

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratoris 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. Lokasi penelitian

Pelaksanaan penelitian bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan proses ekstrak daun seledri dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Penguji Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2012.

C. Subyek Penelitian

Subyek penelitian yang digunakan adalah jamur *Candida albicans* dengan pembiakan murni yang dibiakkan oleh Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Daya anti jamur diketahui

dengan menghitung Kadar Hambat Minimal (KHM) pada masing-masing konsentrasi ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*).

D. Estimasi Besar Sampel

Pengujian terdiri dari ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75%.

Sampel yang digunakan berjumlah 30 buah cakram resin akrilik heat curing dengan diameter 10 mm dan dengan ketebalan 2 mm, dibagi dalam 3 kelompok perlakuan sebagai berikut :

1. Perlakuan pertama, 10 buah resin akrilik yang sudah ditempelkan jamur *Candida albicans* direndam ke dalam ekstrak seledri (*Apiumgraveolens L.*) dengan konsentrasi 25% selama 8 jam.
2. Perlakuan kedua, 10 buah resin akrilik yang sudah ditempelkan jamur *Candida albicans* direndam ke dalam ekstrak seledri (*Apiumgraveolens L.*) dengan konsentrasi 50% selama 8 jam.
3. Perlakuan ketiga, 10 buah resin akrilik yang sudah ditempelkan jamur *Candida albicans* direndam ke dalam ekstrak seledri (*Apiumgraveolens L.*) dengan konsentrasi 75% selama 8 jam.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Pengaruh

Ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dengan konsentrasi 25%, 50%

Pertumbuhan jumlah koloni jamur *Candida albicans* pada resin akrilik.

3. Variabel Terkendali

- a. Jenis resin akrilik : resin akrilik *heat cured*
- b. Diameter cakram resin akrilik : 10 mm dengan ketebalan 2 mm
- c. Jumlah bahan resin akrilik : 30 buah
- d. Lama perendaman cakram resin akrilik dalam suspensi *Candida albicans* 24 jam pada suhu 37°C.
- e. Lama perendaman cakram resin akrilik dalam ekstrak seledri 8 jam pada suhu kamar.
- f. Lama pengeraman cawan petri dalam inkubator 24 jam pada suhu 37°C.

4. Variabel Tak Terkendali

- a. Kontaminasi bakteri dan jamur lain.
- b. Keporusan resin akrilik
- c. Jumlah perlekatan *Candida albicans* pada resin akrilik.
- d. Penyebaran suspensi jamur
- e. Usia tanaman

F. Definisi Operasional

1. Plat dasar gigi tiruan resin akrilik *heat cured* dalam bentuk cakram dengan diameter 10 mm dan ketebalan 2 mm.
2. Polimerisasi yang kurang sempurna, porusitas dan kekasaran pada permukaan resin akrilik mempercepat penetrasi *Candida albicans* pada

resin akrilik. Meningkatnya koloni *Candida albicans* menyebabkan *denture stomatitis*.

3. Saliva buatan merupakan media yang 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 dengan standar Brown III. Pertumbuhan *Candida albicans* dapat terlihat pada media agar.
5. Ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) didapatkan dari hasil maserasi dengan cara mengeringkan seledri (*Apium graveolens L.*) kemudian serbuk direndam dalam pelarut.

G. Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat Penelitian :

- a. Becker glass untuk tempat perendaman cakram resin akrilik di dalam saliva buatan.
- b. Tabung reaksi untuk perendaman cakram resin akrilik ke dalam suspensi *Candida albicans* dan untuk perendaman cakram resin akrilik ke dalam ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75%.
- c. Glass ukur dan spuit injeksi untuk mengukur ekstrak seledri (*Apiumgraveolens L.*)
- d. Pipet

- e. Pinset steril untuk memindahkan cakram resin akrilik
- f. Lampu spritus untuk mensterilkan ose
- g. Ose digunakan untuk mengambil koloni *Candida albicans*
- h. Inkubator
- i. Press dan cuvet untuk membuat cakram resin akrilik
- j. Arkansas untuk menghaluskan cakram resin akrilik
- k. Vortex mixer untuk melepaskan *Candida albicans* yang melekat pada cakram resin akrilik
- l. Colony counter untuk menghitung koloni *Candida albicans*
- m. Cawan petri dengan diameter 10 cm untuk tempat pembiakan *Candidaalbicans*
- n. Kapas lidi steri
- o. Stelon pot

Bahan Penelitian :

