

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian yang akan dilakukan menggunakan jenis penelitian *experimental laboratoris*.

#### **B. Tempat dan waktu penelitian**

##### 1. Tempat Penelitian

- a. Laboratorium Biokimia Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk menggunakan oven dengan suhu 110°C selama 2 jam dan 5 jam.
- b. Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (FKIK UMY) untuk membuat pasta cangkang telur ayam negeri.
- c. Laboratorium Teknik Mesin Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk menggunakan oven dengan suhu 1000°C selama 5 jam.
- d. Ruang Skills Lab Terpadu PSKG UMY untuk pengaplikasian etsa asam dan pasta cangkang telur ayam negeri.
- e. Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM untuk melihat pengaruh etsa asam terhadap permukaan email gigi menggunakan *scanning electron microscope* (SEM).

f. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) untuk melihat pengaruh aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri terhadap permukaan email gigi menggunakan alat *Scanning Electron Microscope* (SEM)

## 2. Waktu

Penelitian ini dilakukan selama 2 minggu, dimulai pada bulan september 2018.

## C. Populasi dan Sampel Penelitian

### 1. Populasi

Populasi pada penelitian ini menggunakan gigi premolar permanen yang telah di ekstraksi.

### 2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah gigi premolar rahang atas dan bawah yang telah diekstraksi dan dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Jumlah sampel menggunakan 5 gigi yang 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  $\sigma$   
(jika  $\sigma = 0,05$  maka  $Z = 1,96$ )

$\sigma$  : 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 premolar permanen
- b. Mahkota gigi bebas karies, erosi, atrisi, dan abrasi
- c. Gigi tidak retak atau fraktur
- d. Cangkang telur ayam negeri

##### 2. Kriteria Eksklusi

- a. Gigi pernah mengalami perawatan saluran akar
- b. Gigi yang terdapat anomali pada struktur email, seperti *hypoplasia* email
- c. Gigi yang mengalami fluorosis

## E. Variabel Penelitian

### 1. Variabel Pengaruh

Lama pengolesan pasta cangkang telur ayam negeri

### 2. Variabel Terpengaruh

Gambaran mikroporositas email gigi

### 3. Variabel Terkendali

- a. Jenis gigi premolar
- b. Konsentrasi asam fosfat yang digunakan 37%
- c. Cara pengolesan asam fosfat
- d. Lama pengolesan asam fosfat selama 60 detik
- e. Jenis cangkang telur ayam negeri
- f. Suhu kalsinasi 1000°C
- g. Lama pengolesan pasta cangkang telur ayam negeri selama 30 menit
- h. Waktu pengaplikasian pasta cangkang telur ayam negeri pada malam hari
- i. Jangka waktu pengolesan pasta cangkang telur ayam negeri dengan jarak waktu pengaplikasian 24 jam 1 kali selama 14 hari
- j. Ukuran perbesaran *Scanning Electron Microscope* (SEM) sebesar 2000 kali

4. Variabel Tidak Terkendali
  - a. Ketebalan email gigi premolar
  - b. Usia gigi premolar

#### **F. Definisi operasional**

1. Pasta Cangkang Telur Ayam

Pasta cangkang telur ayam adalah sediaan pasta yang mengandung hidroksiapatit dari cangkang telur ayam negeri melalui metode presipitasi, berfungsi sebagai pengganti mineral email gigi yang hilang akibat demineralisasi

2. Gambaran Mikroporositas Email

Merupakan gambaran mikroporositas permukaan email gigi akibat demineralisasi etsa asam 37% berupa pelepasan kalsium dan fosfat yang terdapat pada email gigi.

3. Scanning Electron Microscope (SEM)

Merupakan alat yang digunakan untuk melihat permukaan mikroporositas email gigi pada sampel setelah aplikasi etsa asam dan untuk melihat permukaan email gigi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam dengan perbesaran 2000 kali.

