

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh lama perendaman plat dasar gigi tiruan resin akrilik *heat cure* pada ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* memiliki desain yaitu true ekperimental analitik laboratory karena peneliti ingin mengetahui apakah terdapat keefektifan jamur dalam membunuh *Candida albicans*.

B. Tempat dan Waktu

1. Waktu penelitian :

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2013.

2. Tempat penelitian :

Penelitian dilakukan di Laboratorium Universitas Muhammadiyah
Yogyakarta.

C. Subyek penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah resin akrilik *heat cure* sebanyak 75

..... Ketentuan ini didapat dengan menggunakan rumus Federeer

Keterangan : n = jumlah sampel

t = kelompok yang diuji

$$t-1 (n-1) \geq 15$$

$$5-1(n-1) \geq 15$$

$$4 (n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15+4$$

$$n \geq 19/4$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Berdasarkan rumus diatas diperoleh jumlah sampel minimal untuk masing-masing kelompok dalam penelitian adalah 4,75. Namun, agar hasil yang diperoleh akurat maka besar sampel yang digunakan adalah 5 untuk masing-masing konsentrasi. Subyek yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) dengan konsentrasi 60%, 30%, dan 15%, dan sebagai kontrolnya yaitu Chlorhexidine dan Aquades. Subyek penelitian yang digunakan adalah *Candida albicans* pembiakan jamur murni yang dibiakkan oleh Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta. Kekeruhannya disesuaikan dengan larutan standar Brown 10^8 CFU/ml.

D. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusinya yaitu :

1. Resin akrilik yang halus dan tidak berporus

2. Daya tahan *Candida albicans* yang baik

3. Konsentrasi kulit buah manggis yang tepat

Kriteria eksklusinya yaitu :

Takaran resin akrilik yang tidak sesuai dan konsentrasi kulit manggis yang tidak sesuai dengan ketentuan.

E. Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Identifikasi Variabel

- a. Variabel Pengaruh : Ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dengan konsentrasi 60%, 30%, 15% dan lama perendaman selama 15 menit, 30 menit, dan 45 menit.
- b. Variabel Terpengaruh : Pertumbuhan jumlah koloni *Candida albicans* pada resin akrilik *heat cure*.
- c. Variabel Terkendali :
 - 1). Jenis resin akrilik : resin akrilik *heat cure*
 - 2) Ukuran cakram resin akrilik : diameter 10mm dan ketebalan 2mm
 - 3). Jumlah resin akrilik *heat cure* : 75 buah.
 - 4). Lama perendaman cakram resin akrilik dalam suspensi *Candida albicans* 24 jam pada suhu 37°C.
 - 5). Lama perendaman resin akrilik pada ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) yaitu 15 menit, 30 menit, dan 45 menit.
 - 6). Lama pengeraman cawan petri dalam inkubator 24 jam pada suhu 37°C.

d. Variabel tak terkendali :

- 1). Kontaminasi bakteri dan jamur lain.
- 2). Keporusan resin akrilik.
- 3). Jumlah kepekatan *Candida albicans* pada resin akrilik.
- 4). Penyebaran suspensi jamur.
- 5). Usia tanaman.
- 6). Waktu polimerisasi.
- 7). Perbandingan serbuk cairan.
- 8). Kekasaran resin akrilik heat cure.
- 9). Kepadatan resin akrilik.

2. Definisi Operasional Penelitian

- a. Resin akrilik merupakan salah satu bahan yang sering digunakan di kedokteran gigi sebagai bahan untuk membuat basis gigi tiruan. Bahan tersebut harus menunjukkan mutu khusus termasuk kestabilan dimensi dan kimia serta memiliki sifat yang kuat, keras, tidak rapuh, dan relatif mudah dimanipulasi.
- b. *Candida* merupakan flora normal dalam selaput lendir, saluran pernapasan, saluran pencernaan dan genitalia wanita. Dalam rongga mulut spesies *Candida* yang paling dominan adalah *Candida albicans*, di dalam rongga mulut yang sehat dilaporkan berkisar antara 30 – 70 %.
- c. *Denture cleanser* adalah suatu bahan atau zat untuk mencegah akumulasi bakteri dan infeksi rongga mulut karena bakteri dan jamur

- d. Manggis juga dikenal sebagai tanaman budidaya dan merupakan salah satu tanaman buah tropika yang pertumbuhannya paling lambat, tetapi umurnya juga paling panjang.

