

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Tempat

- a. Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (FKIK UMY) untuk pembuatan bubuk cangkang telur ayam.
- b. Laboratorium Teknik Mesin Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (FT UMY) untuk kalsinasi cangkang telur ayam.
- c. Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (FKIK UMY) untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam dan pembuatan pasta cangkang telur ayam.
- d. Ruang Skills Laboratorium Terpadu Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (FKIK UMY) untuk pemotongan gigi.
- e. Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM) untuk melihat gambaran mikroporositas email dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)*.

f. Balai Penelitian Teknologi Bahan Alam Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (BPTBA LIPI) Gunung Kidul guna melihat gambaran mikroporositas email menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)*.

2. Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Desember 2018 – April 2019.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah gigi premolar manusia yang telah diekstraksi dan didapatkan dari sejumlah rumah sakit dan klinik gigi.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 buah gigi premolar yang telah diekstraksi yang didapatkan dengan perhitungan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

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:

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

$$n \geq Z^2$$

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

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4 \text{ (Daniel, 2005).}$$

Dari perhitungan tersebut didapatkan besar sample (n) ≥ 4 . Lalu untuk mempermudah perhitungan maka jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 5.

D. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria Inklusi

Gigi bebas karies dan tanpa restorasi

2. Kriteria Eksklusi

- a. Gigi decidui
- b. Gigi dengan fraktur mahkota
- c. Gigi dengan kelainan kalsifikasi
- d. Gigi yang pernah dirawat endodontik

E. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. Variabel Pengaruh

Lama pengolesan pasta cangkang telur ayam.

b. Variabel Terpengaruh

Gambaran mikroporositas email gigi.

c. Variabel Terkendali

- 1) Jenis gigi
- 2) Lama pengelosan asam fosfat
- 3) Cara aplikasi asam fosfat
- 4) Konsentrasi asam fosfat yang digunakan
- 5) Lama pengaplikasian pasta cangkang telur ayam
- 6) Cara aplikasi pasta cangkang telur ayam
- 7) Jangka waktu pengaplikasian pasta cangkang telur ayam
- 8) Jenis cangkang telur ayam (negeri)
- 9) Suhu kalsinasi (1000 °C)
- 10) Ukuran perbesaran SEM (2000X)

d. Variabel Tidak Terkendali

- 1) Ketebalan email gigi
- 2) Mikroporositas yang terbentuk

2. Definisi Operasional

a. Pasta cangkang telur ayam

Pasta cangkang telur ayam adalah sebuah zat lengket dan lembab yang dibuat dengan membuat campuran 0,25 gram nipagin dan 0,2 gram NaCMC dengan aquades yang telah dipanaskan, campuran 0,5 gram bubuk cangkang telur ayam yang telah dikalsinasi dengan 1

gram gliserol, dan campuran 0,05 gram gliserol dengan 1 ml alkohol yang kemudian kesemuanya dicampurkan menjadi satu.

b. Gambaran mikroporositas email gigi

Gambaran mikroporositas email gigi adalah gambaran akan porusitas pada permukaan email gigi yang berupa lubang-lubang kecil yang didapatkan dengan pengolesan asam fosfat 37% selama 60 detik pada permukaan bukal email gigi.

c. *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Scanning Electron Microscope (SEM) merupakan sebuah alat berprinsip seperti mikroskop cahaya yang memanfaatkan sinar elektron untuk memberikan informasi mengenai gambaran mikroporositas permukaan email pada bagian bukal dari 5 sampel gigi premolar yang berukuran 1 x 1 cm pada perbesaran 2000x.

F. Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian

- a. Bengkok
- b. Wadah plastik
- c. Gelas beker
- d. Sendok
- e. *Handpiece*
- f. *Separating disc*
- g. *Three way syringe*
- h. Pipet

- i. Pinset
 - j. Blender
 - k. *Mortar* dan *pestle*
 - l. Mangkuk keramik
 - m. Alat pengukur pH
 - n. Timbangan digital
 - o. Oven dengan merk *Nabertherm* (untuk kalsinasi)
 - p. *Magnetic Stirrer* dengan merk *Cimarec* (untuk sintesis hidroksiapatit)
 - q. *Scanning Electron Microscope (SEM)* dengan merk *Phenom*
2. Bahan Penelitian
- a. Gigi premolar
 - b. Cangkang telur ayam negeri
 - c. Masker
 - d. *Handsoon*
 - e. *Microbrush*
 - f. Air
 - g. Alumunium foil
 - h. Kertas Whatman nomer 42
 - i. Asam fosfat 37%
 - j. Amonium hidroksida (untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam)

- k. Asam Nitrat 65% (untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam)
- l. Aquabides (untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam)
- m. Buffer (untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam)
- n. Diamonium hidrogenfosfat / $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$ (untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam)
- o. Alkohol (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)
- p. Aquades (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)
- q. Gliserol (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)
- r. Menthol (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)
- s. NaCMC (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)
- t. Nipagin (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)

G. Jalannya Penelitian

1. Tahap Persiapan
 - a. Menyusun proposal penelitian pada bulan April 2018.
 - b. Mengurus *ethical clearance* ke Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK) UMY. Kemudian mengurus surat keterangan guna peminjaman ruang laboratorium dan alat yang dibutuhkan untuk penelitian dari PSKG UMY yang ditujukan kepada ruang Skills Laboratorium PSKG UMY.
 - c. Mengurus berkas untuk prosedur pendaftaran penggunaan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

(FKIK) UMY, Laboratorium Teknologi Farmasi FKIK UMY, Laboratorium Teknik Mesin FT UMY, Laboratorium dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM, dan BPTBA LIPI Gunung Kidul.

d. Menentukan waktu pelaksanaan penelitian.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Membuat bubuk cangkang telur ayam dari telur ayam negeri.

