

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental laboratoris.

B. Tempat dan Waktu

1. Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di beberapa tempat, yaitu:

- a. Laboratorium Biokimia Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- b. Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- c. Laboratorium Teknik Mesin Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- d. Ruang Skills Lab Terpadu Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- e. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).
- f. Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada.

2. Waktu

Waktu penelitian berlangsung pada bulan Februari 2019 hingga Maret 2019.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian ini yaitu gigi premolar permanen yang sudah diekstraksi.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini yaitu gigi premolar permanen yang sudah diekstraksi sejumlah 5 gigi. Jumlah sampel ini didapatkan dari perhitungan rumus Daniel (Daniel,2005)

$$n \geq \frac{Z^2 \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan : n : jumlah sampel

Z : nilai Z pada kesalahan tertentu σ

(jika $\sigma = 0,05$ maka $Z = 1,96$)

σ : standar deviasi sampel

d : kesalahan yang dapat ditoleransi

Dengan asumsi bahwa $\sigma^2 = d^2$, maka :

$$n \geq \frac{Z^2 \sigma^2}{d^2}$$

$$n \geq Z^2$$

$$n \geq (1,96)^2$$

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Didapatkan hasil $n \geq 4$, artinya jumlah sampel untuk setiap kelompok uji sama dengan atau lebih dari empat gigi. Agar memudahkan perhitungan, maka jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak lima buah gigi.

a. Kriteria Inklusi

- 1) Gigi bebas karies
- 2) Gigi tanpa restorasi
- 3) Cangkang telur ayam ras negeri

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Gigi dengan fraktur mahkota
- 2) Gigi dengan kelainan kalsifikasi

D. Variable dan Definisi Operasional

1. Variable Penelitian

a. Variable Pengaruh

Lama aplikasi pasta cangkang telur.

b. Variable Terpengaruh

Gambaran mikroporositas email gigi terhadap pengaplikasian pasta cangkang telur.

c. Variable Pengganggu

1) Variabel Terkendali

- a) Jenis gigi
- b) Jenis cangkang telur ayam
- c) Suhu kalsinasi (1000°C)

- d) Lama pengolesan asam fosfat
- e) Konsentrasi asam fosfat
- f) Cara pengaplikasian asam fosfat
- g) Lama pengolesan pasta cangkang telur ayam
- h) Konsentrasi pasta cangkang telur ayam
- i) Cara pengaplikasian pasta cangkang telur
- j) Ukuran perbesaran SEM
- k) Waktu

2) Variabel Tak Terkendali

Ketebalan email gigi.

2. Definisi Operasional

a. Pasta Cangkang Telur

Pasta cangkang telur merupakan sediaan lunak berbahan dasar serbuk cangkang telur ayam yang telah disintesis menjadi hidroksiapatit dan digunakan sebanyak 0,5gr.

b. Gambaran mikroporositas Email

Merupakan keadaan permukaan email yang kasar dan berbentuk *key hole* akibat pelepasan ion kalsium hasil proses demineralisasi yang dilihat menggunakan *scanning electron microscope* (SEM)

c. *Scanning Electron Microscope* (SEM)

SEM merupakan alat yang digunakan untuk melihat gambaran mikroporositas permukaan email dengan perbesaran 2000x pada sampel berukuran 1x1cm.

E. Instrument Penelitian

1. Alat Penelitian

- a. Oven furnance : untuk kalsinasi cangkang telur
- b. Cawan porselin : untuk menghaluskan cangkang telur
- c. Ayakan
- d. Kertas Whatman no. 42 : untuk filtrasi presipitat
- e. *Three-way syringe* : pembersih gigi dari asam fosfat dan pasta cangkang telur ayam
- f. Cotton pellet / mikrobrush : alat pengoles asam fosfat dan pasta cangkang telur ayam
- g. SEM : alat untuk melihat mikroporositas email gigi
- h. Stopwatch : pengukur waktu
- i. Masker : alat perlindungan diri
- j. Handscoon : alat perlindungan diri
- k. Alat tulis : mencatat setiap data dan hasil yang diperoleh

2. Bahan Penelitian

- a. Gigi premolar permanen : sampel penelitian
- b. Cangkang telur : bahan dasar pembuatan pasta

- cangkang telur
- c. Aquades : untuk sintesis cangkang telur
 - d. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4^-$: untuk sintesis cangkang telur
 - e. Nipagi : untuk pembuatan pasta cangkang telur
 - f. NaCMC : untuk pembuatan pasta cangkang telur
 - g. Gliserol : untuk pembuatan pasta cangkang telur
 - h. Mentol : untuk pembuatan pasta cangkang telur
 - i. Alkohol : untuk pembuatan pasta cangkang telur