F. Instrumen Penelitian

1. Bahan Penelitian :

- a. Ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dengan konsentrasi 60%, 30%, 15%.
- b. Sediaan jamur *Candida albicans* 10^8 CFU/ml.
- c. Resin akrilik heat cure.
- d. Media Brain Heart Infusion (BHI) sebagai media pembiakan *Candida albicans*.
- e. Alkohol 70% untuk sterilisasi cakram resin akrilik.
- f. Model malam.
- g. Gips.
- h. Vaseline.
- i. CMS.
- j. Saliva buatan sebagai bahan perlekatan *Candida albicans*.
- k. Media Agar Sabouraud.

2. Alat Penelitian

- a. Rubber bowl dan spatula.
- b. Press dan kuvet untuk membuat cakram resin akrilik.
- c. Beaker glass untuk tempat perendaman cakram resin akrilik di dalam

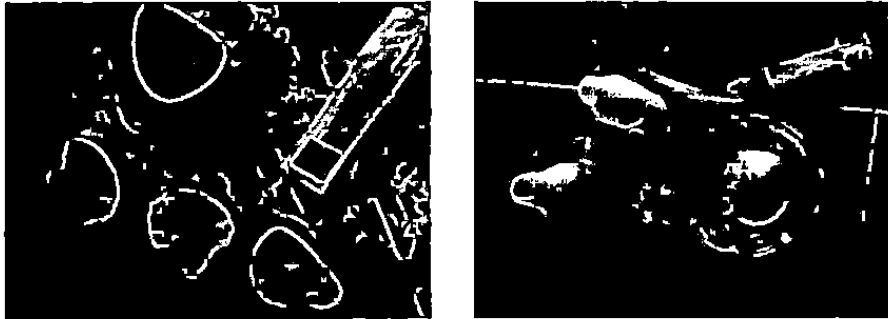
- d. Tabung reaksi untuk perendaman cakram resin akrilik ke dalam suspensi *Candida albicans* dan untuk perendaman cakram resin akrilik ke dalam ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) dengan konsentrasi 60%, 30%, 15%.
- e. Glass ukur dan spuit injeksi untuk mengukur ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*).
- f. Pipet.
- g. Pinset steril untuk memindahkan cakram resin akrilik.
- h. Lampu spirtus untuk mensterilkan ose.
- i. Ose digunakan untuk mengambil koloni *Candida albicans*.
- j. Inkubator.
- k. Arkansass untuk menghaluskan cakram resin akrilik.
- l. *Vortex mixer* untuk melepaskan *Candida albicans* yang melekat pada cakram resin akrilik.
- m. Cawan petri dengan diameter 10 cm untuk tempat pembiakan *Candida albicans*.
- n. Kapas lidi steril.
- o. Stelon pot.
- p. Crownmess.
- q. Kertas saring
- r. Jam untuk menghitung waktu pengukuran lama perendaman.

G. Cara Pengumpulan Data

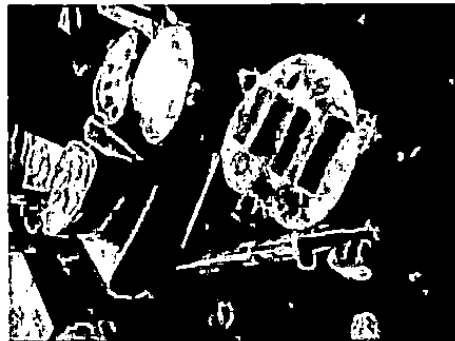
1. Tahap persiapan penelitian
 - a. Pembuatan cakram resin akrilik

Pembuatan sampel dari lempeng akrilik adalah sebagai berikut, kuvet disiapkan dengan terlebih dahulu mengulasinya dengan vaselin. Gips diaduk lalu dituangkan ke dalam kuvet. Selanjutnya master model dari logam kuningan bentuk silinder dengan diameter 10 mm dan tebal 2 mm, yang telah diulasi vaselin diletakkan di atas adonan gips dengan posisi mendatar. Setelah gips pada kuvet bagian bawah mengeras, permukaan atas gips dan master model diulasi vaselin. Lalu kuvet lawan dipasang dan dituangi adonan gips keras sambil diletakkan di atas vibrator. Kemudian kuvet ditutup dan dipres, ditunggu sampai gips mengeras. Setelah gip mengeras, kuvet dibuka dan master model dikeluarkan. Cetakan dibersihkan serta diulasi selapis bahan separasi *could mould seal* dengan menggunakan kuas dan ditunggu sampai kering. Bahan resin akrilik *heat cure* dimasukkan dalam pot porselen dan diaduk, pot ditutup. Setelah mencapai *dough stage* adonan dimasukkan dalam cetakan dan kuvet lawan ditutupkan, lalu ditekan dengan pres kemudian kuvet dibuka dan kelebihan akrilik diambil dengan menggunakan pisau model. Selanjutnya kuvet lawan ditutupkan dan ditekan dengan pres kembali. Penekanan dengan pres pada kuvet diulang sebanyak dua kali sampai tidak ada kelebihan akrilik, lalu ditekan dengan pres kemudian siap direbus. Tempat perebusan diisi air sampai di atas kuvet, lalu kemudian resin akrilik direbus hingga

