

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian tentang kemampuan perancah sintetik *Carbonate hydroxyapatite* dalam pelepasan *Chlorhexidine gluconate* ini termasuk jenis penelitian eksperimental laboratoris *in vitro*.

B. Populasi dan Sample Penelitian

Populasi dan sample dalam penelitian ini adalah *Chlorhexidine gluconate* 0.2 % dan *Carbonate hydroxyapatite (CHA)*. Jumlah pengulangan sample yang digunakan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus Federer, sehingga terdapat lima pengulangan. Rumus Federer yang digunakan sebagai berikut:

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

t = Jumlah kelompok perlakuan

n = Besar sample per kelompok

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

$$(n-1) (6-1) \geq 15 \rightarrow (n-1) \geq 15/5$$

$$n \geq 3 + 1 \rightarrow n \geq 4$$

4 + 10% = 5 pengulangan sample.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta pada bulan Januari 2019.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel pengaruh

Carbonate hydroxyapatite (CHA)

2. Variabel terpengaruh

Pelepasan *Chlorhexidine gluconate* 0.2 %

3. Variabel terkendali

a. Ukuran perancah *Carbonate hydroxyapatite (CHA)*

b. Metode pemuatan perancah

c. Konstentrasi dan volume larutan *Chlorhexidine gluconate* 0.2 %

d. Suhu inkubator 37° C

e. Kecepatan sentrifugasi

f. Waktu sentrifugasi

E. Definisi Operasional

1. *Chlorhexidine gluconate* 0.2 %

Merupakan senyawa bisbiguanide yang digunakan sebagai agen antiseptik dengan aktivitas antibakterial topikal. *Chlorhexidine* yang digunakan dalam penelitian ini berupa *Chlorhexidine gluconate* dengan

merek dagang Minoap yang merupakan garam glukonat dari *Chlorhexidine* umumnya digunakan sebagai antiseptik topikal. *Chlorhexidine gluconate* 0.2 % aktif terhadap berbagai patogen oral sehingga efektif digunakan sebagai obat topikal dalam banyak kondisi rongga mulut.

2. *Carbonate hydroxyapatite* (CHA)

Merupakan salah satu jenis dari perancah sintetik. Perancah *Carbonate hydroxyapatite* (CHA) yang digunakan dalam penelitian ini berupa membrane gelatin yang dikombinasikan dengan hidroksiapatit dengan perbandingan 6:4 wt%, yang dikembangkan oleh tim peneliti rekayasa jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.

3. Pelepasan *Chlorhexidine gluconate* (CHX)

Merupakan bentuk dari sistem penghantaran obat berupa *release of drugs* (pelepasan obat) dalam hal ini *Chlorhexidine* dimana sistem penghantaran dari obat dapat berperan dalam meningkatkan efektifitas dan keamanan aplikasi obat dalam tubuh.

F. Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian

- a. Masker
- b. Handskoon
- c. Spektrofotometer UV
- d. Kuvet *Spektrofotometer*
- e. *Refrigerated Centrifuge*

- f. Inkubator
 - g. *Microtube*
 - h. *Micropipet*
 - i. Pipet ukur
 - j. Gelas ukur
 - k. Rak *microtube*
 - l. Alat tulis
2. Bahan Penelitian
 - a. Larutan *Chlorhexidine gluconate* 0.2 %
 - b. Membran *Carbonate hydroxyapatite (CHA)*
 - c. Larutan *Phospate buffer saline (PBS)*

G. Jalannya Penelitian

1. Tahap Penelitian Awal
 1. Mempersiapkan diri dan segala macam alat dan bahan.
 2. Mempersiapkan *Carbonate hydroxyapatite (CHA)* dalam bentuk membran yang dikembangkan oleh tim peneliti rekayasa jaringan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada dengan menimbang seberat masing – masing 10 mg.
 3. Melakukan pemuatan membran *Carbonate hydroxyapatite (CHA)* dengan metode celup ke dalam larutan *Chlorhexidine gluconate (CHX)* 0.2% 300 µl selama masing-masing 5, 10, 20, 30 dan 60 menit.
 4. Menggunakan membran dengan waktu pemuatan 30 menit.

2. Tahap Penelitian Pelepasan

1. Mengambil membran CHA yang telah dilakukan pemuatan larutan CHX 0.2% dan memasukkan ke dalam microtube 1.5 ml.
2. Melakukan pemberian larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dengan pH 7.4 sebanyak 1 ml kedalam *microtube*.
3. Melakukan Inkubasi pada suhu 37° C ±1 selama 60 menit.
4. Melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama dua menit.
5. Mengambil cairan supernatan hasil sentrifugasi dengan mikropipet dan mengukur nilai absorbansi menggunakan Spektofotometer dengan panjang gelombang 255 nm.
6. Memasukkan nilai absorbansi ke dalam tabel.
7. Mengulangi langkah nomor 1 - 5 untuk CHX yang telah dimuat dengan masing- masing waktu inkubasi 2 jam, 3 jam, 4 jam, 24 jam dan 48 jam.
8. Melakukan analisis data absorbansi

