

BAB 3

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis penelitian : eksperimental laboratoris
2. Desain penelitian : *post test only control group*

B. Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah resin akrilik *heat-cure* berbentuk plat ukuran diameter 10mm ketebalan 2mm sebanyak 27 sampel dengan 3 kelompok perlakuan. Jumlah ini didapat dengan menggunakan rumus *Federeer* (1977) :

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

Keterangan:

n = jumlah sample

t = jumlah kelompok

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

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

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

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

Berdasarkan rumus tersebut diperoleh jumlah sample untuk masing-masing kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah 9 buah

sample. Kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah ekstrak salak pondoh (*Salacca zalacca*) konsentrasi 100%, sodium hipoklorit 0,5%, dan aquades. Subyek penelitian yang digunakan adalah jamur *Candida albicans* yang dibiakkan oleh laboratorium mikrobiologi FKIK UMY.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi penelitian :

- a. Laboratorium Teknologi Farmasi FKIK UMY
- b. Laboratorium Mikrobiologi FKIK UMY

2. Waktu penelitian :

Penelitian ini akan berlangsung mulai dari tanggal 10 hingga 23 Desember 2016

D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

- 1) Ekstrak buah salak pondoh (*Salacca zalacca*)
- 2) Sodium hipoklorit 0,5%

b. Variabel Terikat :

- 1) Jumlah koloni *Candida albicans* pada plat resin akrilik

c. Variabel Terkendali

- 1) Jenis resin akrilik : Resin akrilik *heat-cure Densply QC-20*
- 2) Ukuran cakram resin : Diameter 10mm dan ketebalan 2mm (Wahyuningtyas, 2008).
- 3) Jumlah sampel : 27 plat resin akrilik

- 4) Buah salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss)
- 5) Sodium hipoklorit dengan konsentrasi 0,5%

d. Variabel Tak Terkendali :

- 1) Daerah penyebaran *Candida albicans*
- 2) Usia buah salak pondoh

2. Definisi Operasional

- a. Buah salak pondoh (*Salacca zalacca*) diambil di Kecamatan Turi, Kabupaten Sleman yang telah dipisahkan dengan kulit serta bijinya dan kemudian diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.
- b. Sodium hipoklorit 12% yang telah diencerkan menjadi 0,5% dengan aquades dengan cara pengenceran seri.
- c. *Candida albicans* dalam bentuk suspensi jamur yang telah diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam sedangkan untuk cara perhitungannya yaitu menggunakan jumlah koloni dengan satuan CFU/ml (*Colony Forming Unit*).
- d. Resin akrilik bahan yang terdiri dari serbuk cairan, mudah dimanipulasi, merupakan resin akrilik *heat cure* dan digunakan dalam pembuatan basis gigi tiruan. Resin akrilik dibuat berukuran diameter 10mm dengan ketebalan 2mm.

E. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Penelitian

- a. Timbangan analitik (Mettler Toledo AL-204)

- b. Inkubator (Memmert)
 - c. Sterilisator
 - d. *Vortex mixer* (Gemmy VM-300, Taiwan)
 - e. Pinset
 - f. Lampu spiritus
 - g. Tabung reaksi (IWAKI Pyrex, Japan)
 - h. Labu ukur (IWAKI Pyrex, Japan)
 - i. Pipet (IWAKI, Japan)
 - j. Ose
 - k. Cawan petri(Herma)
 - l. *Press dan kuvet*
 - m. *Rubber bowl*
 - n. *Rotary evaporator* (IKA RV 10)
 - o. Spatula
 - p. *Becker glass*(IWAKI Pyrex, Japan)
 - q. Penggaris
 - r. Arkansas *stone* kasar
 - s. Arkansas *stone* halus
 - t. *Vilt cone*
2. Bahan Penelitian
- a. Ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*)
 - b. Alkohol 70%
 - c. Kertas saring