mendidih. Setelah mendidih kemudian kuvet didiamkan hingga dingin, setelah kuvet dingin beberapa derajat kemudian dibuka lalu lempeng akrilik dikeluarkan, kelebihan akrilik dibuang dan dihaluskan dengan proses polishing dan finishing (David, 2005).



Gambar 5 dan 6. Persiapan pembuatan cakram resin akrilik



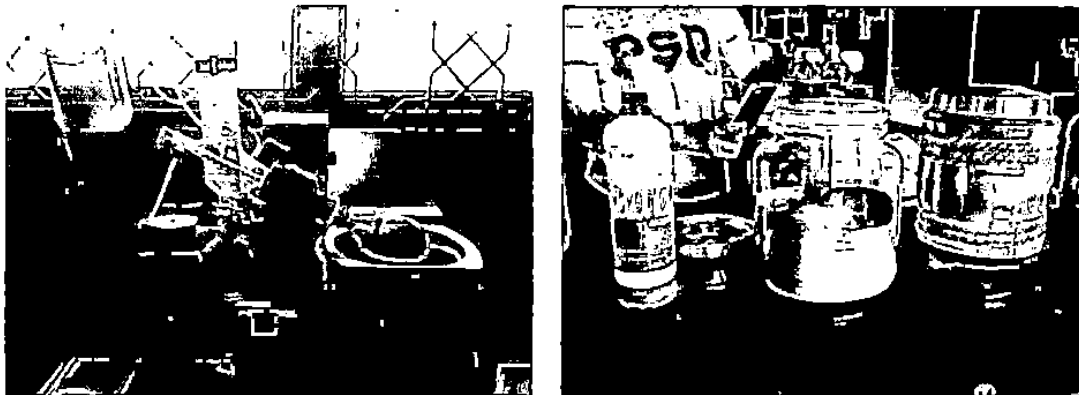
Gambar 7. Pembuatan cakram resin akrilik

b. Persiapan ekstrak kulit manggis

Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L*) dipotong-potong dan dikeringkan lalu angin-anginkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari secara langsung kemudian diblender dan disaring dengan penyaring. Dilanjutkan dengan proses ekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk direndam dengan etanol 70% selama 30 menit dan didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya larutan difiltrasi dan diuapkan

diuapkan pada suhu 50°. Hasil evaporasi dimasukkan

ke dalam wadah steril dan disimpan di dalam desikator silika gel. Ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L*) dibuat dalam konsentrasi 60%, 30%, 15% (Maliana, 2013).

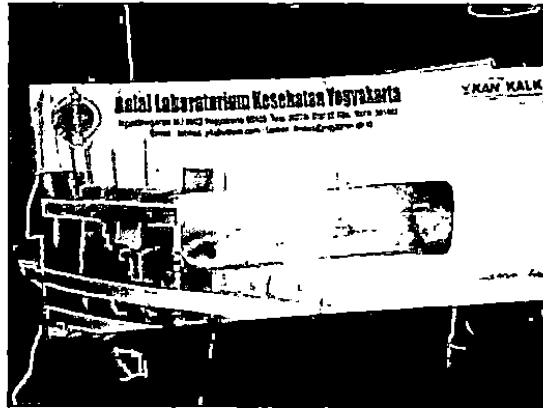


Gambar 8 dan 9. Pembuatan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*).

c. Persiapan koloni *Candida albicans*

Koloni *Candida albicans* diperoleh dari biakan yang telah diperoleh di Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

Koloni jamur *Candida albicans* hasil biakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, diambil dengan menggunakan ose steril dimasukkan kedalam media Brain Heart Infusion (BHI) sebagai media penyubur kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C sehingga diperoleh suspensi *Candida albicans*. Suspensi *Candida albicans* diencerkan dengan menambahkan akuades steril sehingga mencapai kekeruhan tertentu sesuai dengan