- a. Ekstrak daun seledri (*Apium graveolens L.*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%.
- b. Etanol 70% untuk bahan pelarut
- c. Sediaan jamur *Candida albicans* 10^8 CFU/ml
- d. Cakram resin akrilik *heat cured* dengan diameter 10 mm dan ketebalan 2 mm.
- e. Media agar Sabouraud

- f. Media Brain Heart Infusion (BHI) sebagai media pembiakan *Candida albicans*
- g. Alkohol 70% untuk sterilisasi cakram resin akrilik
- h. Malam model
- i. Gips
- j. Vaseline
- k. Saliva buatan sebagai bahan perlekatan *Candida albicans*

H. Cara Penelitian

1. Tahap persiapan penelitian

a. Pembuatan cakram resin akrilik

Resin akrilik yang digunakan adalah jenis *heat cured* yaitu dengan proses perebusan. Adonan resin akrilik diaduk di dalam stelon pot sampai tahap dough atau tahap menyerupai adonan dengan perbandingan polimer dan monomer 3:1, setelah itu dilakukan packing ke dalam cuvet dan direbus selama 1 jam. Cuvet yang di dalamnya terdapat cakram resin akrilik yang sudah direbus kemudian didinginkan, dibersihkan dan dirapikan menggunakan arkansas dengan mikromotor dari sisa-sisa resin akrilik.

b. Menyiapkan koloni *Candida albicans*

Suspensi *Candida albicans* diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada dan proses

pembiakan *Candida albicans* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

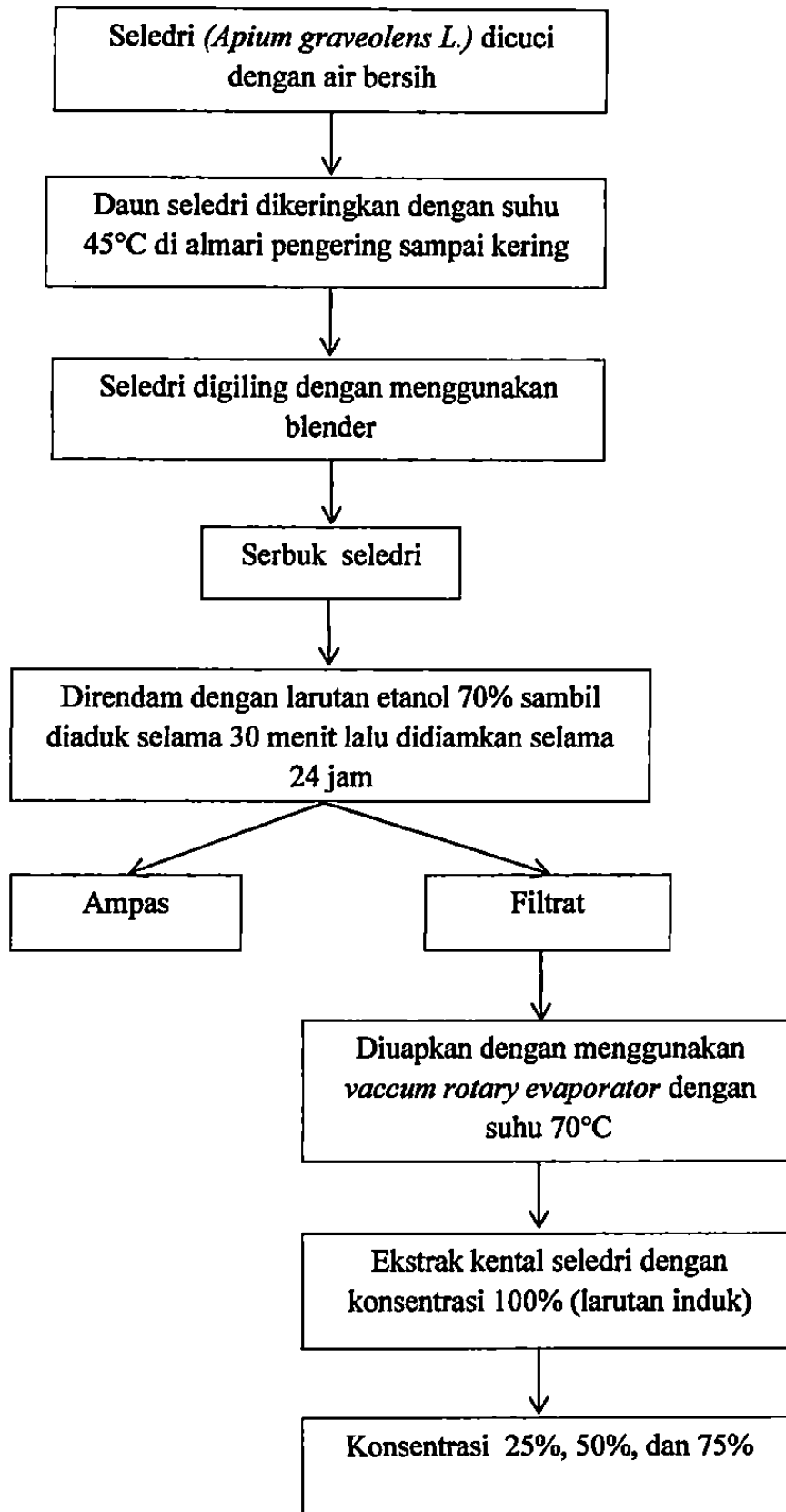
c. Pembuatan suspensi *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* hasil dari biakan di laboratorium diambil dengan ose steril kemudian dimasukkan ke dalam media Brain Heart Infusion (BHI) sebagai media penyubur dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi dibuat dengan standar Brown III yaitu 10⁸CFU/ml.

