

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris dengan pendekatan *post test control group design*.

B. Sample Penelitian

Sample pada penelitian ini menggunakan plat resin akrilik *heat cure* dengan jumlah 9 sampel tiap kelompok perlakuan. Jumlah sampel didapatkan dari perhitungan rumus *Federer (1977)*

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

Keterangan:

t = banyak kelompok perlakuan

n = sampel tiap kelompok

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$(3-1)(n-1) \geq 15$$

$$2(n-1) \geq 15$$

$$2n-2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 9$$

Jadi, didapatkan jumlah sampel tiap kelompok minimal 9.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai 10 Desember 2016 dan berakhir pada 23 Desember 2016.

D. Subjek Penelitian

Subjek yang digunakan pada penelitian ini adalah biakan *Candida albicans*. *Candida albicans* yang digunakan adalah biakan murni yang dibiakan oleh Lab Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Pengaruh

Ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) dan sodium hipoklorit konsentrasi 0,5%.

2. Variabel Terpengaruh

Jumlah pertumbuhan *Candida albicans* pada plat akrilik.

3. Variabel Terkendali

- a. Konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh dan sodium hipoklorit
- b. Diameter plat resin akrilik 10mm dan ketebalan 2mm (Wahyuningtyas, 2008)

- c. Jenis plat resin akrilik: resin akrilik *heat cure merk Dentsply QC 20*.
 - d. Lama perendaman dalam saliva buatan 1 jam pada suhu 37°C
 - e. Suhu inkubasi 37°C
 - f. Volume *Candida albicans* dengan konsentrasi sesuai standar Brown III (10⁸CFU/ml)
 - g. Lama perendaman dalam suspensi *Candida albicans* selama 24 jam pada suhu 37°C.
 - h. Lama perendaman resin akrilik dalam ekstrak kulit salak pondoh selama 8 jam pada suhu ruang
 - i. Lama inkubasi cawan petri dan inkubator selama 48 jam
4. Variabel tak terkendali
- a. Daerah penyebaran *Candida albicans*
 - b. Usia buah salak pondoh

F. Definisi Operasional

1. Ekstrak kulit salak pondoh adalah sediaan cair yang diperoleh dengan metode maserasi. Metode maserasi adalah proses penyarian sederhana dengan cara merendam serbuk dalam cairan penyari etanol 70% hingga terdapat keseimbangan antara larutan di dalam sel dan di luar sel.
2. Suspensi *Candida albicans* 10⁸CFU/ml adalah suatu larutan yang berisi *Candida albicans* dan diencerkan dengan aquades steril hingga mencapai kekeruhan sesuai standar Brown III.

3. Plat resin akrilik adalah simulasi basis gigi tiruan dalam bentuk cakram yang terbuat dari resin akrilik *heat cure* dengan diameter 10 mm dan ketebalan 2 mm sebanyak 27 buah.
4. Sodium hipoklorit konsentrasi 0,5% adalah sodium hipoklorit konsentrasi 12% yang diencerkan menjadi konsentrasi 0,5%.
5. Pertumbuhan *Candida albicans* adalah jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media agar sabouraud.

G. Alat dan Bahan penelitian

1. Alat Penelitian

- a. *Becker glass* (IWAKI Pyrex, Japan) sebagai tempat perendaman plat resin akrilik kedalam saliva buatan.
- b. Tabung reaksi (IWAKI Pyrex, Japan) untuk tempat perendaman plat akrilik ke dalam suspensi *Candida albicans*, untuk tempat perendaman resin akrilik ke dalam ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) dan sodium hipoklorit 0,5%.
- c. Gelas ukur (IWAKI Pyrex, Japan) dan spuit injeksi untuk mengukur ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) dan sodium hipoklorit.
- d. Pinset steril
- e. Pipet
- f. Lampu spiritus untuk mensterilkan ose.
- g. Ose digunakan untuk mengambil koloni *Candida albicans*.
- h. Inkubator (Memmert)
- i. *Rotary evaporator* (IKA RV 10)

- j. *Vortex mixer* (Gemmy VM-300, Taiwan) untuk melepaskan *Candida albicans* yang melekat pada cakram resin akrilik.
- k. Cawan petri dengan untuk tempat pembiakan *Candida albicans*.
- l. Kain flanel sebagai penyaring maserat ekstraksi.
- m. Kertas saring
- n. Timbangan analitik (Mettler Toledo AL-204)

