

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

B. Tempat dan Waktu

1. Tempat

- a. Laboratorium Biokimia untuk mengoven cangkang telur ayam pada 110°.
- b. Laboratorium Teknik Mesin untuk mengoven cangkang telur ayam pada 1000°.
- c. Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam.
- d. Ruang *Skills* Laboratorium Kedokteran Gigi Terpadu Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk pemotongan gigi dan pengaplikasian pasta cangkang telur ayam.
- e. Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada untuk melihat gambaran mikroporositas email gigi.
- f. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Gunung Kidul, Yogyakarta untuk melihat gambaran mikroporositas email gigi.

2. Waktu : Bulan November 2018 – April 2019.

C. Populasi dan Sampel

- a. Populasi

Populasi penelitian ini yaitu gigi premolar permanen yang sudah diekstraksi yang telah dikumpulkan dari beberapa rumah sakit dan klinik gigi.

b. Sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah lima gigi premolar yang telah diekstraksi dari rongga mulut yang telah dioleskah etsa 37% yang sesuai dengan kriteria inklusi. Jumlah sampel yang didapatkan yaitu 5 gigi premolar. 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.

D. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria Inklusi
 - a. Gigi geligi premolar yang telah diekstraksi
 - b. Gigi premolar bebas karies
 - c. Cangkang telur ayam ras negeri
2. Kriteria Eksklusi
 - a. Gigi desidui
 - b. Gigi fraktur
 - c. Gigi premolar yang terdapat kelainan kalsifikasi
 - d. Gigi premolar yang terdapat restorasi
 - e. Gigi premolar yang terdapat atrisi

E. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian
 - a. Variabel pengaruh : waktu pengalokasian pasta cangkang telur.
 - b. Variabel terpengaruh : gambaran mikroporositas email gigi.
 - c. Variabel terkendali :
 - 1) Jenis gigi
 - 2) Suhu kalsinasi (1000° C)
 - 3) Jenis cangkang telur ayam negeri

- 4) Asam fosfat 37%
 - 5) Cara pengaplikasian ke gigi
 - 6) Durasi pengaplikasian asam fosfat
 - 7) Durasi pengolesan pasta cangkang telur ayam
 - 8) Jangka waktu pengaplikasian pasta cangkang telur ayam
 - 9) Ukuran perbesaran SEM
- d. Variabel tak terkendali
- Ketebalan email gigi.

2. Definisi operasional

- a. Pasta cangkang telur adalah sediaan bermassa lembek yang terbuat dari cangkang telur sebagai bahan baku untuk sintesis hidroksiapatit yang diperoleh dari kalsinasi.
- b. Remineralisasi adalah kembalinya mineral gigi yang terlepas dan kembali membentuk kristal hidroksiapatit email.
- c. Gambaran mikroporositas adalah keadaan permukaan kasar email setelah pengaplikasian etsa asam.
- d. *Scanning Electron Microscope* adalah sebuah mikroskop elektron yang didesain untuk menyelidiki permukaan dari objek secara langsung. Penelitian ini menggunakan pembesaran 2.000 kali dan sampel dengan ukuran 1cm x 1cm.

F. Instrument Penelitian

1. Bahan penelitian
 - a. Gigi premolar

- b. Cangkang kulit telur negeri
 - c. Asam fosfat 37%
 - d. Aquades untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam
 - e. NaCMC untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam
 - f. Nipagin untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam
 - g. Gliserol untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam
 - h. Alkohol untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam
 - i. Mentol untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam
 - j. Asam Nitrat 65% untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam
 - k. Aquabides untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam
 - l. Amonium hidroksida 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
2. Alat penelitian
- a. *Scanning Electron Microscopy (SEM)* dengan merk *Phenom*
 - b. *Masker*
 - c. *Handsoen*
 - d. *Stopwatch*
 - e. Pinset
 - f. Sendok

- g. *Three way syringe*
- h. *Handpiece*
- i. *Stopwatch*
- j. *Micro brush*
- k. *Bur separating disc*
- l. Oven dengan merk *Furnace*
- m. *Mortar dan pestle*
- n. Mangkuk keramik
- o. Alumunium foil
- p. Kertas Whatman nomer 42
- q. Alat pengukur pH
- r. Timbangan digital
- s. *Magnetic Stirrer* dengan merk Cimarec (untuk sintesis hidroksiapatit)
- t. Gelas ukur

G. Jalannya Penelitian

1. Tahap Persiapan

a. Persiapan Sampel

Menyiapkan sampel sebanyak 5 gigi premolar yang akar giginya telah dipotong hingga hanya tersisa mahkota gigi menggunakan bur *separating disc* dan telah dibersihkan.

b. Pembuatan Bubuk Cangkang

Langkah pertama dilakukan dengan membersihkan cangkang kulit telur ayam dari kotoran dan memisahkan dari membran kulit telur ayam tersebut. Kemudian dilakukan penghancuran cangkang telur ayam dengan menggunakan mortar dan pestle steril setelah itu dilakukan pemanasan pada oven dengan suhu 110° selama 2 jam untuk mengurangi kadar air pada cangkang telur. Kemudian kalsinasi bubuk cangkang kulit telur pada suhu 1000°C selama 5 jam dan terbentuk bubuk yang berwarna putih. Untuk pembuatan larutan kalsium menggunakan campuran 2,6110 gram CaO dan asam nitrat sebanyak 100 ml aquabides. Kemudian pH diatur hingga berada pada angka 10 dengan cara menambahkan amonium hidroksida dan buffer.

Langkah selanjutnya yaitu pembuatan larutan fosfat dengan cara mencampurkan 3,9615 gram kristal diamonium hidrogen fosfat dan 10 ml aquabides. Lalu ditambahkan lagi aquabides sampai 100 ml. Kemudian melakukan sintesis hidroksiapatit dengan cara memasukkan 100 ml larutan fosfat kedalam larutan kalsium setetes demi tetes dengan pemanasan 40°C dengan kecepatan pengadukan 300 rpm. Setelah itu pengadukan tetap dilanjutkan tanpa pemanasan selama 30 menit setelah larutan fosfat habis direaksikan. Selanjutnya melakukan presipitasi selama 24 jam. Hasil presipitasi tersebut disaring menggunakan kertas whatman 42 lalu dicuci dengan aquabides untuk menghilangkan sisa amonium sitrat. Endapan

tersebut dikeringkan dengan suhu 110° C selama 5 jam. Presipitat yang kering kemudian disintering pada suhu 1000° C selama 5 jam.

c. Pembuatan Pasta Cangkang Telur Ayam Negeri

Memanaskan aquades ditambah dengan nipagin dan 0,2 gram NaCMC. Kemudian hasil kalsium hidroksiapatit dari sintesis cangkang telur ayam, dibasahi dengan 1 gram gliserol. Selanjutnya alkohol dan 0,05 gram mentol dicampur hingga larut, lalu tambahkan kalsium hidroksi apatit yang sudah dibasahi dengan aquades dan gliserol yang telah ditambahkan nipagin dan NaCMC.

2. Tahap Pelaksanaan

- a. Potong sampel yaitu gigi dengan menggunakan *separating disk* hingga menyisakan area bukal.
- b. Mempersiapkan sampel dengan cara membersihkan gigi dari kotoran.
- c. Sampel gigi yang telah disiapkan dioleskan asam fosfat 37% selama 60 detik dengan *micro brush*. Setelah itu dicuci dan diangin-anginkan menggunakan *three way syringe*..
- d. Melakukan pengamatan gambaran mikroporositas gigi menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)* akibat penggunaan etsa.
- e. Mengoleskan pasta cangkang telur ayam pada bagian bukal gigi. Jarak antar waktu pengolesan setiap 24 jam sekali selama 30 menit, kemudian dibilas dan dilakukan selama 8 minggu.

- f. Setelah 8 minggu sampel kemudian dilakukan pemeriksaan gambaran mikroporositas email gigi dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)*.
- g. Melakukan analisis dari data yang telah didapatkan.

H. Analisis Data

Uji analisis data yang digunakan untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh terhadap gambaran mikroporositas email gigi setelah pengolesan pasta cangkang telur ayam negeri adalah analisis gambar yang akan disajikan dalam bentuk narasi.

I. Alur penelitian

