

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris murni dan deskriptif.

B. Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan pada bulan November 2018 sampai Januari 2019 dengan lokasi penelitian sebagai berikut:

1. Laboratorium Pusat Penelitian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta untuk mengetahui perbedaan perlekatan antara nanosisal komposit dan nanofiller komposit pada email dan dentin menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM).
2. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk persiapan pembuatan sampel beserta *pre-treatment* sampel.
3. Ruang Skills Lab Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

C. Sampel Penelitian

Pada penelitian ini jumlah sampel tiap kelompok ditentukan menggunakan rumus dari Lemeshow dkk. (1997) dengan perhitungan sebagai berikut:

$$n = \frac{z^2 \cdot 1 - \frac{\alpha}{2} \cdot \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan:

n = Jumlah sampel tiap kelompok

Z = Harga standar normal pada α tertentu yang digunakan dalam penelitian

Σ = Variansi populasi yang dapat diestimasi dari simpangan baku penelitian sejenis sebelumnya

D = Presisi (normal 0,01 – 0,25)

Berdasarkan rumus tersebut, maka perhitungan besar sampel penelitian ini adalah:

$$Z = 1,96 \text{ (} \alpha = 0,05 \rightarrow Z_{1-\alpha/2} = Z_{0,975} = 1,96 \text{)}$$

$$\sigma = 0,135 \text{ (Sano } et al, 1994)$$

$$d = 0,155 \text{ (Darmawangsa, Pengaruh sudut bevel terhadap kekuatan tarik perlekatan resin komposit sinar tampak dan email gigi, 2005)}$$

$$\text{sehingga } n = 2,9141794 \rightarrow \text{dibulatkan menjadi } 3 \text{ (sampel minimal)}$$

D. Identifikasi Variabel

1. Variabel pengaruh

- a. Jenis *filler*: *filler* 60% nanosisal dan *nanofiller* sintesis
- b. Jenis *coupling agent*: *Coupling Agent (Bisphenol A Diglycidyl Ether*: D3415, Sigma)

2. Variabel terpengaruh

Perlekatan resin komposit nanosisal dan resin komposit nanofiller terhadap email dan dentin.

3. Variabel terkontrol

- a. Jenis gigi: gigi premolar
- b. Jenis bahan: serat sisal (*Agave sisalana*)
- c. Jenis *visible light cure*: LED (Dentamerica Litex 695)
- d. Panjang gelombang sinar: 450 nm
- e. Lama penyinaran resin komposit: 40 detik
- f. Jarak penyinaran: 2 mm (selapis pita seluloid)
- g. Ukuran sampel (1 cm x 1 cm x 1 cm)³
- h. Perhitungan volume *filler* nanosisal menggunakan rumus:

$$\text{Ppm berat (wt)} = \text{wt}\% \times \text{berat jenis} \times 1000$$

Diketahui berat jenis sisal adalah 45 mg untuk sampel 60%.

$$\text{Wt} = 60\% \times 45 \times 1000 = 27.000 \text{ ppm} = 2,7 \text{ mg/kg}$$

$$\text{Wt} = 2,7 \text{ mg/kg} = 0,0027 \text{ gr} \rightarrow \text{dibulatkan menjadi } 0,003 \text{ gr}$$

4. Variabel tak terkontrol

- a. Lama penyimpanan gigi premolar
- b. Porositas

E. Definisi Operasional

1. Resin komposit biasa digunakan untuk menggantikan struktur gigi, modifikasi warna dan kontur gigi, dan juga meningkatkan estetika. Pada umumnya resin komposit terdiri dari 4 komponen utama yaitu, matriks polimer, partikel *filler* anorganik, *coupling agent*, dan inisiator dan akselerator sistem (Power dan Sakaguchi, 2006).

2. Sisal merupakan material serat alami berasal dari tumbuhan *Agave sisalana* yang ditambahkan sebagai *filler* pada resin komposit. Pada penelitian ini serat sisal berbentuk bundel dan diolah di laboratorium sehingga diperoleh serat sisal berukuran nano/nanosisal (Ahmad, 2011).
3. Komposit berukuran nano dengan diameter kurang dari 100nm.
4. Ikatan (*bonding*) adalah gaya atau energi antara molekul pada *interface* dimana mengadakan dua fase bersama. Bonding merupakan syarat utama bagi material restorasi agar dapat berikatan sempurna dengan email dan dentin dan tanpa pelebaran preparasi gigi (Garg dan Garg, 2010).