Setelah nilai absorbansi 100% dan nilai absorbansi tiap interval waktu didapatkan, kemudian perhitungan prosentase release dilakukan dengan perhitungan sebagai berikut;

Prosentase pelepasan membran jam ke X =

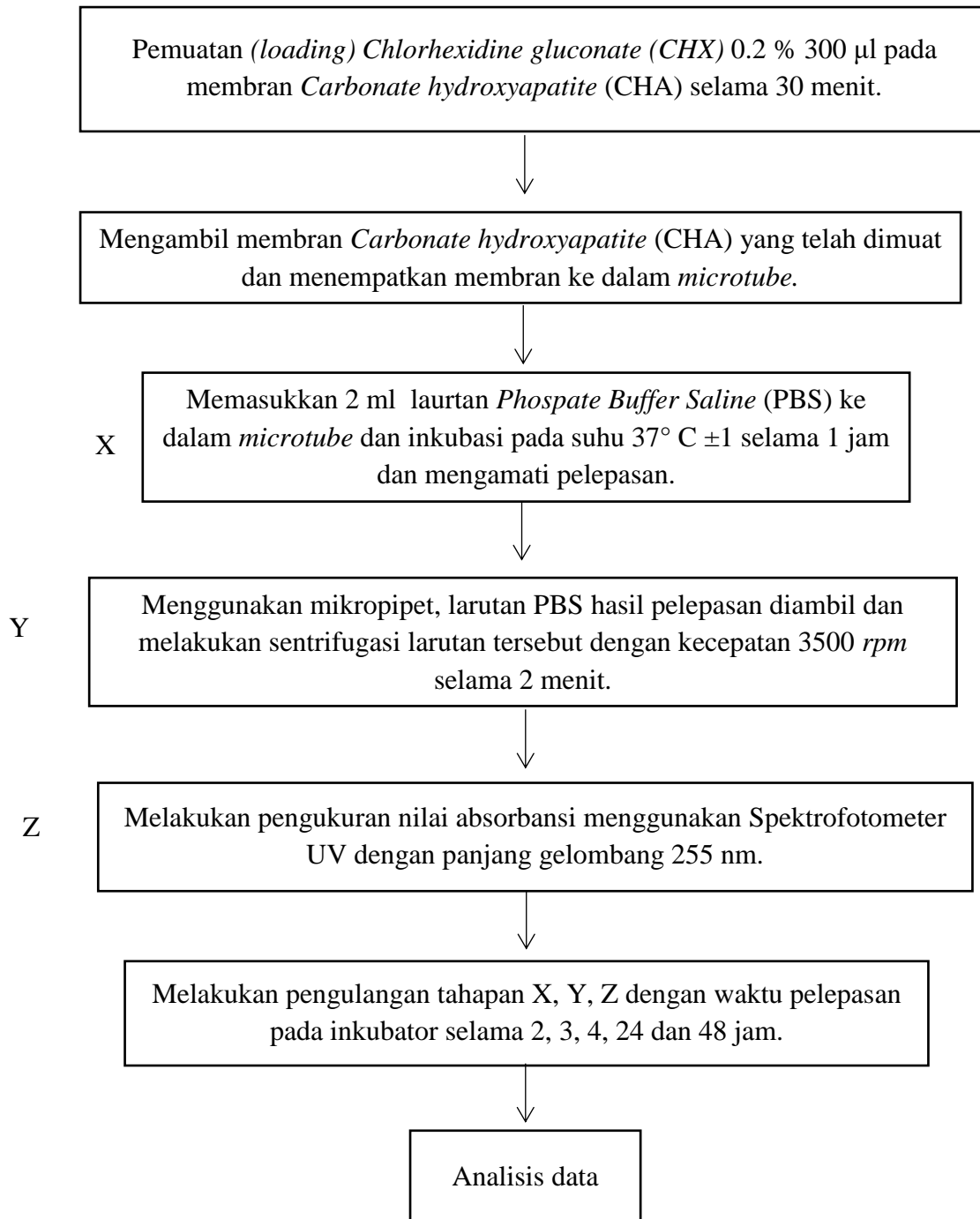
$$\frac{\text{nilai absorbansi jam ke X}}{\text{nilai absorbansi total}} \times 100\%$$

3. Menentukan Profil Degradasi

1. Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan

2. Mengambil masing – masing 2 ml larutan PBS dan memasukkan ke dalam microtube.
3. Mengambil membran CHA dengan berat 10 mg ke dalam larutan PBS pada microtube.
4. Mengamati profil degradasi membran CHA dengan mengganti larutan PBS pada tiap interval waktu 1, 2, 3, 6, 24, 48 dan 72 jam kemudian melakukan pengukuran nilai absorbansi menggunakan UV-Vis Spektrofotometer pada tiap interval waktu tersebut. Larutan PBS diganti dengan larutan asam kuat HCL setelah 72 jam.

H. Alur Penelitian



I. Analisis Data

Data hasil penelitian ini akan dilakukan uji normalitasnya dengan *Shapiro Wilk* karena jumlah sample nya kurang dari 50. Selanjutnya analisis data akan dilakukan menggunakan *One Way Anova* dikarenakan data memiliki distribusi normal.

J. Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dengan nomor 488/EP-FKIK-UMY/X/2018.