Gambar 10. Koloni *Candida albicans*

2. Tahap Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode dilusi atau pengenceran seri. Metode dilusi dilakukan dengan cara : cakram resin akrilik dengan diameter 10 mm dan ketebalan 2 mm sebanyak 75 buah (nomor 1-75) disterilkan dengan alkohol 70%, lalu direndam dalam saliva selama 1 jam, kemudian diambil dengan pinset steril dan direndam dalam 10ml suspensi *Candida albicans* selama 24 jam pada suhu 37°C dalam tabung reaksi. 75 buah cakram resin akrilik tersebut dibagi dalam 5 kelompok, 10 buah cakram resin akrilik sebagai kontrol. Ketiga kelompok direndam dalam ekstrak kulit manggis pada konsentrasi yang berbeda pada suhu kamar. Kelima kelompok tersebut direndam dengan lama perendaman selama 15 menit, 30 menit dan 45 menit. Kelompok 1 terdiri dari cakram resin akrilik nomor 1-5 yang digunakan sebagai kontrol negatif dan direndam dalam 10 ml akuades steril. Kelompok II terdiri atas cakram resin akrilik nomor 6-10 yang direndam dalam ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 15% dan ditempatkan dalam tabung nomor 6-10. Kelompok III terdiri dari cakram resin akrilik nomor 11-15 yang direndam dalam ekstrak kulit

manggis dengan konsentrasi 30% dan ditempatkan dalam tabung nomor 11-15. Kelompok IV terdiri dari cakram resin akrilik 16-20 yang direndam dalam ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 60%. Kelompok V terdiri dari cakram resin akrilik 21-25 yang digunakan sebagai kontrol positif dan direndam dalam klorhexidine 0,2%. Kelima kelompok tersebut akan dilakukan pengulangan perhitungan dalam waktu 15 menit, 30 menit dan 45 menit. Cakram resin akrilik diambil dan dimasukkan dalam masing-masing tabung reaksi berisi akuades 10 ml, kemudian masing-masing dikocok dengan wortex mixer selama 1 menit dan masing-masing tabung reaksi dilakukan pengenceran seri sampai 10^{-3} dengan cara:

- a. Pengenceran P^1 (10^{-1}) diperoleh dengan cara memasukkan 1 ml larutan dari tabung nomor 6-10 ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril.
- b. Pengenceran P^2 (10^{-2}) diperoleh dengan cara memasukkan 1 ml larutan dari tabung nomor 11-15 ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril.
- c. Pengenceran P^3 (10^{-3}) diperoleh dengan cara memasukkan 1 ml larutan dari tabung nomor 16-20 ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril.
- d. Ambil 0,01 ml larutan tes dari pengenceran P^3 , kemudian ditetaskan pada 1 cawan petri agar Sabouraud dan dieramkam dalam inkubator selama 48 jam pada suhu 37°C .

e. Hal yang sama dilakukan pada tabung reaksi 2, 75

f. Perhitungkan jumlah koloni *Candida albicans* pada masing-masing konsentrasi ekstrak kulit manggis dan larutan kontrol dilakukan setelah diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Jumlah koloni *Candida albicans* yang diperoleh, digunakan untuk menghitung angka jamur masing-masing konsentrasi ekstrak kulit manggis dan larutan kontrol dengan menggunakan rumus (Wahyuningtyas, 2008) sebagai berikut :

- 1). Perhitungan angka *Candida albicans* pada masing-masing konsentrasi ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) dan larutan kontrol dengan rumus :

$$\text{Angka jamur} = \frac{\text{Jumlah koloni} \times \text{Faktor pengenceran}}{\text{Volume larutan yang dihitung}}$$

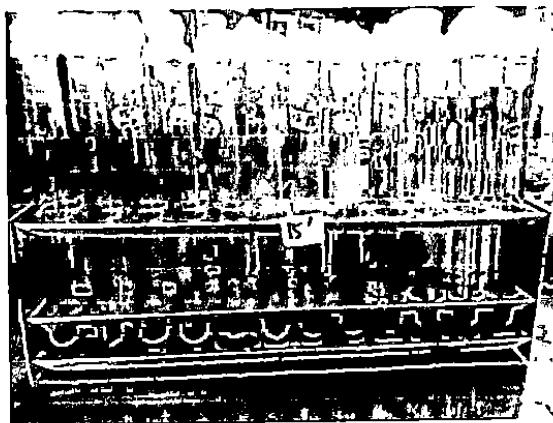
- 2). Perhitungan kadar hambat minimal (KHM) untuk mengetahui daya anti jamur pada masing-masing konsentrasi dengan rumus :