- d. Kain flanel
- e. Sodium Hipoklorit 0,5%
- f. Sediaan *Candida albicans* 10^8 CFU/ml
- g. Media BHI untuk pembiakan *Candida albicans*
- h. Media *Sabaroud Dextrose Agar*(Merck KGaA, Germany)
- i. Saliva buatan diperoleh dari Laboratorium Kimia Analitik FMIPA Universitas Gajah Mada. Komposisi dalam 1 Liter saliva buatan mengacu pada metode McDougall terdiri dari 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. *Plester model* tipe II
- k. *Gips stone* tipe III
- l. Model malam
- m. Resin akrilik serbuk dan cairan
- n. Vaseline
- o. CMS
- p. Pumice
- q. Kryt

F. Jalannya Penelitian

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

Persiapkan alat dan bahan yang diperlukan, yaitu: gips, model malam resin akrilik (serbuk dan cairan), vaselin, spatula, *rubber bowl*, *press*, *kuvet*, arkansas, penggaris.

1) Pembuatan cetakan resin akrilik

Pertama tahap pembuatan gips biru, pembuatan gips biru dengan cara menyampurkan serbuk *gips stone* tipe III dengan air. Tuangkan *gips stone* tipe III dalam wadah berbentuk persegi panjang dan tunggu hingga *setting*. Setelah *setting*, tanamkan *gips stone* tipe III yang berbentuk persegi panjang pada *kuvet* berisi *plester model* tipe II yang telah dicampurkan serbuk dan air. Tanamkan *gips stone* tipe III hingga kira-kira posisi permukaan atas *gips stone* tipe III berada pada 2mm dibawah gips putih. Tunggu hingga *plester model* tipe II *setting*. Oleskan vaselin pada permukaan *plester model* tipe II dan *gips stone* tipe III lalu letakkan model malam dengan ketebalan 2mm menutupi seluruh gips biru selanjutnya tutup dengan gips putih kembali dan ditekan menggunakan *press* hingga *kuvet metal to metal contact*. Rebus *press* dan *kuvet* hingga seluruh malam hilang, larut dalam air rebus dan terbentuklah *mold space*.

2) Pembuatan resin akrilik

Buka kembali *kuvet*, buat kanal dari *mold space* menuju pinggir *kuvet* untuk keluarnya sisa-sisa resin. Olesi dengan CMS pada permukaan *gips stone* tipe III. Campurkan polimer dan monomer resin akrilik dengan rasio 3:1 (Annusavice,dkk., 2013) yaitu sebanyak 5,75gram serbuk dan 2,5ml cairan. Lakukan pengadukan resin akrilik hingga melewati 5 fase

dari resin akrilik yaitu fase berpasir, berbenang, adonan, elastik dan keras. Setelah resin akrilik dalam fase elastik maka resin akrilik siap untuk dituangkan dalam cetakan *gips stone* tipe III.

Letakkan campuran serbuk dan cairan resin akrilik pada permukaan dari *gips stone* tipe III yang telah diolesi oleh CMS hingga menutupi seluruh permukaan. Tutup kembali kuvet hingga *metal to metal contact* dan buka kembali kuvet serta bersihkan sisa-sisa resin. Tutup kembali kuvet dan tekan dengan lalu rebus *kuvet* dan *press*. Setelah direbus maka dinginkan kuvet dan buka kuvet. Ambil resin dari cetakan lalu bentuk resin dengan ukuran diameter 10 mm dengan ketebalan 2 mm.

3) Teknik polishing dan finishing resin akrilik

Potong semua resin membentuk cakram dan setelah itu lakukan polishing serta finishing pada resin akrilik. Polishing dilakukan menggunakan arkansas *stone* kasar dan arkansas halus. Gosok resin akrilik menggunakan pumice yang dicampur air dengan alat *vilt cone* dan *contra angle*. Terakhir gosok resin akrilik dengan kryt dicampur alkohol menggunakan kain flanel.

b. Pembuatan ekstrak buah Salak Pondoh

Buah salak pondoh dikupas dan dipisahkan dari kulit serta bijinya. Potong tipis daging buah salak agar dapat dikeringkan dengan baik. Kemudian dikeringkan menggunakan oven dan dijemur lalu dilakukan proses penyerbukkan. Serbuk dibuat dari 11.920 gram daging dikeringkan dengansuhu pemanas 50°C selama 90 jam kemudian didapatkan berat

setelah dipanaskan 2.245 gram, berat serbuk daging akhir sebesar 2.225 gram. Pembuatan ekstrak buah salak dilakukan dengan metode maserasi.

