

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan rancang bangun *true experimental randomized post test only controlled group design* secara *in vitro* untuk mengetahui pengaruh pemberian kalsium pada limbah cangkang kerang darah terhadap lebar mikroporositas enamel gigi.

4.2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah gigi insisivus sulung rahang bawah yang diindikasikan untuk diekstraksi dari Departemen IKGA Rumah Sakit Pendidikan Universitas Brawijaya Malang.

4.2.1. Cara Pemilihan Sampel

Sampel dipilih dengan menggunakan teknik *Simple Random Sampling*. Dengan kriteria inklusi dan eksklusi sampel penelitian yang bertujuan untuk membuat homogen sampel penelitian yang akan digunakan. Hal tersebut dikarenakan homogenitas sampel penelitian merupakan syarat yang digunakan pada penelitian eksperimental untuk mencegah terjadinya bias.

4.2.2. Kriteria Sampel

Kriteria inklusi:

1. Gigi Insisivus sulung rahang bawah
2. Gigi Insisivus sulung tanpa karies,

3. Gigi Insisivus tanpa anomali bentuk mahkota.
4. Gigi insisivus tanpa defek enamel

Kriteria eksklusif:

1. Gigi insisivus sulung dengan enamel hipoplasia
2. Gigi insisivus dengan defek developmental
3. Gigi insisivus yang karies

Sampel kemudian dibagi menjadi 5 kelompok seperti pada tabel di bawah ini:

Nama Kelompok	Perlakuan yang Diberikan
Kontrol negatif (K-)	Tanpa demineralisasi, tanpa kalsium
Kontrol positif (K+)	Demineralisasi, tanpa kalsium
Kelompok Perlakuan 1 (P1)	Demineralisasi + Kalsium dengan dosis 1 mmol
Kelompok Perlakuan 2 (P2)	Demineralisasi + Kalsium dengan dosis 3 mmol
Kelompok Perlakuan 3 (P3)	Demineralisasi + Kalsium dengan dosis 5 mmol

Tabel 4.1 Pembagian Kelompok Sampel Enamel dan Perlakuan

4.2.3. Estimasi Jumlah Pengulangan

Jumlah pengulangan penelitian menggunakan rumus Federer (Walupi, 2014) adalah sebagai berikut:

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

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

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

$n \geq 4,75 \rightarrow$ dibulatkan menjadi 5

Keterangan

t = jumlah kelompok = 5

n = jumlah pengulangan

Hal tersebut berarti dilakukan minimal 5 kali pengulangan, sehingga dibutuhkan sejumlah 25 gigi.

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kalsium dengan dosis 1 mmol, 3 mmol, dan 5 mmol.

4.3.2. Variabel terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah remineralisasi enamel dengan indikator:

1. Diameter mikroporositas enamel

4.4. Lokasi Penelitian

Laboratorium Sentral Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Malang, Laboratorium Teknik Mesin, Departemen IKGA Rumah Sakit Pendidikan Universitas Brawijaya Malang.

4.5. Alat Dan Bahan Penelitian

4.5.1. Kalsinasi Dan Pengolahan Kalsium

Alat :

1. Batu Tahan Api
2. Tungku Kalsinasi
3. Timbangan
4. XRF
5. Botol
6. Gelas ukur
7. Spatula
8. Pipet

Bahan:

1. Aquades
2. Cangkang kerang darah
3. Kapas
4. Stiker label
5. Gliserol.



4.5.2. Preparasi Enamel Gigi

Alat :

1. *Brush*
2. *Carborundom disc*
3. *Handpiece low speed*

4. Mikromotor
5. Jangka Sorong
6. Tabung

Bahan :

1. Gigi insisivus sulung.
2. *Non-fluoridated pumice*
3. Alkohol 70%
4. Larutan salin
5. Kapas

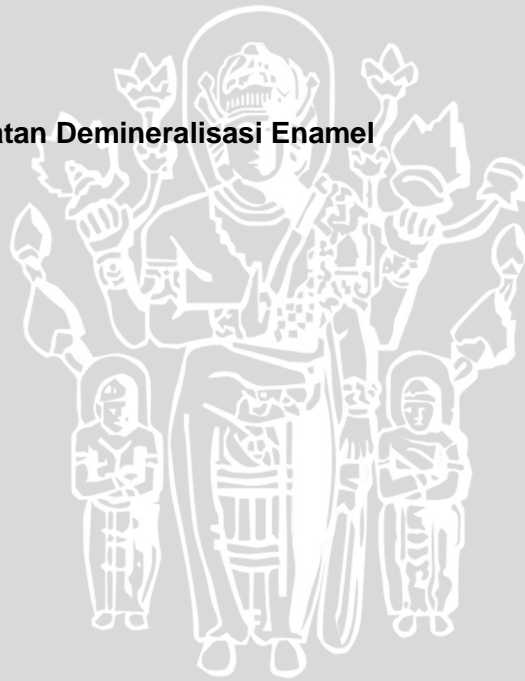
4.5.3. Proses Pembuatan Demineralisasi Enamel

Alat :

1. Tabung organ
2. Pinset
3. Gelas ukur

Bahan :

1. Aquades
2. Stiker label
3. 2,2 mmol/L dan 1,5 mmol/L CaCl_2
4. 2,2 mmol/L dan 0.9 mmol/L KH_2PO_4
5. 50 mmol/L Asam Asetat
6. KOH
7. 130 mmol/L KCL