F. Instrumen Penelitian

1. Bahan Penelitian
 - a. Serat sisal (*Agave sisalana*), Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (Balittasa), Malang, Indonesia.
 - b. Resin komposit nanofiller sintetis (*Z350 XT, 3M-ESPE*)
 - c. *Etch: Scotchbond Universal Etchant (3M-ESPE, USA)*
 - d. *Bonding: Adper Single Bond 2 Adhesive (3M-ESPE, USA)*
 - e. *Coupling agent (Bisphenol A Diglycidyl Ether: D3415, Sigma)*
 - f. Gigi premolar
 - g. Ethanol
 - h. NaOH 2,5 g (Emsure® 1.06498, Emd Millipore)
 - i. H₂O₂ 50% (31642, Sigma-Aldrich)

- j. H₂SO₄ 65wt% (339741, Aldrich)
 - k. *Champorquinone* (124893, Aldrich)
 - l. Aquades steril
 - m. Cavity cleanser
 - n. Bis-GMA (494356, Aldrich)
 - o. TEGDMA (261548, Aldrich)
 - p. UDMA (234907, Aldrich)
2. Alat Penelitian
- a. *Scanning Electron Microscope* (SEM) : JSM-6510LA, JEOL Ltd.
 - b. *Visible Light Cure* (Dentamerica Litex 695 LED Pen-Type Curing Light)
 - c. *Magnetic stirrer* (IKA® C-MAG HS Hotplate Stirrers C-MAG HS7)
 - d. *Micromotor* dan *handpiece*
 - e. *Microbrush*
 - f. *Threeway syringe*
 - g. *Rubber bowl* dan spatula
 - h. *Glass plate*
 - i. Bur preparasi
 - j. Bur *finishing* dan *polishing* resin komposit
 - k. Bur *disc*
 - l. Pinset
 - m. Kondensor

- n. Plastik instrumen
- o. Centrifugasi (HARRIER 18/80 Refrigerated Centrifuge, Model MSB080.CR1.K)
- p. Timbangan digital (Mettler Toledo AL 204)
- q. Sonifikasi *Cole-Parmer Ultrasonic Processor* (Model CP 505, 500 Watts)
- r. *Grinder*
- s. *Freeze dryer* (Flex-Dry™ μ P Microprocessor Control, FTS Systems, Inc., USA)
- t. *Hair dryer*
- u. *Dialyzer* (SnakeSkin® Pleated Dialysis Tubing-3,500 MWCO)

G. Jalannya Penelitian

1. Pembuatan Nanosisal

Langkah pertama serat sisal dipotong sampai berukuran kecil dengan menggunakan gunting tajam untuk mempermudah penimbangan dengan ukuran helaian 5cm. Langkah pertama yang dilakukan adalah *scouring sebanyak* 3 kali, yaitu larutan NaOH sebanyak 15 gram dilarutkan dalam 250 ml air pada suhu 80°C bersama dengan serat didalam baker *glass* dan diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 2 jam untuk membersihkan dari kandungan selain selulosa dalam serat sisal. Kemudian serat dicuci sebanyak 4 kali pembilasan menggunakan aquades hingga pH netral, lalu dikeringkan menggunakan *hair dryer* dan disimpan.

Langkah kedua, serat dilakukan *bleaching* sebanyak 3 kali. NaOH sebanyak 2,5 gram dilarutkan dalam 50 ml aquades dan ditambahkan larutan larutan H₂O₂ 50% sebanyak 25 ml dimasukkan ke labu takar kemudian dikocok dan ditambahkan aquades hingga campuran larutan mencapai 250 ml. *Bleaching* dilakukan pada suhu 80°C selama 2 jam diaduk menggunakan *magnetic stirrer* lalu serat disaring dan dicuci dengan aquades dan dikeringkan menggunakan *hair dryer*, proses tersebut diulang sebanyak 4 kali.