Serbuk buah salak direndam dalam larutan etanol 70% dengan perbandingan 1:5 (b/v) dalam waktu 7 hari dan setiap harinya dilakukan pengadukan selama 30 menit. Setelah 7 hari hasil rendaman dilakukan tahap filtrasi, filtrasi dilakukan dengan cara menyaring hasil rendaman yang masih tercampur serbuk diatas kain flanel lalu filtrasi kembali dengan kertas saring. Uapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50⁰C dan kecepatan hingga 110 rpm. Hasil evaporasi kemudian disimpan didalam tempat steril.

c. Sodium Hipoklorit

Sodium hipoklorit 12% diencerkan dengan aquades dengan pengenceran bertahap hingga mendapatkan konsentrasi 0,5%.

d. Suspensi *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi FKIK UMY. Koloni jamur *Candida albicans* diambil menggunakan ose steril dan dimasukkan dalam media *Brain Hearth Infusion* (BHI) lalu diinkubasikan pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Kemudian didapatkan suspensi *Candida albicans* lalu diencerkan sesuai dengan standar Brown III yaitu 10⁸ CFU/ml.

2. Tahap pelaksanaan penelitian

Pada penelitian ini menggunakan metode dilusi atau pengenceran seri. Metode ini melalui beberapa tahap yaitu: cakram resin akrilik

disterilkan dengan alkohol 70%, setelah itu direndam dalam saliva buatan selama 1 jam, lalu cakram resin akrilik diambil menggunakan pinset steril dan direndam dalam suspensi *Candida albicans* sebanyak 10 ml pada suhu 37°C selama 24 jam pada tabung reaksi. Dua puluh tujuh plat resin akrilik dibagi dalam 3 kelompok perlakuan dengan masing-masing tabung memiliki volume sebanyak 10ml, 9 plat resin akrilik sebagai kelompok kontrol yaitu aquades dan dimasukkan dalam tabung bernomer 1-9. Kelompok kedua direndam dalam ekstrak buah salak pondoh konsentrasi 100% dalam tabung bernomor 10-18 pada suhu ruang dan kelompok lainnya direndam pada larutan sodium hipoklorit 0,5% dalam tabung bernomer 19-27. Semua plat resin akrilik tersebut direndam dalam masing-masing perlakuan selama 8 jam.

Plat resin akrilik selanjutnya diambil dan dimasukkan dalam tabung reaksi masing – masing telah berisi 1 ml aquades. Kemudian masing-masing tabung reaksi digetarkan dengan *vortex mixer* selama 1 menit dan setiap tabung dilakukan pengenceran seri. Pengenceran seri menggunakan tiga tabung untuk setiap sampelnya yaitu dengan cara:

- a. Tabung A (10^{-1}) berisi 9 ml aquades dan 1 ml larutan dari tabung 1 berisi resin akrilik yang telah di vortex mixer
- b. Tabung B (10^{-2}) berisi 9 ml aquades dan 1 ml larutan dari tabung A
- c. Tabung C (10^{-3}) berisi 9 ml aquades dan 1 ml larutan dari tabung B

d. Hal yang sama dilakukan pada tabung 2-27.

Perhitungan jumlah koloni *Candida albicans* pada ekstrak buah salak pondoh, sodium hipoklorit 0,5% dan larutan kontrol dilakukan setelah penanaman pada *Sabaroud Dextrose Agar* dan setelah diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Jumlah koloni *Candida albicans* yang diperoleh, digunakan untuk menghitung angka jamur pada ekstrak buah salak pondoh, sodium hipoklorit 0,5% dan larutan kontrol.

Perhitungan jumlah *Candida albicans* dilakukan dengan menggunakan rumus :

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

G. Analisis Data

Analisis data menggunakan program SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) kemudian dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-wilk* dikarenakan jumlah sampel kurang dari 50 sampel, uji hipotesis dengan data berdistribusi normal dan memiliki varian yang sama maka uji hipotesis menggunakan *One Way Anova*.

I. Alur Penelitian