4.5.4. Pengaplikasian Kalsium pada Enamel Gigi

Alat:

1. Tabung organ
2. Gelas ukur
3. Jangka sorong
4. SEM (*Scanning Electron Mikroskop*)

Bahan :

1. Aquades
2. Kalsium

4.6. Definisi Istilah/Operasional

Jenis Variabel	Variabel	Indikator	Definisi	Alat Ukur	Gambaran/Nilai Standar
Variabel bebas	Kalsium	CaO	Larutan remineralisasi dari campuran serbuk CaO hasil kalsinasi dan pelarut gliserol dengan konsentrasi CaO 1 mmol, 3 mmol, dan 5 mmol sebagai takaran	XRF	Unsur Ca teridentifikasi dengan kadar tertentu
Variabel terikat	Remineralisasi enamel	Diameter mikroporositas enamel	Ion Kalsium dari cangkang kerang darah masuk kedalam mikroporositas enamel	SEM	Pengurangan diameter mikroporositas enamel (µm)



4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Penyiapan Sampel

Limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) diambil dari tempat pelelangan ikan Cemandi Kecamatan Sedati Sidoarjo karena tempat tersebut merupakan tempat yang selalu ada transaksi kerang darah setiap harinya dan tempat tersebut merupakan pusat transaksi hasil perikanan di Sidoarjo yang mempunyai akses langsung dengan muara pantai timur Sidoarjo.

4.7.2. Kalsinasi Cangkang Kerang

Limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) sebanyak 2 kg dibersihkan dengan akuades dan dikeringkan pada temperatur ruang. Selanjutnya, kalsinasi dilakukan terhadap sampel tersebut pada temperatur 1000 °C selama 5 jam (Ningsih, 2014). Setelah itu, CaO hasil kalsinasi dikarakterisasi dengan menggunakan XRF lalu disimpan di dalam botol. Serbuk CaO hasil kalsinasi dilarutkan dengan gliserol sesuai dosis: 1 mmol, 3 mmol, dan 5 mmol. Pelarutan dilakukan dengan cara menakar gliserol dan aquades ke dalam gelas ukur menggunakan pipet sesuai perbandingan serbuk lalu diaduk menggunakan spatula hingga homogen dan disimpan di dalam botol yang diberi label (Walupi *et al.*, 2014).

4.7.3. Preparasi Enamel Gigi

Sampel gigi berupa 25 gigi insisivus sulung sesuai kriteria inklusi yang diperoleh dari Departemen IKGA Rumah Sakit Pendidikan Universitas Brawijaya. Mahkota gigi dibersihkan dari jaringan yang menempel menggunakan *brush* dan *non-fluoridated pumice*. Gigi tersebut dipisahkan mahkota dari akarnya

menggunakan *carborundom disc* dengan *handpiece low speed*. Setelah itu aplikasikan cat kuku tahan asam pada seluruh permukaan labial gigi meninggalkan bentukan kotak seperti jendela ukuran (2 x 2 mm) pada bagian tengah dari permukaan labial gigi. (Aminabadi *et al*, 2015)

4.7.4. Proses Demineralisasi

Sampel dilakukan *pH-Cycling* untuk membentuk *caries-like lesion*. Diawali dengan perendaman pada larutan demineralisasi terdiri dari 2,2 mmol/L CaCl_2 , 2,2 mmol/L KH_2PO_4 dan 50 mmol/L asam asetat dan penambahan KOH bertujuan untuk mendapatkan pH 4,0. Larutan ini digunakan untuk membentuk *caries-like Lesion* dan digunakan selama 3 jam, setelah itu dilakukan perendaman pada larutan remineralisasi yang terdiri dari 1,5 mmol/L CaCl_2 , 0,9 mmol/L, KH_2PO_4 dan 130 mmol/L KCL dengan pH 7,0 diberikan selama 21 jam (Fidyaet *al.*, 2011). Proses *pH-Cycling* dilakukan selama 5 hari untuk mendapatkan mikroporositas enamel (Arnaud *et al.*, 2010).

4.7.5. Pengaplikasian Kalsium Pada Enamel Gigi

Kelompok perlakuan 1,2, dan 3 seluruh permukaannya direndam dalam larutan kalsium pada tabung sebanyak 30 ml selama 14 hari dikarenakan proses remineralisasi akan terjadi pada jangka waktu tersebut (Widyaningtyas *et al.*, 2014). Kemudian diukur lebar mikroporositas enamel menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*). Berdasarkan hasil cetakan foto dilakukan pengukuran diameter mikroporositas enamel kemudian dikonversikan dalam satuan mikrometer. (Nuzulia, 2010)

4.8. Analisis Data

Parameter yang diukur adalah diameter mikroporositas enamel gigi post-remineralisasi. Setelah didapatkan data, hasil penelitian dilakukan uji distribusi normalitas dan homogenitas varian menggunakan *Shapiro Wilk* dan *levene homogeneity test*. Apabila data terdistribusi normal dan homogen, data dianalisa dengan *one way ANOVA* dan dilanjutkan dengan *Post Hoc tukey* serta uji korelasi *Pearson*. Apabila data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka data dianalisa menggunakan *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Mann Whitney* serta uji korelasi *Spear*.

4.9. Alur Penelitian