Langkah pertama yaitu membersihkan cangkang telur ayam dari kotoran. Lalu memisahkan cangkang telur dengan membran kulit telur ayam. Hal ini dikarenakan pada penelitian ini hanya menggunakan cangkang telur saja tanpa menggunakan membran cangkang telur ayam. Kemudian mengeringkan cangkang telur ayam guna menghilangkan kandungan air dengan menggunakan oven selama 2 jam pada suhu 110°C . Selanjutnya dilakukan penghancuran cangkang telur ayam menggunakan *mortar* dan *pestle* kemudian dihaluskan dengan menggunakan *blender*. Langkah selanjutnya dilanjutkan dengan mengkalsinasi cangkang telur pada suhu 1000°C selama 5 jam sehingga dihasilkan bubuk putih kalsium dari cangkang telur ayam.

b. Melakukan sintesis hidroksiapatit dengan membuat larutan kalsium dan larutan fosfat. Larutan kalsium dibuat dengan melarutkan 2,6110 gram bubuk cangkang telur yang telah dikalsinasi ke dalam larutan asam nitrat 65% sebanyak 10 ml lalu menambahkan aquabides sehingga larutan yang dihasilkan menjadi 100 ml. Kemudian larutan

- kalsium tersebut diatur pHnya sampai 10 dengan melakukan penambahan amonium hidroksida lalu ditambahkan larutan buffer agar pH yang dihasilkan tetap stabil. Selanjutnya pembuatan larutan fosfat dilakukan dengan melarutkan 3,9615 gram diamonium hidrogenfosfat ke dalam 10 ml aquabides lalu ditambahkan aquabides kembali sampai larutan yang dihasilkan menjadi 100 ml. Berikutnya dilakukan sintesis hidroksiapatit dengan mencampurkan larutan fosfat sebanyak 100 ml ke dalam larutan kalsium dengan meneteskannya sembari dipanaskan pada suhu 40°C dan diaduk dengan kecepatan 300 rpm. Setelah larutan fosfat telah habis dimasukkan ke dalam larutan kalsium pengadukan tetap dilanjutkan namun dilakukan dengan tanpa pemanasan selama 30 menit. Setelah itu dilakukan presipitasi selama 24 jam. Presipitat lalu disaring dengan kertas Whatman nomor 42 kemudian dicuci dengan aquabides untuk menghilangkan amonium nitrat yang tersisa dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven pada suhu 110°C selama 5 jam untuk menghilangkan sisa aquabides. Presipitat kering kemudian disinter menggunakan oven selama 5 jam pada suhu 1000°C sehingga didapatkan bubuk hidroksiapatit dari cangkang telur ayam.
- c. Melakukan pembuatan pasta cangkang telur ayam yang dilakukan dengan mencampurkan 1 ml aquades yang telah dipanaskan dengan 0,25 gram nipagin dan 0,1 gram NaCMC. Kemudian 0,5 gram bubuk

cangkang telur ayam digerus hingga halus dan dibasahi dengan 1 gram gliserol. Selanjutnya alkohol dan 0,05 gram mentol dicampur hingga larut, lalu tambahkan bubuk hidroksiapatit dari cangkang telur ayam yang telah ditambahkan aquades dan gliserol. Pencampuran kemudian dilanjutkan dengan menambahkan aquades yang sebelumnya telah ditambahkan dengan nipagin dan NaCMC sehingga didapatkan cangkang telur ayam dalam bentuk sediaan pasta.

- d. Menyiapkan sampel dengan membersihkan gigi dari segala kotoran yang menempel.
- e. Melakukan pemotongan mahkota gigi menggunakan *separating disc* dengan ukuran tiap sampel gigi yang dihasilkan maksimal 1x1 cm.
- f. Mengoleskan asam fosfat 37% selama 60 detik pada permukaan bukal gigi. Pengolesan dilakukan untuk menghasilkan mikroporositas pada permukaan email gigi. Lalu dilakukan pencucian gigi kembali dengan air dilanjutkan dengan mengangin-anginkan gigi menggunakan *three way syringe*.
- g. Melakukan pengamatan permukaan gigi untuk mendapatkan gambaran mikroporositas email gigi setelah pengolesan etsa asam dengan menggunakan alat *Scanning Electron Microscope* (SEM) dengan perbesaran 2000x di LPPT UGM.
- h. Pengolesan pasta cangkang telur ayam pada bagian labial gigi dan selanjutnya dibiarkan selama 30 menit kemudian dicuci dengan air

mengalir. Jarak antar waktu pengolesan setiap 24 jam sekali dan dilakukan selama 4 minggu atau 28 hari.

- i. Setelah dilakukan pengolesan pasta cangkang telur ayam selama 4 minggu, sampel diambil dan gigi dicuci dengan menggunakan air mengalir lalu kemudian dibersihkan. Setelah sampel sudah bersih maka dilakukan pemeriksaan gambaran mikroporositas permukaan email gigi dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)* dengan menggunakan perbesaran 2000x di tempat yang berbeda dari pengamatan yang pertama yaitu di BTPA LIPI Gunung Kidul. Alat SEM yang digunakan pun memiliki merk yang berbeda dari alat SEM yang digunakan pada pengamatan pertama.
- j. Melakukan pengumpulan data yang telah didapatkan kemudian melakukan analisis dari data yang didapatkan.

H. Analisis Data

Pada penelitian ini analisis data dengan mengamati gambaran yang ada setelah pengujian sampel dengan *scanning electron microscope*. Hasil penelitian yang didapatkan disajikan dalam bentuk naratif.

I. Alur Penelitian