F. Cara Kerja

1. Tahap Persiapan

a. Persiapan Sampel

Permukaan gigi premolar mula-mula dibersihkan dari kalkulus maupun kotoran lainnya. Setelah itu potong bagian bukal gigi premolar menggunakan separating disk.

b. Sintesis Cangkang Telur

Cangkang telur dibersihkan dan dipisahkan dari selaput lendir terlebih dahulu. Cangkang telur dihancurkan dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 110°C selama 2 jam

Setelah itu lakukan kalsinasi menggunakan oven dengan suhu 110°C selama 5 jam untuk mengeringkan cangkang telur ayam tersebut. Selanjutnya menghancurkan cangkang telur ayam tersebut hingga halus menggunakan blender. Untuk mendapatkan senyawa kalsium berwarna putih, yang harus dilakukan yaitu menghilangkan komponen organik dari cangkang telur ini dengan cara melakukan kalsinasi cangkang telur ayam pada suhu 1000°C selama 5 jam.

CaO 2,6110 gr dicampurkan dengan 100 ml asam nitrat 65% dan 100 ml aquabides untuk menghasilkan larutan kalsium. Larutan ini ditambahkan amonium hidroksida dan buffer untuk mengatur dan menjaga pH larutan hingga 10.

Selanjutnya membuat larutan fosfat, yaitu dengan cara menggabungkan 3,9615 g kristal diamonium hidrogen fosfat dan 10 ml aquabides. Kemudian ditambahkan 100 ml aquabides.

Sintesis hidroksiapatit dilakukan dengan cara memasukkan 100 ml larutan fosfat setetes demi tetes ke dalam larutan kalsium dengan pemanasan 40°C dan pengadukan dengan kecepatan 300 rpm. Pengadukan dilanjutkan selama 30 menit tanpa pemanasan setelah larutan fosfat habis direaksikan. Lakukan presipitasi selama 24 jam. Setelah itu saring hasil presipitasi menggunakan kertas whatman 42, lakukan pula pencucian sisa presipitasi dengan aquabides untuk menghilangkan sisa amonium sitrat. Selanjutnya

hasil penyaringan dikeringkan pada suhu 110°C selama 5 jam. Hasil presipitat kering ini selanjutnya disintering pada suhu 1000°C selama 5 jam.

c. Pembuatan Pasta Cangkang Telur

Nipagi 0,25 gr dicampurkan dengan NaCMC 0,2 gr, kemudian ditambahkan 1 ml aquades yang sudah dipanaskan. Hasil sintesis cangkang telur yang berupa kalsium hidroksiapatit digerus hingga halus. Hidroksiapatit yang digunakan yaitu sebanyak 0,5gr, lali dibasahi dengan 1 gr gliserol. mencampurkan mentol sebanyak 0,05 gr dengan alkohol hingga larut, setelah itu dicampur dengan kalsium hidroksiapatit yang sudah dibasahi gliserol dan aquades yang sudah ditambahkan nipagin dan NaCMC. Sehingga didapatkan cangkang telur ayam dalam bentuk sediaan pasta.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Aplikasi Etsa

Setelah seluruh sampel dibersihkan dan dipotong pada bagian bukal, aplikasikan etsa / asam fosfat 37% pada permukaan bukal gigi dengan menggunakan cotton pellet atau mikrobrush selama 60 detik. Setelah pengaplikasian etsa, permukaan gigi dibilas dan dianginkan menggunakan *three-way syringe*.

Selanjutnya dilakukan pengamatan gambaran mikroporositas permukaan email menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dengan perbesaran 2000x.

b. Aplikasi Pasta Cangkang Telur

Aplikasikan pasta cangkang telur pada permukaan bukal gigi selama 6 minggu (42 hari), dengan perhitungan setiap harinya diaplikasikan selama 30 menit. Setelah itu dibilas menggunakan air mengalir dan sampel di simpan di dalam tempat tertutup.

Setelah 42 hari akan dilakukan pengamatan gambaran mikroporositas permukaan email gigi menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dengan perbesaran 2000x untuk melihat seberapa besar pengaruh pengaplikasian pasta cangkang telur ayam terhadap proses remineralisasi email gigi.

G. Analisis Data

Data pada penelitian ini dikelompokkan dan dianalisis menggunakan hasil gambaran mikroporositas yang di dapat dari pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Penelitian ini bersifat deskriptif maka analisis data yang digunakan adalah analisis statistik deskriptif.

H. Alur Penelitian

Gambar 2. Alur Penelitian

