

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dan dengan desain penelitian *post-test only control group*.

#### B. Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah resin akrilik *heat cure* sebanyak 25 sampel. Ketentuan besar sampel dengan menggunakan rumus *Federeer*.

Keterangan :       $n$  = jumlah sampel       $t-1 (n-1) \geq 15$   
                                  $t$  = 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 kelompok.

#### C. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Farmasi dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta terhitung dari tanggal 10 sampai 23 Desember 2016.

#### D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak buah salak pondoh (*Salacca zalacca*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% 100%.
2. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu jumlah pertumbuhan *Candida albicans*.
3. Variabel terkontrol
  - a. Jenis resin akrilik polimerisasi panas (*heat cure*).
  - b. Perbandingan serbuk dan cairan.
  - c. Plat resin akrilik dalam bentuk cakram dengan diameter 10 mm dan ketebalan 2 mm.
  - d. Lama perendaman plat resin akrilik dalam saliva buatan selama 1 jam pada suhu 37°C
  - e. Suhu inkubasi 37°C
  - f. Volume *Candida albicans* 10ml dengan konsentrasi sesuai standar Brown III ( $10^8$  CFU/ml)
  - g. Lama perendaman plat dalam suspensi *Candida albicans* selama 24 jam pada suhu 37°C
  - h. Konsentrasi ekstrak buah salak pondoh (*Salacca zalacca*) 25%, 50%, 75% dan 100%.
  - i. Lama perendaman plat resin akrilik pada ekstrak buah salak pondoh (*Salacca zalacca*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% selama 8 jam dan pada suhu ruang. (Wahyuningtyas, 2008)
  - j. Lama inkubasi cawan petri dalam inkubator selama 48 jam.

#### 4. Variabel tak terkendali

- a. Daerah penyebaran *Candida albicans*

### E. Definisi Operasional

- a. Ekstrak buah salak adalah sediaan cair yang dibuat dengan metode maserasi. Maserasi merupakan cara penyaringan yang sederhana, dengan cara merendam serbuk kedalam cairan penyari. Hingga terdapat keseimbangan antara larutan diluar sel dan didalam sel.
- b. Suspensi *Candida albicans*  $10^8$  CFU/ml adalah suatu larutan yang berisi *Candida albicans* yang telah disuburkan dan dan diencerkan dengan aquades steril hingga mencapai kekeruhan sesuai standar Brown III.
- c. Plat resin akrilik adalah simulasi basis gigi tiruan dalam bentuk cakram yang terbuat dari resin akrilik *heat cure* dengan diameter 10 mm dan ketebalan 2 mm sebanyak 25 buah.
- d. Saliva buatan adalah media yang digunakan untuk membantu perlekatan *Candida albicans* pada plat resin akrilik. Proses pembuatan 1 liter saliva buatan menggunakan metode McDougall dengan komposisi bahan yang terdiri dari aquades,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$  dan  $\text{MgCl}$  dengan pH 6,8.
- e. Pertumbuhan *Candida albicans* adalah jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media agar sabouraud.
- f. Konsentrasi 100% merupakan larutan induk yang diencerkan dengan perbandingan ekstrak dan aquades 1:1

- g. Konsentrasi 25%, 50%, dan 75% merupakan hasil dari pengenceran larutan induk 100%.

## **F. Instrumen Penelitian**

### 1. Alat

- a. Becker glass (IWAKI pyrex, Japan) sebagai tempat perendaman plat resin akrilik kedalam saliva buatan
- b. Tabung reaksi (IWAKI pyrex, Japan) untuk tempat perendaman plat resin akrilik ke dalam suspensi *Candida albicans*, aquades dan ekstrak buah salak pondoh (*Salacca zalacca*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%
- c. Gelas ukur (IWAKI pyrex, Japan) untuk mengukur ekstrak buah salak pondoh (*Salacca zalacca*)
- d. Pinset steril untuk memindahkan plat resin akrilik
- e. Timbangan digital untuk mengukur berat ekstrak (Mettler Toledo AL-204)
- f. Pipet (IWAKI, Japan)
- g. Lampu spiritus untuk mensterilkan ose
- h. Ose digunakan untuk mengambil koloni *Candida albicans*.
- i. Inkubator (Memmert)
- j. Rotary evaporator (IKA RV 10)
- k. Vortex mixer untuk melepaskan *Candida albicans* yang melekat pada plat resin akrilik (Gemmy VM-300, Taiwan).
- l. Cawan petri (Herma)

- m. Kapas lidi steril.
- n. Kain flanel sebagai penyaring maserat ekstraksi.
- o. Kertas saring.