#### **G. Instrument Penelitian**

1. Alat Penelitian

- a. Wadah plastik
- b. Mortar dan pestle
- c. Bengkok

- d. Oven dengan merk Nabertherm (untuk kalsinasi)
- e. *Microbrush*
- f. Pinset
- g. Gelas beker
- h. Sendok
- i. *Handpiece*
- j. *Separating disc*
- k. *Three way syringe*
- l. Pipet
- m. Mangkuk keramik
- p. Alat pengukur pH
- q. Timbangan digital
- r. *Magnetic Stirrer* dengan merk Cimarec (untuk sintesis hidroksiapatit)
- s. *Scanning Electron Microscope* (SEM) dengan merk Phenom

## 2. Bahan Penelitian

- a. Gigi premolar
- b. Cangkang telur ayam negeri
- c. Masker
- d. *Handscoon*
- e. Air
- f. Asam fosfat 37%

- g. Asam Nitrat 65% (untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam)
- h. Aquabides (untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam)
- i. Amonium hidroksida (untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam)
- j. Buffer (untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam)
- k. Diamonium hidrogenfosfat atau  $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$  (untuk sintesis hidroksiapatit dari cangkang telur ayam)
- l. Aquades (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)
- m. Nipagin (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)
- n. NaCMC (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)
- o. Gliserol (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)
- p. Alkohol (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)
- q. Menthol (untuk pembuatan pasta cangkang telur ayam)
- r. Alumunium foil
- s. Kertas Whatman nomer 42

## **H. Jalannya Penelitian**

1. Tahap Persiapan
  - a. Menyiapkan proposal penelitian pada bulan April 2018
  - b. Mengurus *ethical clearance* pada Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY.

- c. Mengurus surat keterangan guna peminjaman ruang laboratorium untuk penelitian dari PSKG UMY yang di tujukan pada LPPT UGM dan ruang laboratorium UMY.

## 2. Cara Pembuatan

- a. Membersihkan cangkang telur ayam dari kotoran, kemudian memisahkan selaput lendir dari cangkang telur ayam. Kulit telur yang sudah dibersihkan dijemur hingga kering. Kemudian melakukan kalsinasi pada cangkang kulit telur ayam tersebut dengan suhu  $110^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam untuk mengeringkan cangkang telur ayam. Setelah itu dihancurkan hingga membentuk partikel kecil lalu di haluskan menggunakan blender dan kemudian di ayak. Serbuk cangkang telur ayam tersebut di kalsinasi kembali dengan suhu  $1000^{\circ}\text{C}$  selama 5 jam untuk menghasilkan serbuk putih kalsium. Pembuatan larutan kalsium dengan cara menggabungkan 2,6110 g CaO dengan 100 ml asam nitrat 65% dan 100 ml aquabides. Larutan yang telah dihasilkan diatur pH hingga 10 dengan menambahkan amonium hidroksida dan buffer. Kemudian melanjutkan pembuatan larutan fosfat, dengan cara menggabungkan 3,9615g kristal diamonium hidrogen fosfat dan 10 ml aquabides. Kemudian menambahkan lagi aquabides sampai 100 ml. 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. Kemudian melakukan presipitasi selama 24 jam. Hasil presipitasi tersebut disaring menggunakan kertas whatman 42 dan setelah itu dicuci dengan aquabides untuk menghilangkan sisa amonium sitrat. Kemudian dikeringkan dengan suhu 110°C selama 5 jam. Presipitat yang kering kemudian disintering pada suhu 1000°C selama 5 jam.