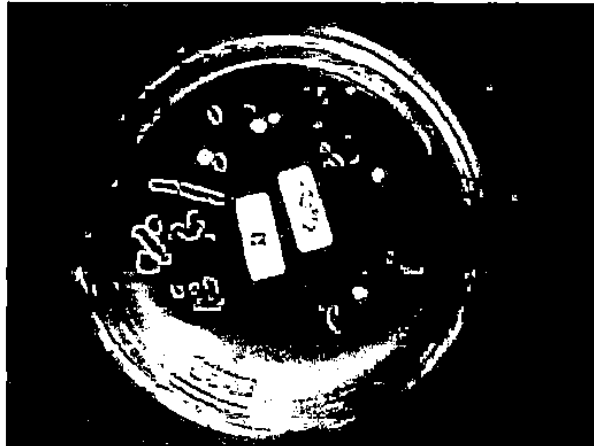
$$\text{KHM} = \frac{100\% - \text{AJT} \times 100\%}{\text{AJK}}$$

Keterangan :

AJT = Angka jamur pada konsentrasi tertentu (CFU/ml)

AJK = Angka jamur pada larutan kontrol





Gambar 12. Hasil konsentrasi 30% dengan waktu 15 menit

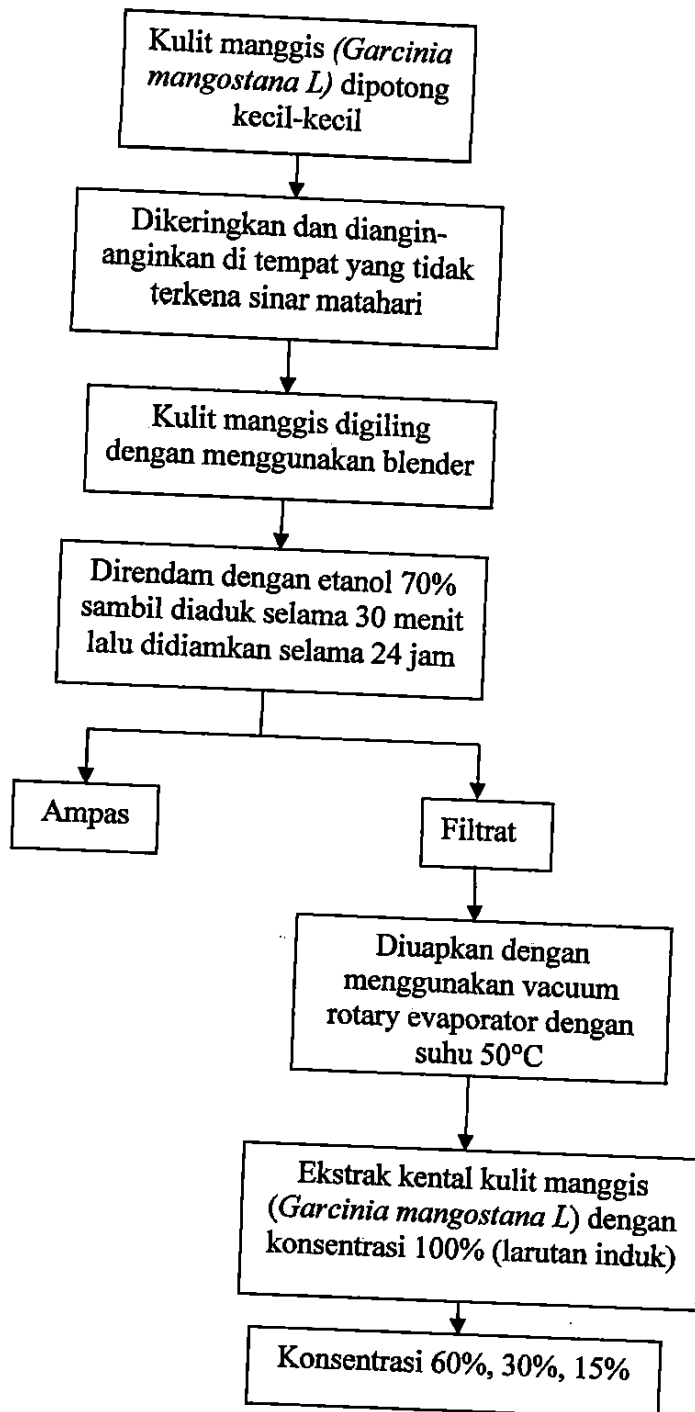
H. Analisa Data

Data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan Kolmogorov Smirnov dianalisis dengan menggunakan Analisis One Way Anova.