## 2. Bahan

- a. Buah salak pondoh (*Salacca zalacca*) dalam bentuk ekstrak dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%
- b. Resin akrilik *heat cure* Densply QC-20 dalam bentuk cakram padat dengan diameter 10 mm dengan ketebalan 2 mm sebanyak 25 buah
- c. Suspensi *Candida albicans*  $10^8$ CFU/ml
- d. Aquades steril
- e. Media pembiakan *Candida albicans*
- f. Alkohol 70%
- g. Media agar sabouroud (Merck KGaA, Germany)
- h. Saliva buatan sebagai bahan perlekatan *Candida albicans* pada plat resin akrilik.

## G. Cara Pengumpulan Data

### 1. Tahap persiapan penelitian

- a. Pembuatan plat resin akrilik

Kuvet yang diolesi dengan vaselin disiapkan terlebih dahulu. Gips diaduk lalu dituangkan kedalam kuvet. Master model dari logam kuningan berbentuk silinder dengan diameter 10 mm dan tebal 2 mm diolesi vaselin diletakkan diatas adonan gips dengan posisi mendatar. Setelah gips pada kuvet bagian bawah mengeras, permukaan atas gips

dan master model diolesi vaselin. Kuvet lawan dipasang dan dituangi adonan gips keras sambil diletakkan diatas vibrator. Kuvet ditutup dan dipres lalu ditunggu sampai gips mengeras. Setelah gips mengeras, kuvet dibuka dan master model dikeluarkan. Cetakan dibersihkan serta diolesi dengan bahan separasi *could mould seal* (CMS) dengan menggunakan kuas dan ditunggu sampai kering. Bahan resin akrilik *heat cure* dengan perbandingan yang digunakan antara monomer dan polimer adalah 3 : 1 dimasukkan kedalam pot porselen dan diaduk lalu pot ditutup. Setelah mencapai *dough stage* adonan dimasukkan kedalam cetakan dan kuvet lawan ditutupkan, ditekan dengan pres kemudian kuvet dibuka dan kelebihan akrilik diambil dengan menggunakan pisau model. Selanjutnya kuvet lawan ditutupkan dan ditekan dengan press kembali. Penekanan diulang samai tidak ada kelebihan akrilik lalu ditekan dengan pres kemudian siap direbus. Tempat perebusan diisi air sampai atas kuvet kemudian resin akrilik direbus hingga mendidih. Setelah mendidih kuvet didiamkan hingga dingin, setelah dingin beberapa derajat kuvet dibuka lalu lempeng akrilik dikeluarkan. Kelebihan akrilik dapat dibuang atau dihaluskan dengan proses *polishing* dan *finishing*.

b. Pembuatan ekstrak buah salak pondoh (*Salacca zalacca*)

Pembuatan ekstrak buah salak pondoh dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Pertama daging buah salak pondoh (*Salacca zalacca*) dipisahkan dari kulit serta bijinya lalu dipotong-

potong dan dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan kemudian di *blender* hingga menjadi simplisia. Simplisia kemudian diremas sampai hancur. Bubuk simplisia salak pondoh diekstraksi dengan penyari etanol 70% dengan perbandingan 1:5 (b/v) direndam selama 7 hari dan diaduk setiap 24 jam selama 30 menit. Selanjutnya larutan difiltrasi dengan menggunakan kain flannel dan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak salak yang kental. Ekstrak etanol buah salak pondoh (*Salacca zalacca*) dibuat dalam konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%.

c. Persiapan *Candida albicans*

Koloni *Candida albicans* diperoleh dari hasil biakan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Koloni *Candida albicans* diambil dengan menggunakan ose steril dimasukkan kedalam media penyubur NaCl kemudian diinkubasikan selama 2 jam pada suhu 37°C sehingga diperoleh suspensi *Candida albicans*. Suspensi *Candida albicans* diencerkan dengan ditambahkan aquades steril sehingga mencapai kekeruhan tertentu sesuai dengan standar Brown III yaitu  $10^8$  CFU/ml.

2. Tahap pelaksanaan penelitian

Plat resin akrilik disterilisasi dengan alkohol 70% kemudian direndam dengan saliva buatan selama satu jam untuk memudahkan perlekatan *Candida albicans*, lalu plat dikontaminasikan dengan suspensi *Candida albicans* selama 24 jam pada suhu 37°C. Plat resin akrilik yang