2. Bahan Penelitian

- a. Cakram resin akrilik dengan diameter 10mm dengan ketebalan 2mm sebanyak 27.
- b. Sediaan *Candida albicans* 10^8 CFU/ml.
- c. Ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*)
- d. Aquades steril sebagai kontrol
- e. Sodium hipoklorit konsentrasi 0,5%
- f. Alkohol 70% untuk sterilisasi cakram resin akrilik.
- g. Media agar sabouroud
- h. Etanol 70% sebagai cairan penyari pada proses maserasi.
- i. Saliva buatan sebagai bahan perlekatan *Candida albicans*. Saliva buatan adalah media yang digunakan untuk membantu perlekatan *Candida albicans* pada plat resin akrilik. Proses pembuatan saliva buatan menggunakan metode McDougall dengan komposisi bahan yang terdiri dari aquades, NaHCO_3 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaCl , KCl , CaCl_2 dan MgCl .

H. Cara Pengumpulan Data

1. Tahap persiapan penelitian

a. Pembuatan plat resin akrilik

Model cetakan dibuat dengan menggunakan malam merah ketebalan 2mm. Model cetakan ditanam didalam kuvet kemudian diisi menggunakan gips yang sebelumnya diolesi vaselin. Membuat kontra dengan cara memasang kuvet bagian atas dan diisi dengan gips, kemudian dipress dan ditunggu hingga gips mengeras. Kemudian kuvet direbus untuk menghilangkan malam merah dan dilakukan boiling out. Setelah itu kuvet dibuka dan diolesi CMS sebelum memasukan resin akrilik. Bahan resin akrilik *heat cure* dengan perbandingan yang digunakan antara monomer dan polimer adalah 5,75gr bubuk dan 2,5ml cairan (3:1) dimasukkan kedalam pot porselen dan diaduk lalu pot ditutup. Setelah resin akrilik dimasukkan, dipress dan kelebihan akrilik dibersihkan. Tahap selanjutnya melakukan perebusan. Setelah perebusan selesai kuvet diangkat dan dibiarkan dingin terlebih dahulu sebelum dibuka. Kemudian dilakukan polishing serta finishing.

b. Pembuatan ekstrak kulit salak pondoh

Buah salak pondoh dikupas dan dipisahkan dari kulit serta bijinya. Kemudian kulit salak di keringkan dan dilakukan penyerbukan. Setelah serbuk kulit salak jadi, kemudian dilanjutkan dengan proses ekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk salak direndam didalam larutan etanol 70% selama 7 hari dan dilakukan pengadukan setiap hari

selama 30 menit. Setelah itu larutan di filtrasi dan diuapkan dengan rotary evaporator.

c. Persiapan koloni *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* diperoleh dan dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Koloni jamur diambil menggunakan ose dan dimasukkan dalam media penumbuh lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam sehingga didapatkan suspensi *Candida albicans*. Kemudian suspensi *Candida albicans* diencerkan menggunakan akuades steril sampai mencapai kekeruhan tertentu sesuai dengan standar Brown III yaitu 10⁸ CFU/ml.

2. Tahap Pelaksanaan Penelitian

Plat resin akrilik *heat cure* dengan diameter 10mm dan ketebalan 2mm sebanyak 27 buah disterilkan dengan alkohol 70%. Kemudian plat resin akrilik direndam dalam saliva buatan selama 1 jam. Plat resin akrilik yang telah direndam dalam saliva diambil dengan pinset steril dan kemudian direndam dalam suspensi *Candida albicans* selama 24 jam pada suhu 37°C dalam tabung reaksi. Plat resin akrilik sebanyak 27 buah dibagi dalam 3 kelompok, 9 plat resin akrilik sebagai kontrol negatif direndam dalam akuades steril, 9 plat resin akrilik direndam dalam ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) dan 9 plat akrilik digunakan sebagai kontrol positif direndam dalam sodium hipoklorit 0,5%. Setelah dilakukan perendaman kemudian plat resin akrilik diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang masing-masing berisi akuades. Masing-masing tabung

reaksi dikocok menggunakan *vortex mixer*. Dilakukan pengenceran seri hingga 10^{-3} , kemudian diambil 0,01 ml larutan uji dari pengenceran 10^{-3} , kemudian digores menggunakan ose pada media sabaroud dextrose agar dan di inkubasikan selama 48 jam pada 37°C .