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

Ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dibuat 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 almari pengering dengan suhu 45°C hingga kering. Daun yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga terbentuk serbuk seledri (*Apium graveolens L.*). serbuk tersebut kemudian direndam dengan menggunakan larutan etanol 70% sambil diaduk selama 30 menit lalu didiamkan selama 24 jam.

Setelah direndam selama 24 jam maka akan terbentuk ampas dan filtrat. Filtrat seledri (*Apium graveolens L.*) tersebut kemudian diuapkan dengan menggunakan *vaccum rotaryevaporator* dengan suhu 70°C.

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

2. Tahap pelaksanaan penelitian

Cakram resin akrilik dengan diameter 10 mm dan ketebalan 2 mm yang berjumlah 40 buah di sterilkan dengan menggunakan alkohol 70%, kemudian cakram resin dimasukkan ke dalam beker glass dan direndam dengan saliva buatan selama 1 jam untuk memudahkan perlekatan *Candida albicans* pada cakram resin akrilik. Cakram resin akrilik yang sudah direndam dalam saliva buatan kemudian diambil dan direndam ke dalam tabung reaksi yang berisi suspensi *Candidaalbicans* 10^8 CFU/ml selama 24 jam dengan suhu 37°C . Cakram resin akrilik kemudian diambil dengan pinset dan dipindahkan ke dalam ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dan diberi nomor 1-40. Cakram resin akrilik nomor 1-10 direndam ke dalam ekstrak seledri (*Apiumgraveolens L.*) dengan konsentrasi 25% selama 8 jam, cakram resin akrilik nomor 11-20 direndam ke dalam ekstrak seledri (*Apiumgraveolens L.*) dengan konsentrasi 50% selama 8 jam, cakram resin akrilik nomor 21-30 direndam ke dalam ekstrak seledri (*Apiumgraveolens L.*) dengan konsentrasi 75% selama 8 jam, dan cakram resin akrilik nomor 31-40 di rendam ke dalam aquades sebagai kontrol selama 8 jam.

Cakram resin akrilik yang sudah direndam di dalam ekstrak seledri (*Apium graveolens L.*) dengan berbagai konsentrasi kemudian diambil dengan pinset steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah

diberi nomor 1-40 yang berisi 10 ml aquadest steril kemudian masing

masing tabung yang telah berisi cakram akrilik dikocok dengan vortex mixer yang bertujuan untuk melepaskan perlekatan *Candida albicans* pada cakram resin akrilik selama 1 menit, kemudian dilakukan pengenceran berseri sampai 10^{-3} dengan cara sebagai berikut :

- 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 aquadest steril.
- b. Pengenceran P^2 (10^{-2}) diperoleh dengan cara memasukkan 1 ml larutan P^1 ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquadest steril.
- c. Pengenceran P^3 (10^{-3}) diperoleh dengan cara memasukkan 1 ml larutan P^2 ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquadest steril.
- d. Diambil 0,1 ml larutan tes dari pengencer P^3 , lalu diteteskan pada 1 petri agar Sabouraud dan dieramkan dalam inkubator selama 48 jam pada suhu 37°C .
- e. Hal di atas tersebut dilakukan pada tabung reaksi nomor 2 sampai dengan tabung reaksi nomor 40.
- f. Setelah dilakukan pengeraman selama 48 jam pada suhu 37°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 Shaphiro-wilk dianalisis dengan menggunakan Analisis Varian (ANOVA) satu jalur dilanjutkan dengan LSD

J. Alur Penelitian