b. Membuat pasta cangkang telur ayam

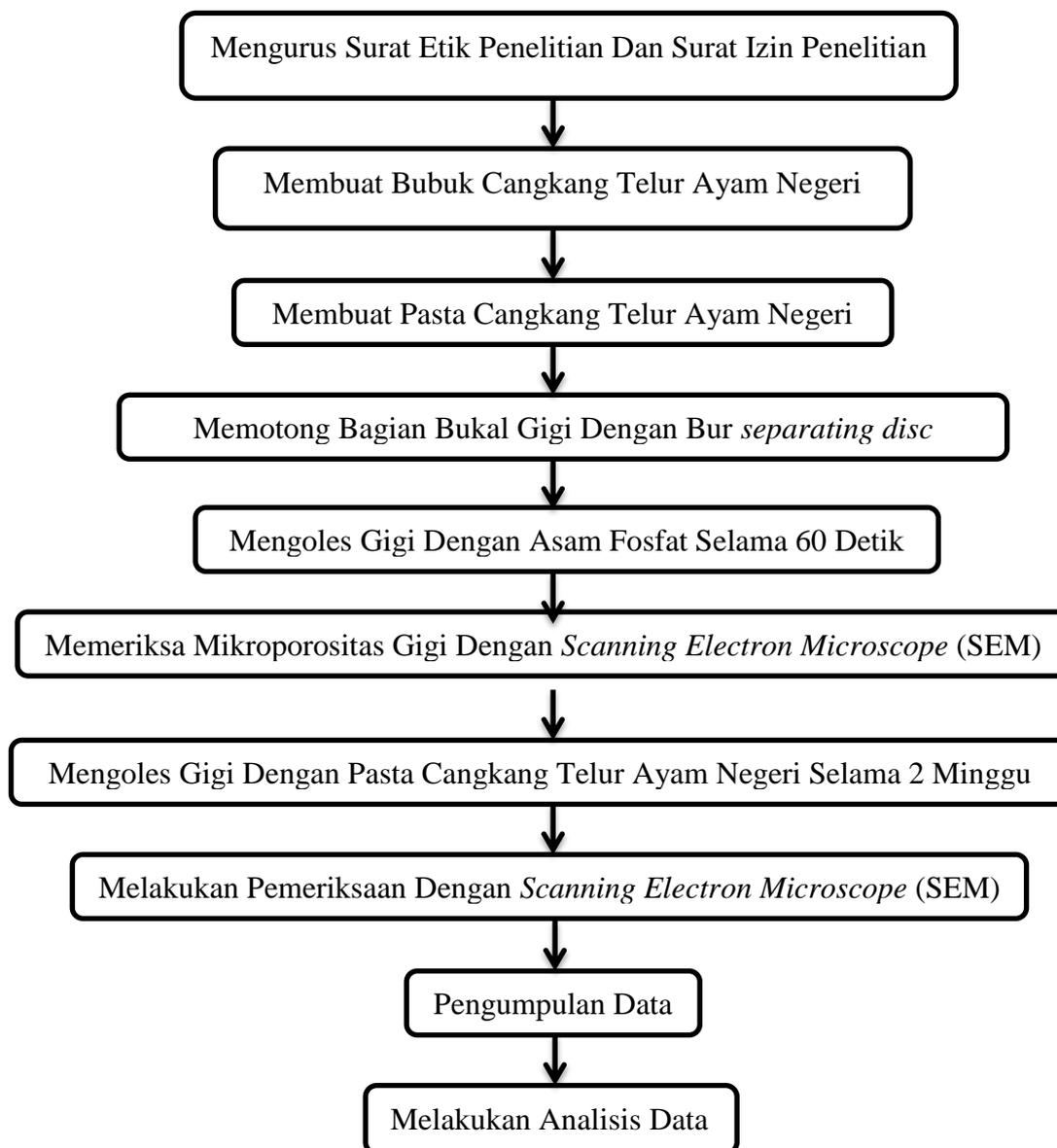
Memaskan 1 ml aquades lalu menambahkan 0,25 gram nipagin dan 0,1 gram NaCMC. Kemudian digerus hingga halus, 0,5 gram kalsium hidroksiapatit yang telah terbentuk dari hasil sintesis cangkang telur ayam dan dibasahi dengan 1 gram gliserol. Kemudian mencampur 0,05 gram mentol dengan alkohol hingga larut, dan setelah itu di campur dengan kalsium hidroksi apatit yang sudah dibasahi dengan aquabides dan gliserol yang telah ditambahkan nipagin dan NaCMC.

c. Mempersiapkan sampel dengan cara membersihkan gigi dari kotoran.

d. Melakukan pemotongan pada daerah bukal gigi dengan arah mesial distal menggunakan separating disk sebagai preperat untuk persiapan penglihatan menggunakan alat SEM

- e. Peneliti mengaplikasikan asam fosfat 37% pada permukaan bukal gigi selama 60 detik untuk menghasilkan mikroporositas email. Kemudian gigi dibersihkan dengan air dan diangin anginkan menggunakan *three way syringe*
- f. Melakukan analisa gambaran permukaan email gigi akibat pengaruh etsa asam menggunakan alat *Scanning Electron Microscope* (SEM) yang berlokasi di Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM
- g. Melakukan pengolesan pasta cangkang telur ayam pada bagian bukal gigi premolar yang sebelumnya telah diaplikasikan asam fosfat menggunakan *micro brush*, pengaplikasian pasta tersebut selama 30 menit dengan jarak waktu pengaplikasian 24 jam 1 kali selama 14 hari.
- h. Melakukan analisa gambaran permukaan email gigi setelah pengaplikasian pasta menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dengan perbesaran 2.000 kali yang berlokasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)
- i. Melakukan analisis data yang telah didapatkan sebelum pengaplikasian pasta dan setelah pengaplikasian pasta menggunakan alat SEM

### I. Alur Penelitian



**Tabel 2.** Alur Penelitian

### J. Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu analisis gambar yang akan disajikan dalam bentuk narasi.