Langkah ketiga, serat kering dihaluskan menggunakan *grinder*. Hidrolisis asam pada serat halus dengan 65 wt% *sulphuric acid* pada suhu 50°C selama 50 menit sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Suspensi kemudian diencerkan menggunakan balok es agar reaksi terhenti. Setelah itu dilakukan pencucian berturut-turut menggunakan *centrifuge* pada suhu 10°C dengan kecepatan 5000rpm selama 30 menit. Kemudian dilakukan dialisis pada aquades agar asam bebas pada dispersi menghilang. Pada tahap sonifikasi, dispersi *nano-whisker* yang sempurna akan didapatkan. Dispersi disaring menggunakan kertas saring nomor 1 agar sisa agregat hilang, kemudian serat dikeringkan menggunakan *freeze drier* sehingga didapatkan nanosisal dalam bentuk semi padat.

2. Persiapan Sampel

Sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah gigi premolar bebas karies dengan preparasi kavitas kelas V G. V. Black.

Preparasi kavitas berbentuk ginjal dengan kedalaman kurang lebih 1mm (sampai mengenai dentin) menggunakan *round diamond* bur. Setelah mencapai dentin dilakukan menggunakan *fissure diamond* bur yang berujung datar, lalu dasar kavitas dihaluskan menggunakan *inverted diamond* bur. Terakhir kavitas dioleskan cavity cleanser dengan *tip applicator*. Kemudian gigi yang telah dipreparasi akan dibagi menjadi 3 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 3 gigi.

3. Pembuatan Sampel

Nanosisal semi padat ditimbang dengan timbangan digital seberat 0,003 gram (60%) sebagai kelompok A dan 0,003 gram (60% + *coupling agent*) sebagai kelompok B. Kemudian nanosisal kelompok A dan kelompok B dimasukkan ke dalam *magnetic stirrer* dan dicampur dengan 0,5 gram Bis-GMA, 0,02 ml TEGDMA, 0,02 gram UDMA, 0,09 gram *champorquinone*, dan untuk kelompok B ditambahkan bahan tambahan berupa *coupling agent* sehingga diperoleh adonan nanosisal komposit. Kelompok C resin komposit *nanofiller* akan digunakan sebagai pembanding.

Resin komposit nanosisal 60%, nanosisal 60% ditambah *coupling agent* dan *nanofiller* tersebut diaplikasikan pada kavitas yang telah dipreparasi. Gigi yang telah dipreparasi, dibersihkan dan dioles bahan etsa (asam fosfat 37%) sebanyak 1 kali dengan *microbrush*, dan didiamkan selama 15 detik, setelah itu dibilas menggunakan *three-way syringe* selama 20 detik dan diangin-anginkan dengan menggunakan

three-way syringe pada jarak 2 mm dari permukaan gigi dan jangan sampai terlalu kering (*moist*). Bahan bonding dioleskan pada permukaan yang telah dietsa sebanyak 1 kali oles selama 10 detik dengan *microbrush*, setelah itu diangin-anginkan, kemudian disinari menggunakan *visible light cure* pada jarak 2 mm dari permukaan selama 20 detik. Gigi premolar ditumpat dan disinari dengan *visible light cure* selama 40 detik dengan jarak selapis pita seluloid. Setiap sampel akan dipotong menggunakan bur *disc* pada daerah kavitas yang telah diberi resin komposit hingga berukuran (1cm x 1cm x 1cm)³.

