

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan ini yaitu eksperimental laboratoris dengan desain penelitian *post test only control group*.

B. Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini yaitu resin akrilik *heat cure* dengan jumlah sebanyak 16 sampel. Jumlah sampel ini didapatkan dengan perhitungan menggunakan rumus Federeer

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

Keterangan :

n : jumlah sampel

t : kelompok yang diuji

maka,

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

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

$$n-1 \geq 15$$

$$n \geq 15 + 1$$

$$n \geq 16$$

Berdasarkan rumus tersebut maka sampel minimal yang digunakan untuk penelitian ini adalah 16 buah plat resin akrilik untuk setiap kelompok perlakuan.

C. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian : Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2016

Tempat Penelitian :

1. Laboratorium Teknologi farmasi UMY
2. Laboratorium Mikrobiologi UMY

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Pengaruh : ekstrak buah salak pondoh (*Salacca zalacca*)
2. Variabel terpengaruh : pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada Plat resin akrilik
3. Variabel terkontrol :
 - a. Konsentrasi ekstrak buah salak podoh sebesar 100%
 - b. Perbandingan powder dan liquid 5,75gram : 2,5ml
 - c. Waktu perendaman resin akrilik dalam ekstrak buah salak pondoh selama 8 Jam
 - d. Suhu inkubasi 37 °C
 - e. Jumlah plat resin akrilik 32 Plat
 - f. Jenis resin akrilik yang digunakan yaitu *heat cure* (Dentsply QC-20)
 - g. Ukuran plat resin akrilik dengan diameter 10 mm dan ketebalan 2mm
 - h. Volume *Candida albicans* 10 ml dengan konsentrasi sesuai standar Brown III 10^8 CFU/ml

4. Variabel tidak terkontrol :
 - a. Daerah penyebaran *Candida albicans*
 - b. Usia buah salak pondoh

E. Definisi operasional

1. Plat resin akrilik merupakan bahan yang digunakan untuk membuat basis pada gigi tiruan. Resin akrilik yang digunakan pada penelitian ini yaitu resin akrilik *heat cure* dengan bentuk disk cakram berdiameter 10 mm dan ketebalan 2 mm.
2. Ekstrak buah salak pondoh yaitu bagian daging buah salak pondoh yang diekstrak dengan metode maserasi dan etanol 70% sebagai bahan pelarutnya. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 100%. Buah salak pondoh yang diekstrak didapatkan dari daerah Turi, Kabupaten Sleman, Yogyakarta.
3. Suspensi *Candida albicans* diperoleh melalui pembiakan yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Suspensi *Candida albicans* yang digunakan sesuai dengan standar Brown III adalah 10^8 CFU/ml.
4. Perendaman plat resin akrilik didalam ekstrak buah salak pondoh (*Salacca zalacca*) dikatakan efektif apabila grup intervensi dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* lebih banyak jika dibandingkan dengan grup kontrol.

F. Instrumen Penelitian

1. Bahan yang digunakan :
 - a. Ekstrak buah salak pondoh
 - b. Sediaan jamur *Candida albicans* 10^8 CFU/ml
 - c. Resin akrilik *heat cure* (Dentsply QC-20)
 - d. Media pembiakkan *Candida albicans* (BHI)
 - e. Model malam
 - f. Gips
 - g. Vaseline
 - h. *Could Mould Seal* (Detrey, England)
 - i. Saliva buatan (NaHCO_3 9,8 gram, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ 3,71 gram, KCl 0,57 gram, NaCl 0,47 gram, $\text{MgSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$ 0,12 gram, CaCl_2 0,05 gram dengan pH 6,8)
 - j. Media *Sabouraud Dextrose Agar* (Merck KGaA, Germany)
 - k. Alkohol 70%
2. Alat :
 - a. Rubber bowl
 - b. Inkubator (Memert)
 - c. Spatula
 - d. Press dan kuvet
 - e. *Becker glass* (IWAKI Pyrex, Japan)
 - f. *Vortex mixer* (Gemmy VM – 300, Taiwan)
 - g. Pinset

- h. Lampu spiritus
- i. Pipet (IWAKI, Japan)
- j. Ose
- k. Cawan petri (Herma)
- l. Timbangan analitik (Mettler Toledo AL-204)
- m. *Rotary evaporator* (IKA RV 10)

G. Jalannya Penelitian

1. Tahap persiapan penelitian
 - a. Pembuatan Plat resin akrilik

Resin akrilik dibuat dengan menggunakan kuvet yang diisi oleh gips. Gips kemudian dioleskan dengan vaseline. Lalu meletakkan model malam merah diatas gips. Kuvet ditutup dan dipress kemudian dilakukan proses *boiling out* dengan cara direbus untuk menghilangkan malam merah. Setelah proses *boiling out* maka akan terbentuk *mould*. Setelah itu kuvet dibuka diolesi dengan CMS dan diisi resin akrilik dengan perbandingan *powder* 5,75 gram serta 2,5 ml *liquid*. Lalu kuvet ditutup dan dipress, kelebihan resin dibersihkan. Dilakukan perebusan agar resin akrilik dapat terpolimerisasi. Setelah itu kuvet dibiarkan sampai dingin lalu dibuka. Kemudian dilakukan proses *polishing* serta *finishing*.

b. Pembuatan ekstrak buah salak pondoh

Buah salak pondoh dikupas dan dipisahkan dari kulit serta bijinya. Kemudian dikeringkan lalu dilakukan proses penyerbukkan. Serbuk dibuat dari 11.920 gram daging buah salak pondoh dikeringkan dengan suhu pemanas 50°C selama 90 jam. Berat akhir serbuk yang didapatkan sebesar 2,225 gram. Pembuatan ekstrak buah salak dilakukan dengan metode maserasi. Kelebihan metode maserasi yaitu sederhana dan dapat mengekstrak senyawa aktif dalam tanaman yang relatif kurang tahan terhadap panas (Alawiah L, 2007). Lalu serbuk buah salak direndam dalam larutan etanol 70% selama 7 hari dan dilakukan pengadukkan selama 30 menit tiap harinya. Setelah itu larutan difiltrasi dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Hasil evaporasi kemudian disimpan didalam tempat steril.

2. Pembuatan suspensi *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Dengan menggunakan ose, koloni jamur pada media *sabouraud dextrose agar* diambil dan dilarutkan dalam NaCl fisiologis lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 5-8 jam. Kemudian didapatkan suspensi *Candida albicans* lalu diencerkan menggunakan aquades sebanyak 9 ml hingga mencapai konsentrasi sesuai dengan standar Brown III yaitu 10^8 CFU/ml.

3. Tahap pelaksanaan penelitian

a. Melekatkan jamur *Candida albicans* pada plat resin akrilik

Sebanyak 32 plat resin akrilik disterilkan dengan cara direndam dalam alkohol 70% kemudian plat resin diambil menggunakan pinset. Lalu resin akrilik direndam didalam saliva buatan yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Analitik FMIPA Universitas Gajah Mada selama 1 jam sebagai media bagi jamur untuk dapat melekat pada resin akrilik. Setelah itu plat resin akrilik diambil menggunakan pinset dan direndam dalam suspensi *Candida albicans* selama 24 jam pada suhu 37°C.

b. Tahap diferensiasi (perbandingan)

Setelah direndam pada suspensi *Candida albicans* kemudian resin akrilik diambil menggunakan pinset. Tiga puluh dua plat resin akrilik dibagi menjadi 2 kelompok. Sebanyak 16 buah resin akrilik direndam dalam ekstrak buah salak pondoh dengan konsentrasi 100% yang diberi nomor 1-16. Kemudian sebanyak 16 buah resin akrilik direndam dalam aquades yang digunakan sebagai kontrol dan diberi nomor 17-32. Seluruh resin akrilik direndam selama 8 jam pada masing – masing tabung reaksi baik didalam ekstrak buah salak maupun direndam dalam aquades.

c. Tahap pengenceran

Resin akrilik yang telah direndam selama 8 jam kemudian diambil dengan menggunakan pinset dan masing – masing resin akrilik

dimasukkan kedalam tabung reaksi untuk digetarkan *vortex mixer* selama 1 menit. Lalu dilakukan pengenceran seri pada masing – masing sampai 10^{-3} CFU/ml. Hasil pengenceran kemudian diambil sebanyak 0,01 ml dan ditetaskan pada cawan petri saboroud agar. Setelah itu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C .

d. Perhitungan koloni *Candida albicans*

Perhitungan jumlah koloni *Candida albicans* dilakukan dengan menggunakan kaca pembesar dan penggaris. Rumus yang digunakan dalam perhitungan yaitu perhitungan jumlah *Candida albicans* dilakukan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Angka jamur} = \frac{\text{Jumlah koloni jamur} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Volume larutan yang dihitung}}$$

H. Analisis Data

Uji normalitas data dilakukan dengan menggunakan uji *sphiro wilk*. Apabila distribusi data didapatkan normal maka analisis data akan dilakukan dengan menggunakan *Independent T test*. Namun jika distribusi data didapatkan tidak normal maka data akan dianalisis menggunakan *Mann whitney test*.