

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris, yaitu penelitian dengan melakukan tindakan terhadap subyek penelitian dan selanjutnya mempelajari dengan menganalisis efek yang timbul dari tindakan yang dilakukan terhadap subyek.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### **1. Waktu penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan juni 2012

##### **2. Tempat penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Penguji Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

#### **C. Subyek Penelitian**

Subyek penelitian yang digunakan adalah *Candida albicans* yang dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah

Yogyakarta

Minimal (KHM) pada masing-masing perlakuan ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*).

#### D. Estimasi Besar Sample

Pengujian terdiri dari ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dengan konsentrasi 50%. Sampel yang digunakan berupa 33 buah cakram resin akrilik *heat cured* dengan diameter 10 mm dan ketebalan 2 mm yang akan dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan sebagai berikut :

1. Perlakuan pertama, 10 buah cakram resin akrilik *heat cured* yang sudah ditempelkan jamur *Candida albicans*, direndam dengan ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) konsentrasi 50% selama 2 jam dan 1 buah cakram resin akrilik *heat cured* sebagai kontrol direndam dengan menggunakan aquades.
2. Perlakuan kedua, 10 buah cakram resin akrilik *heat cured* yang sudah ditempelkan jamur *Candida albicans*, direndam dengan ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) konsentrasi 50% selama 4 jam dan 1 buah cakram resin akrilik *heat cured* sebagai kontrol direndam dengan menggunakan aquades.
3. Perlakuan ketiga, 10 buah cakram resin akrilik *heat cured* yang sudah ditempelkan jamur *Candida albicans*, direndam dengan ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) konsentrasi 50% selama 6 jam dan 1 buah cakram resin akrilik *heat cured* sebagai kontrol direndam dengan menggunakan aquades.

### **E. Variabel Penelitian**

1. Variabel pengaruh : Ekstrak daun seledri (*Apium graveolens L.*) dengan lama perendaman selama 2 jam, 4 jam, 6 jam.
2. Variabel terpengaruh : Pertumbuhan jumlah koloni *Candida albicans* pada resin akrilik.
3. Variabel terkendali :
  - a. Jenis resin akrilik yang digunakan adalah resin akrilik heat cured.
  - b. Diameter cakram resin akrilik 10 mm dengan ketebalan 2 mm.
  - c. Jumlah cakram resin akrilik 30 buah
  - d. Konsentrasi ekstrak seledri 50%.
  - e. Lama perendaman cakram resin akrilik dalam suspensi *Candida albicans* 24 jam pada suhu 37°C.
  - f. Lama pengeraman cawan petri dalam inkubator 48 jam pada suhu 37°C.
4. Variabel tak terkendali :
  - a. Jumlah *Candida albicans* pada resin akrilik.
  - b. Penyebaran suspensi jamur.
  - c. Kontaminasi bakteri dan jamur lain.
  - d. Keporusan resin akrilik.
  - e. Usia tanaman.

## **F. Definisi Operasional**

1. Plat dasar gigi tiruan resin akrilik *heat cured* dalam bentuk cakram dibuat dengan diameter 10 mm dan ketebalan 2 mm.
2. Kekasaran, porositas dan polimerisasi yang kurang sempurna dapat mempercepat penetrasi *Candida albicans* pada resin akrilik. Meningkatnya koloni *Candida albicans* dapat menyebabkan *denture stomatitis*.
3. Saliva buatan adalah media yang digunakan untuk membantu perlekatan *Candida albicans* pada resin akrilik.
4. Suspensi *Candida albicans*  $10^8$ CFU/ml adalah suatu larutan yang berisi *Candida albicans* yang telah diencerkan dengan Aquades steril sehingga mencapai kekeruhan sesuai standar Brown III. Pertumbuhan *Candida albicans* dapat terlihat pada media agar.
5. Ekstrak seledri didapatkan dari hasil maserasi, dengan cara merendam serbuk ke dalam cairan pelarut. Hingga didapatkan keseimbangan antara cairan di dalam sel dan di luar sel.

## **G. Instrumen Penelitian**

1. Bahan Penelitian
  - a. Cakram resin akrilik *heat cured* dengan diameter 10 mm dan ketebalan 2 mm sebanyak 33 buah.
  - b. Etanol 70% untuk bahan pelarut.