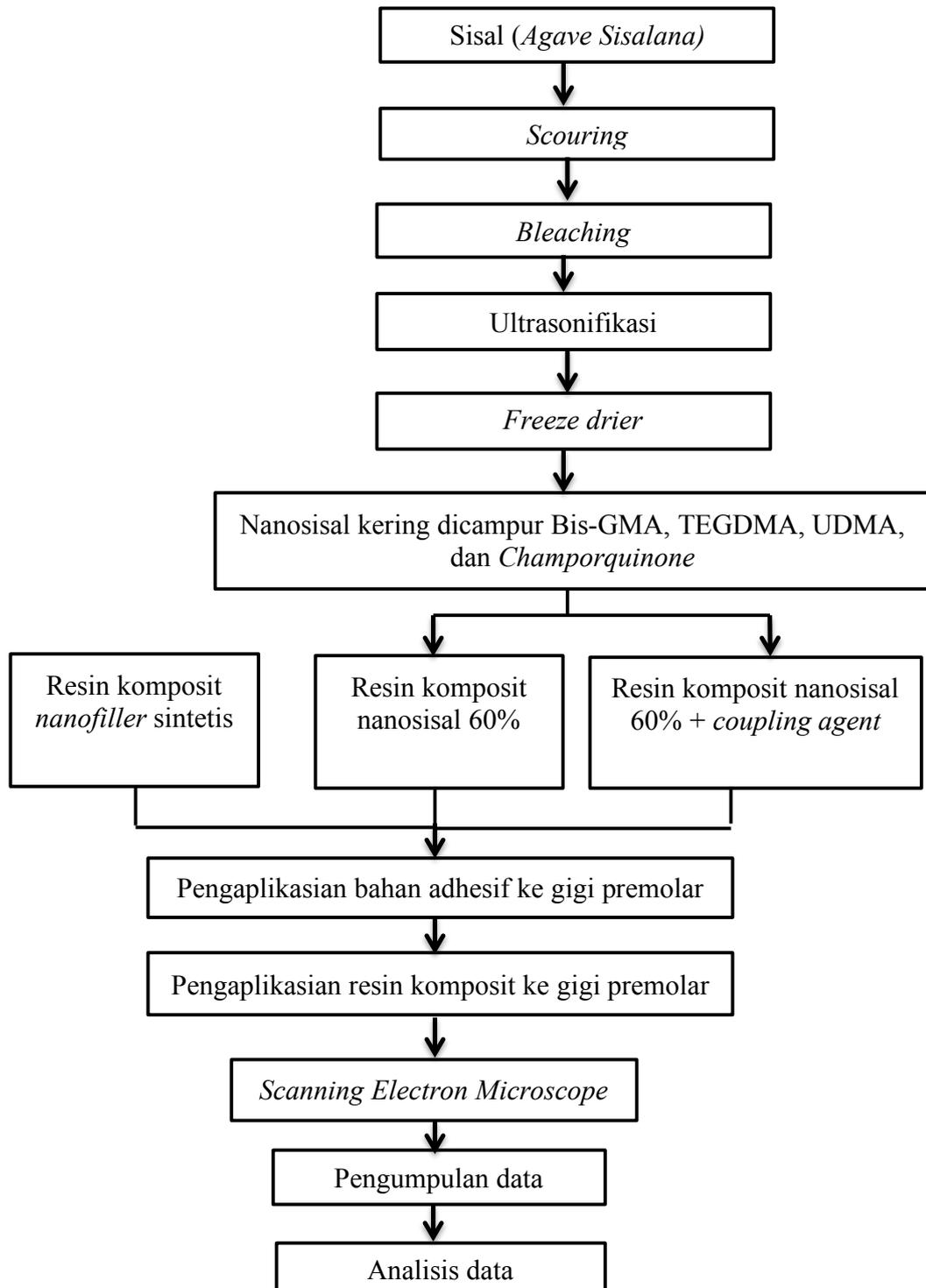
4. Uji *Scanning Electron Microscope*

Scanning Electron Microscope merupakan alat untuk melihat tekstur permukaan suatu substansi secara mikroskopis, pada penelitian ini SEM digunakan untuk menganalisa struktur perlekatan masing – masing kelompok sampel terhadap email dan dentin. Spesimen dibuat sesuai dengan bentuk kubus dengan panjang tiap sisi kurang dari 1 cm.

H. Analisis Data

Data diuji normalitasnya dengan menggunakan metode *Shapiro-Wilk*, karena jumlah subjek pada penelitian ini adalah 9 subjek (≤ 50). Uji analisis secara statistik menggunakan uji analisis variansi *One Way ANOVA* dan *LSD (Least Significance Different)* untuk melihat perbedaan gambaran perlekatan pada email dan dentin pada setiap kelompok jika data memenuhi syarat.

I. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian