak terlalu sulit. Marmut jantan yang berjumlah 12 ekor, dibagi menjadi 2 kelompok yang tiap kelompoknya terdiri dari 6 marmut yaitu kelompok perlakuan (kelompok I) dan kontrol negatif (kelompok II). Kelompok perlakuan diberi gel getah jarak tintir dan tanpa perlakuan untuk kelompok kontrol negatif. Pencabutan gigi marmut terlebih dahulu marmut diberi sedatif dengan menggunakan bahan ketamin dengan cara penyuntikan dan ditunggu efek sedatifnya, selanjutnya dilakukan separti pada gusi marmut untuk memisahkan antar gigi dengan bagian jaringan pendukung dengan menggunakan ekskavator. Cara ekstraksi gigi marmut yaitu tang diletakkan pada bagian servik gigi marmut kemudian gigi digerakan kearah lateral (labial dan

palatal) sampai gigi benar-benar terasa longgar, selanjutnya dilakukan rotasi dan kemudian gigi ditarik sampai terlepas dari jaringan pendukungnya (Budi, 2010).

3. Pemberian gel pada marmut (*Cavia cobaya*) jantan secara topikal

a. Pada kelompok 1

Pada kelompok 1 merupakan kelompok yang mendapatkan perlakuan dengan diberikan gel getah jarak tintir.

b. Pada kelompok II

Pada kelompok II tidak diberikan perlakuan apapun, penyembuhan luka terjadi secara alami.

Dilakukan pengamatan sebelum diaplikasikan bahan pada luka pasca cabut dari hari ke 0 hingga proses penyembuhan selesai dengan melakukan pengukuran berdasarkan parameternya yaitu:.

- a. merapatnya jaringan yang luka
- b. tidak ada pemanahan
- c. adanya jaringan granulasi
- d. ukuran luka mengecil
- e. berkurangnya atau tidak ada lesi warna kemerahan pada luka, hari ke 0-30 (Sabiston, 1995).

Luka diamati selama 30 hari yaitu sampai semua parameter luka tercapai, dan sebelumnya telah diaplikasikan terlebih dahulu bahan atau gel getah jarak tintir, jika parameter tersebut telah tercapai semuanya maka luka pasca pencabutan gigi dapat dikatakan sembuh.

c). Pengamatan hasil percobaan

Pemberian gel getah jarak tintir dilakukan 1 x sehari, yaitu pukul 12.00 WIB dan pengamatan secara klinis hasil perlakuan pada luka pasca pencabutan gigi dilakukan setiap hari sampai parameter kesembuhan tercapai semua dan terlihat adanya proses penyembuhan selanjutnya tetap diobservasi sampai hari ke 30. Setelah luka benar-benar menutup maka akan dilakukan penekanan dengan jari telunjuk pada bagian luka untuk mengetahui apakah luka tersebut masih mengeluarkan darah maupun cairan. Penilaian penyembuhan luka dihitung dalam hari yang berdasarkan indikator kesembuhan yang bisa dihitung persentase penyembuhan lukanya.

## H. Analisis data

Pengolahan data dilakukan secara komputerisasi menggunakan software SPSS 17. Perlu dilakukan uji normalitas dengan uji *Saphiro Wilk*. Selanjutnya analisa data menggunakan metode *Independent t test* jika sebaran data normal namun jika data sebaranya tidak normal maka pengolahan data menggunakan *Mann-Whitnet test*.