- d. Ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dengan konsentrasi 50%.
- e. Media Brain Heart Infusion (BHI) sebagai media penyubur *Candida albicans*. Alkohohol 70% untuk sterilisasi cakram resin akrilik.
- f. Media Agar Sabouraud.
- g. Saliva buatan sebagai bahan perlekatan *Candida albicans*.
- h. Model malam
- i. Gips
- j. Vaseline

## 2. Alat Penelitian

- a. Becker glass untuk tempat perendaman resin akrilik ke dalam saliva buatan.
- b. Tabung reaksi untuk perendaman ke dalam suspensi *Candida albicans* dan untuk perendaman resin akrilik ke dalam ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dengan konsentrasi 50%.
- c. Glass ukur dan spuit untuk memindahkan cakram resin akrilik.
- d. Pinset steril untuk memindahkan cakram resin akrilik.
- e. Pipet.
- f. Lampu spiritus untuk mensterilkan ose.
- g. Ose digunakan untuk mengambil koloni *Candida albicans*.
- h. Inkubator.
- i. Adhesives untuk melekatkan resin akrilik

- j. Vortex mixer untuk melepaskan *Candida albicans* yang melekat pada cakram resin akrilik.
- k. Cawan petri dengan diameter 10 cm untuk tempat pembiakan *Candida albicans*.
- l. *Colony counter* untuk menghitung koloni *Candida albicans*.
- m. Press dan cuvet untuk membuat cakram resin akrilik.
- n. Kapas lidi steril.
- o. Stelon pot.

## H. Cara Penelitian

### 1. Tahap Persiapan Penelitian

#### a. Pembuatan cakram resin akrilik

Resin akrilik yang digunakan adalah jenis resin akrilik *heat cured*. Perbandingan antara polimer dan monomer adalah 3:1, proses pengadukannya menggunakan stelon pot sampai pada fase dough. Fase ini polimer dan monomer sudah terlarut dan tidak menempel lagi pada stelon pot. Proses selanjutnya dilakukan packing ke dalam kuvet kemudian direbus selama 1 jam. Setelah itu didinginkan dan dibersihkan, untuk merapikan sisa-sisa resin akrilik dapat digunakan arkansas dengan mikromotor.

#### b. Menyiapkan koloni *Candida albicans*

Suspensi *Candida albicans* diperoleh dari Fakultas

pembiakannya di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

c. Pembuatan suspensi *Candida albicans*

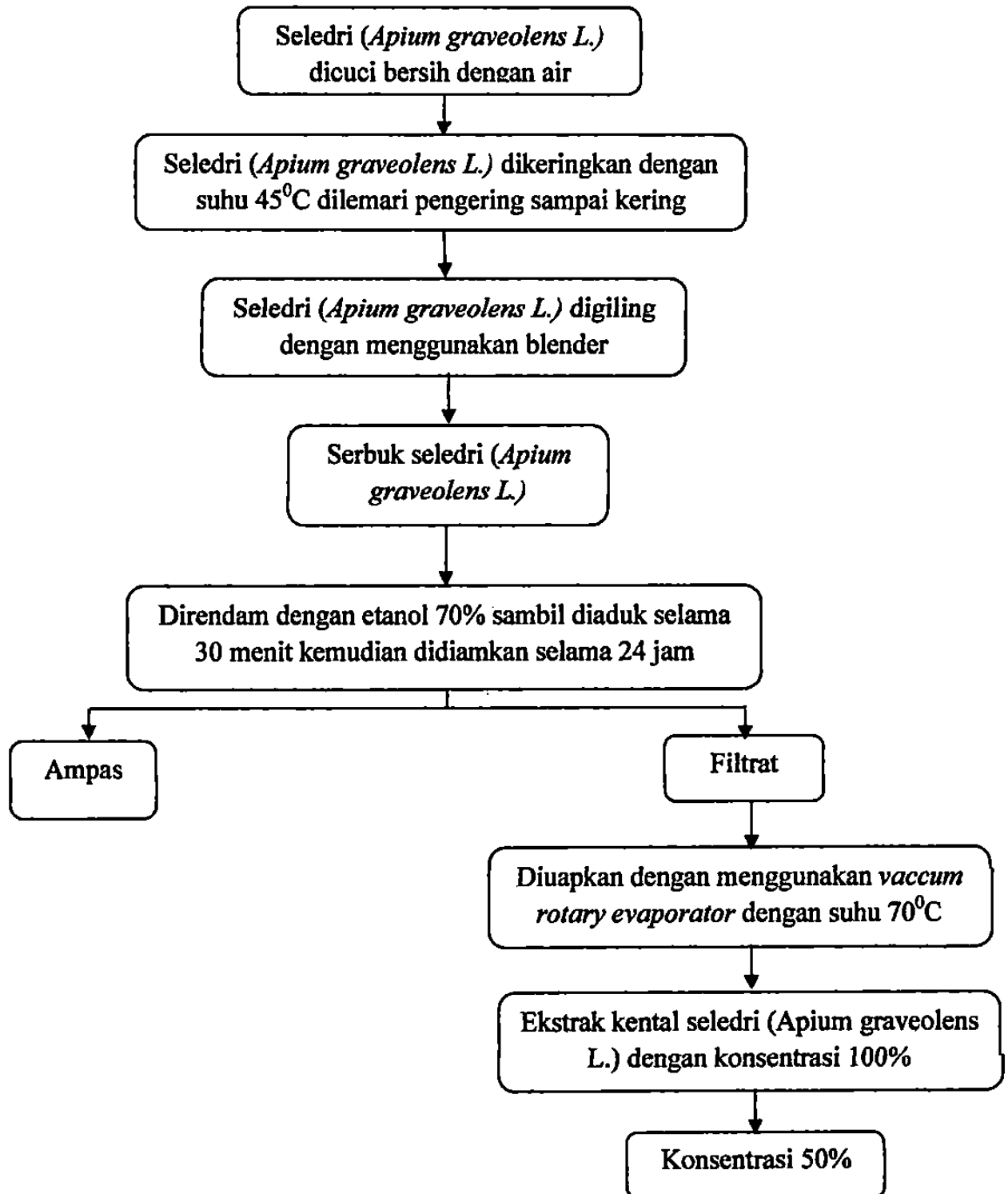
Jamur *Candida albicans* hasil biakan di laboratorium diambil dengan menggunakan ose steril, dimasukkan ke dalam media brain Heart Infusion (BHI) sebagai media penyubur dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Dibuat dengan standar Brown III yaitu 10<sup>8</sup>CFU/ml.

d. Pembuatan ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*)

Metode pembuatan ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) adalah dengan metode maserasi. Seledri (*Apium graveolens L.*) yang sudah dipanen dipisahkan dengan akarnya, kemudian dicuci dengan menggunakan air bersih. Daun yang sudah bersih dikeringkan di lemari pengering dengan suhu 45°C hingga kering. Daun yang sudah kering kemudian digiling sampai berbentuk serbuk seledri (*Apium graveolens L.*). Serbuk seledri (*Apium graveolens L.*) direndam dengan menggunakan etanol 70% sambil dilakukan pengadukan selama 30 menit lalu didiamkan 24 jam.

Setelah 24 jam maka akan akan terpisah antara ampas dan filtrat. Filtrat seledri (*Apium graveolens L.*) tersebut diuapkan dengan

..... dengan suhu 70°C

**Proses Pembuatan Ekstrak Seledri (*Apium graveolens L.*)**



## 2. Tahap Pelaksanaan Penelitian

Cakram resin akrilik dengan diameter 10 mm, ketebalan 2 mm yang berjumlah 33 buah disterilkan dengan menggunakan alkohol 70%, setelah itu direndam pada saliva buatan selama 1 jam untuk mempermudah perlekatan *Candida albicans* pada resin akrilik. Cakram resin akrilik yang sudah direndam dengan saliva buatan kemudian diambil dan direndam ke dalam tabung reaksi yang berisi suspensi *Candida albicans*  $10^8$ CFU/ml selama 24 jam dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Resin akrilik diambil dengan pinset kemudian dipindahkan ke dalam ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dan diberi nomor 1-33. Resin akrilik nomor 1-10 direndam ke dalam ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dengan konsentrasi 50% selama 2 jam, cakram resin akrilik nomor 11-20 direndam ke dalam ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dengan konsentrasi 50% selama 4 jam, dan cakram resin akrilik nomor 21-30 direndam ke dalam ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dengan konsentrasi 50% selama 6 jam.

Cakram resin akrilik yang sudah direndam ke dalam ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) konsentrasi 50% dengan lama perendaman yang berbeda diambil dengan pinset steril dan dimasukkan ke dalam 10 ml aquades steril kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diberi nomor 1 sampai 30. Setelah itu masing-masing tabung reaksi yang telah berisi cakram resin akrilik dikocok dengan menggunakan vortex mixer selama 1 menit untuk melepaskan *Candida albicans* yang menempel pada cakram resin

- a. Pengenceran  $P^1(10^{-1})$  dari tabung reaksi nomor 1, diperoleh dengan cara memasukkan 1 ml larutan dari tabung reaksi nomor 1 ke dalam tabung reaksi yang lain yang berisi 9 ml aquades steril.
- b. Pengenceran  $P^2(10^{-2})$  diperoleh dengan cara memasukkan 1 ml larutan  $P^1$  ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril.
- c. Pengenceran  $P^3(10^{-3})$  diperoleh dengan cara memasukkan 1 ml larutan  $P^2$  ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril.
- d. Diambil 0,1 ml larutan tes dari pengencer  $P^3$ , lalu ditetaskan pada 1 petri agar Sabouraud dan dieramkan dalam inkubator selama 48 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .
- e. Hal di atas tersebut dilakukan pada tabung reaksi nomor 2 sampai dengan tabung reaksi nomor 30.
- f. Setelah pengeraman selama 48 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , kemudian dilakukan perhitungan jumlah koloni jamur *Candida albicans* dengan menggunakan kaca pembesar dan alat hitung.

## I. Analisis Data

Data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan Saphiro-wilk dan dianalisis dengan menggunakan One Way ANOVA dengan program SPSS

### J. Alur Penelitian