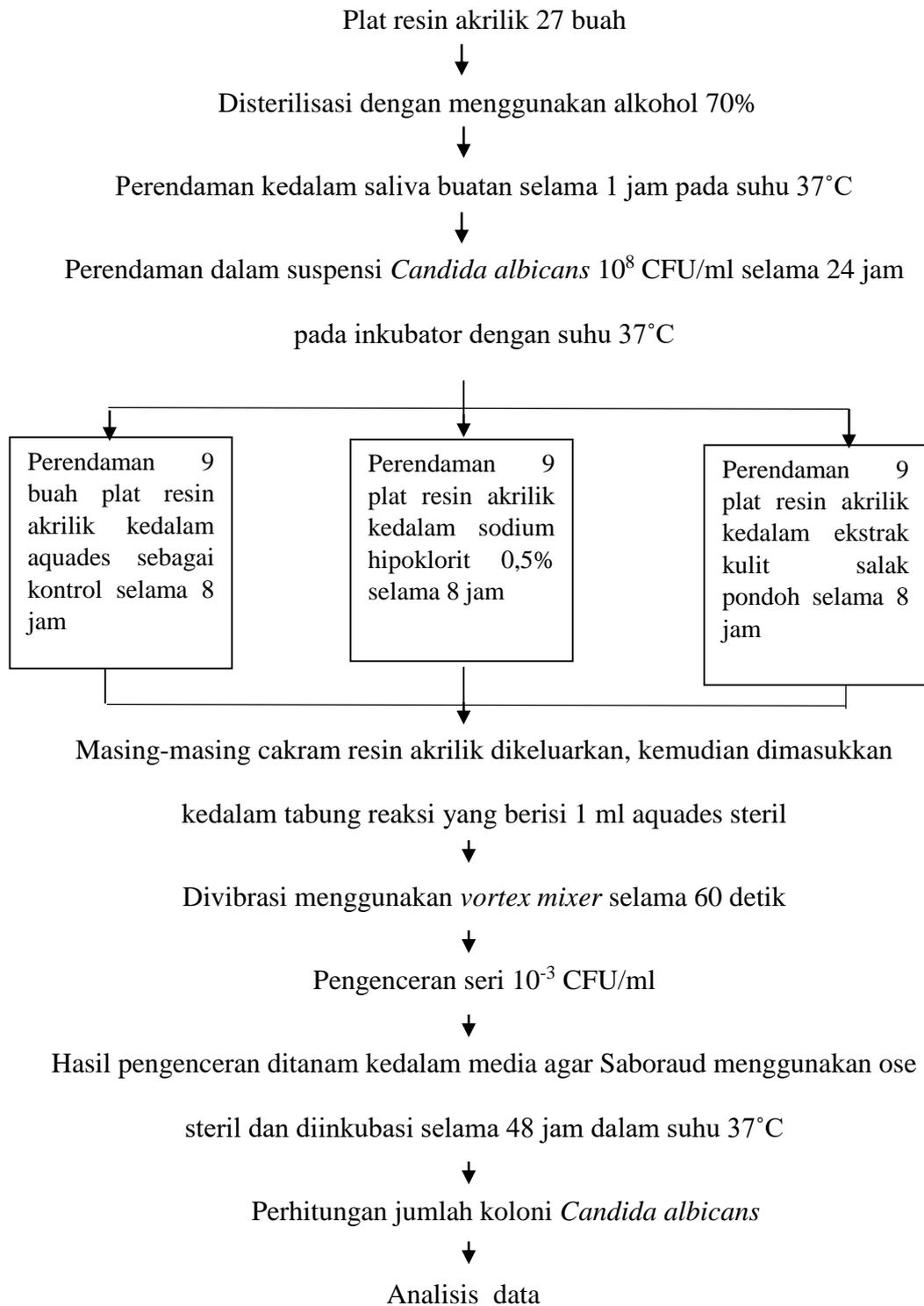
a. Perhitungan jumlah koloni *Candida albicans* dengan rumus :

$$\text{Angka jamur} = \frac{\text{Jumlah koloni X Faktor pengenceran}}{\text{Volume yang dihitung}}$$

I. Analisa Data

Analisa data menggunakan program SPSS. Uji normalitas menggunakan Shapiro-wilk, kemudian jika data distribusi normal uji hipotesis menggunakan *One Way Anova* .

J. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur penelitian