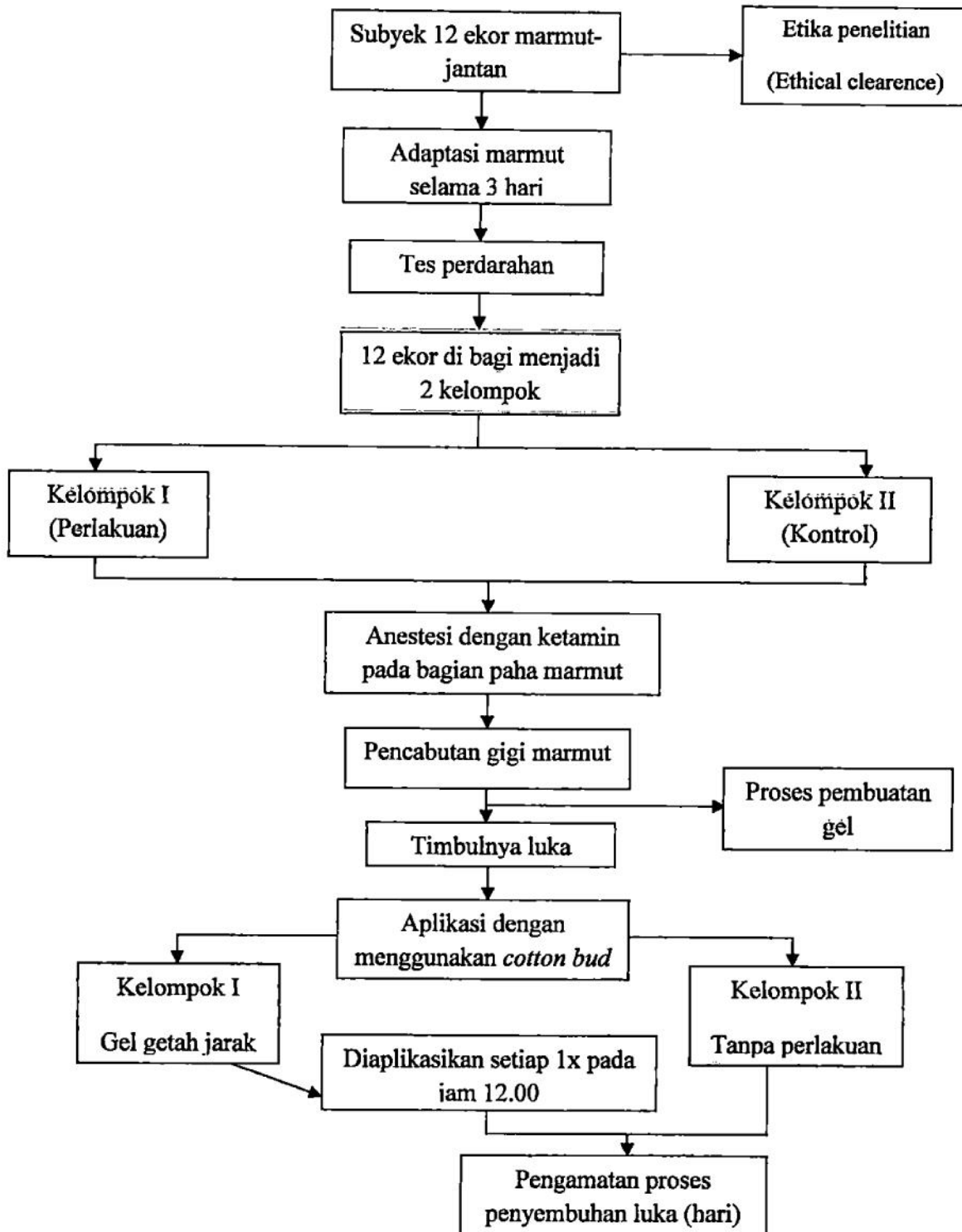
## **I. Etika penelitian**

Tujuan utama penelitian kedokteran adalah dapat mengumpulkan data, kemudian dilakukan perencanaan kegiatan medik klinik dan selanjutnya dapat dikembangkan baik secara biologik, klinik maupun sosial. Fungsi dari etika penelitian adalah sebagai alat untuk mengatur sopan santun atau tata tertib dalam melakukan sebuah penelitian.

Penelitian eksperimental umum, dilakukan dengan menggunakan hewan coba dan penelitian klinis dilakukan pada manusia. Keterbatasan dan sifat ekspansif pada manusia, maka diperlukan penelitian dengan menggunakan hewan coba sebagai penunjang, dengan maksud untuk memberikan jawaban pada keterbatasan yang ada pada subyek manusia sehingga, sebelum penelitian ini berlangsung atas dasar subyek penelitian berupa makhluk hidup (marmut jantan), maka diwajibkan untuk dilakukan uji etik atau etika penelitian yang bertujuan agar hewan tersebut diperlakukan dengan baik, dengan rasa kasih sayang dan tidak menyakiti.



## J. Skema Alur Kerja



Gambar 7. Alur penelitian