I. Etika Penelitian

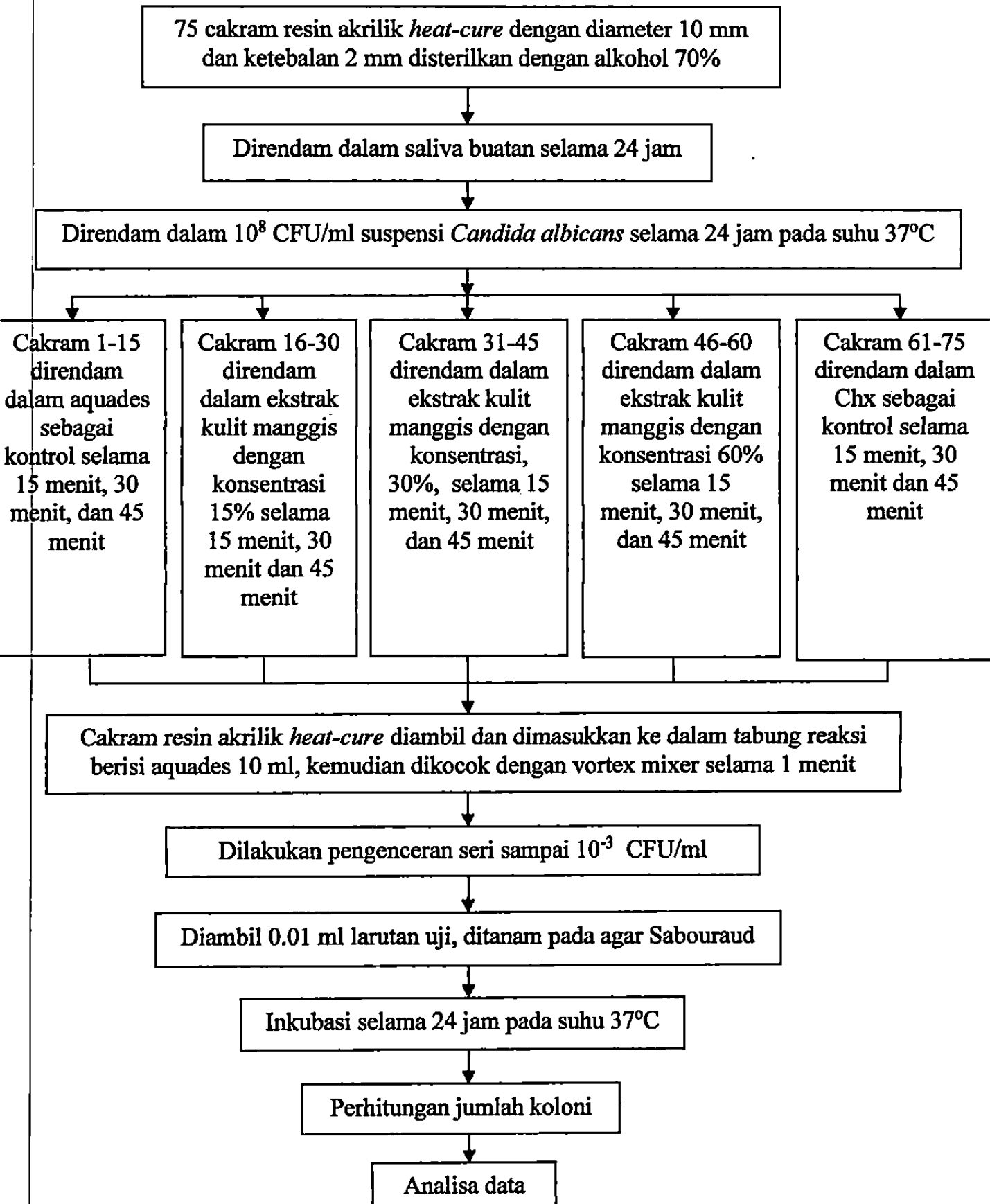
1. Memusnahkan media perkembangbiakan jamur *Candida albicans*.
2. Menjaga kesterilan alat penelitian

J. Proses Pembuatan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*)



Gambar 12. Proses pembuatan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L)

K. Skema Tahapan Penelitian



Gambar 14. Proses Tahapan Penelitian