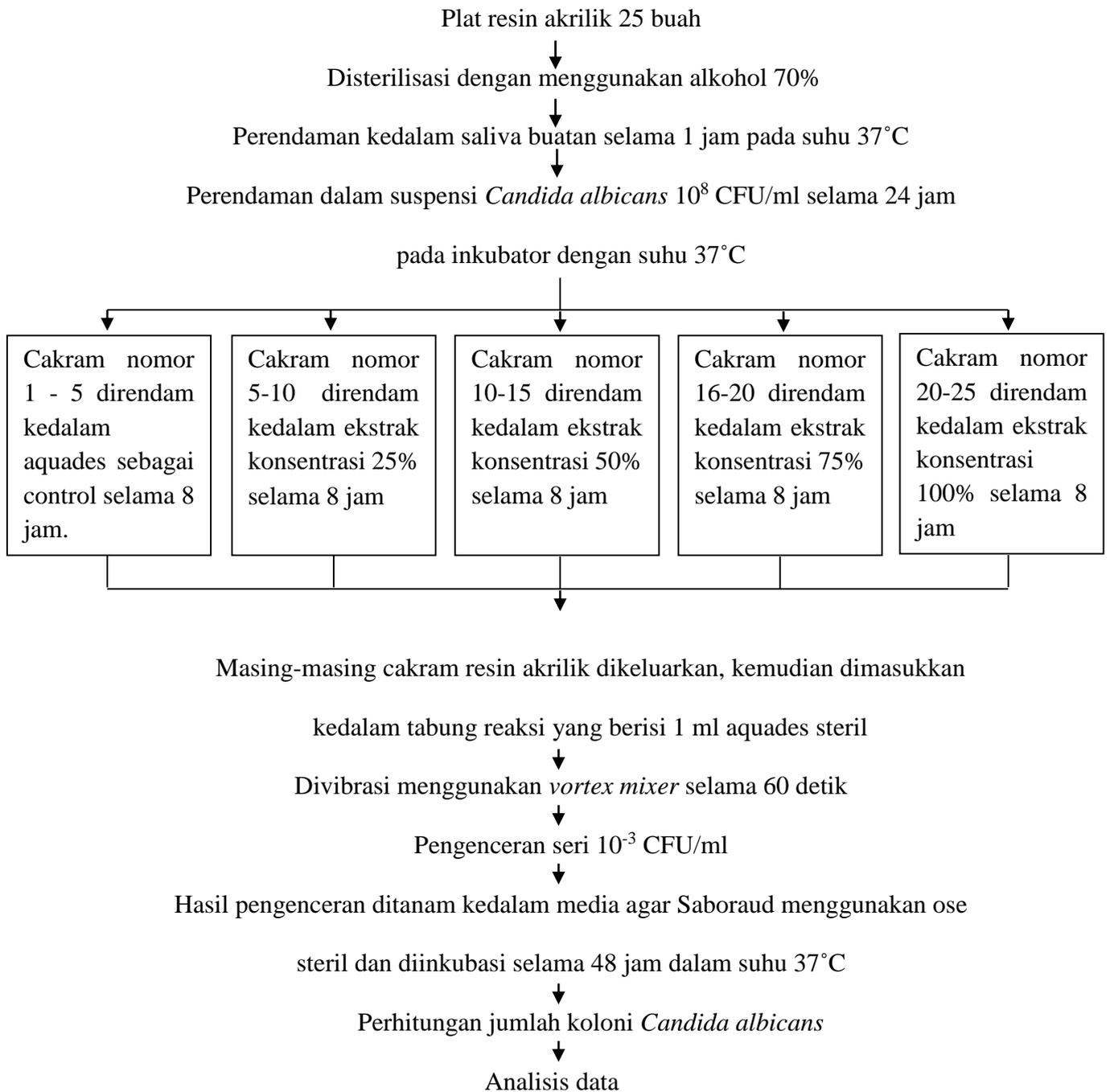
berjumlah 25 buah dibagi kedalam 5 kelompok perlakuan sehingga masing-masing perlakuan terdapat 5 buah plat resin akrilik. Kelompok perlakuan terdiri dari aquades sebagai kontrol negatif, konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75% dan 100%. Plat resin akrilik direndam kedalam masing-masing kelompok perlakuan selama 8 jam, lalu plat diambil kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi aquades lalu masing-masing tabung reaksi dikocok menggunakan *vortex mixer*. Pengenceran seri dilakukan pada masing – masing tabung sampai  $10^{-3}$  CFU/ml. Hasil pengenceran kemudian diambil sebanyak 0,01 ml dan dioleskan pada media saboroud agar dengan menggunakan ose steril. Setelah itu diinkubasi selama 48 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  lalu dilakukan perhitungan jumlah koloni *Candida albicans*. Untuk menghitung angka jamur pada ekstrak buah salak pondoh (*Salacca zalacca*) dalam berbagai konsentrasi dan aquades dilakukan dengan rumus :

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

#### H. Analisis Data

Normalitas data diuji dengan *Shapiro-wilk*, kemudian dianalisis dengan menggunakan *One-Way ANOVA* apabila memenuhi syarat dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

## I. Alur Penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian