

BAB 4 METODE PENELITIAN

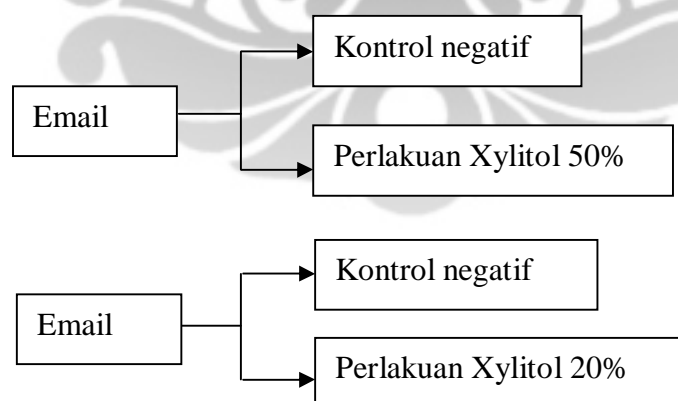
4.1. JENIS PENELITIAN

Desain: EKSPERIMENTAL LABORATORIK

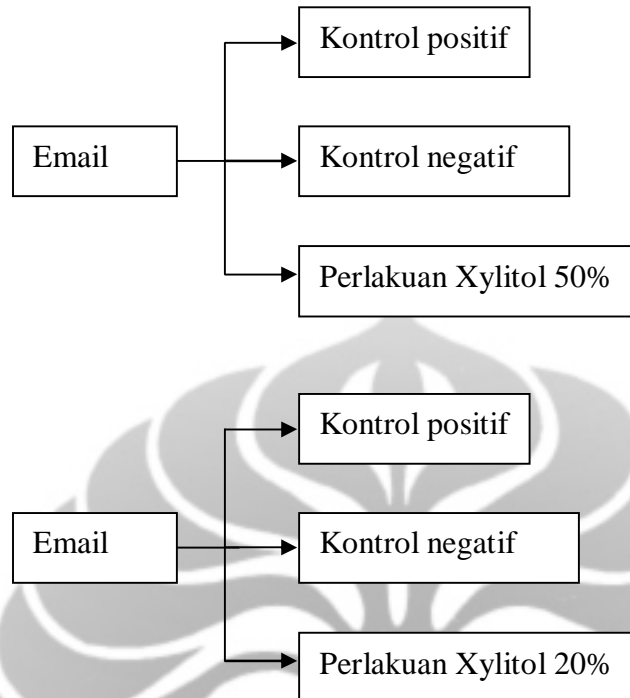
4.2. SPESIMEN DAN SAMPEL

Spesimen diambil dari gigi yang diekstraksi dari beberapa klinik di Jakarta. Spesimen gigi terdiri dari 8 gigi premolar permanen dan 4 gigi molar yang bebas karies, bebas abrasi dan erosi. Gigi – gigi tersebut akan dikelompokkan menjadi dua kelompok besar. Kelompok pertama merupakan spesimen uji EDX yang terdiri dari 8 premolar dan 2 molar. Spesimen akan dibelah menjadi sampel kontrol negatif dan sampel perlakuan xylitol. Kelompok kedua merupakan uji XRD yang terdiri dari 2 molar. Setiap spesimen gigi dibelah menjadi sampel kontrol positif, kontrol negatif dan perlakuan xylitol. Dengan demikian baik sampel kontrol maupun sampel perlakuan berasal dari spesimen gigi yang sama.

Kelompok Sampel EDX



Kelompok Sampel XRD



4.3. TEMPAT DAN WAKTU PELAKSANAAN PENELITIAN

Tempat:

- Laboratorium CMPFA Departemen Metalurgi dan Material Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Laboratorium RMSC Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Waktu:

Juli – Desember 2008

4.4. DEFINISI OPERASIONAL

4.4.1. Email

Email merupakan bagian terluar dari gigi, dalam hal ini potongan bagian terluar gigi premolar dan molar permanen yang bebas karies secara klinis, bebas abrasi dan erosi.

4.4.2. Komposisi Kalsium Email

Komposisi kalsium email merupakan persentase kandungan kalsium dari sampel email yang diukur dengan menggunakan EDX.

4.4.3. Komposisi Fosfor Email

Komposisi fosfor email merupakan persentase kandungan fosfor dari sampel email yang diukur dengan menggunakan EDX.

4.4.4. Komposisi Senyawa Kristal Email

Komposisi kristal email merupakan jenis senyawa kristal yang dikandung oleh sampel email yang diidentifikasi dengan menggunakan XRD.

4.4.5. Xylitol

Xylitol merupakan gula alkohol tipe pentitol. Xylitol yang dipergunakan berupa xylitol bubuk produksi PT. Lotte Indonesia. Xylitol akan dicampurkan ke dalam larutan remineralisasi dengan konsentrasi 20% dan 50%.

4.4.6. Sampel Perlakuan

Sampel perlakuan adalah sampel yang didemineralisasi terlebih dahulu dan selanjutnya mendapatkan perlakuan remineralisasi dengan xylitol.

4.4.7. Sampel Kontrol

Sampel kontrol terdiri dari sampel kontrol positif dan sampel kontrol negatif. Sampel kontrol positif adalah sampel email yang tidak mendapatkan perlakuan apapun, baik perlakuan demineralisasi maupun remineralisasi. Sampel kontrol negatif adalah sampel email yang mendapatkan perlakuan demineralisasi tanpa mendapatkan perlakuan remineralisasi dengan xylitol.

4.4.8. Remineralisasi

Remineralisasi merupakan proses kembalinya ion - ion penyusun kristal apatit email. Remineralisasi dilakukan dengan perendaman dalam larutan yang mengandung ion – ion remineralisasi dan xylitol dengan konsentrasi 20% dan 50%.

4.4.9. Demineralisasi

Demineralisasi merupakan proses lepasnya ion penyusun kristal apatit email. Demineralisasi dilakukan dengan menggunakan larutan asam asetat.

4.4.10. *Energy Dispersive X-Ray (EDX)*

EDX adalah teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi komposisi elemen dari sampel dengan cara mengukur jumlah energi yang dilepaskan oleh elektron sampel.

4.4.11. *X-Ray Diffraction (XRD)*

XRD adalah metode yang digunakan untuk analisis senyawa material uji, analisis parameter kisi kristal, ukuran butir kristal dan menghitung perubahan regangan mikro. Panjang gelombang (λ) yang digunakan adalah panjang gelombang Cobalt (1.78897 \AA)

4.5. BAHAN DAN CARA PENELITIAN

4.5.1. Bahan Penelitian

- a) Gigi premolar dan molar
- b) Xylitol
- c) Larutan demineralisasi
- d) Larutan remineralisasi
- e) Aquades
- f) Aquabides

4.5.2. Alat Penelitian

- a) EDX
- b) *XRD Instrument (diffractometer)*
- c) Pinset
- d) *Mikromotor dan handpiece*
- e) *Diamond disc*
- f) pH meter
- g) Tisu
- h) Gelas ukur
- i) Gelas kimia
- j) Timbangan
- k) Wadah plastik
- l) *Waterbath*
- m) Inkubator suhu ruang
- n) Pipet
- o) Kasa
- p) Benang

4.5.3. Cara Penelitian

4.5.3.1. Persiapan sampel gigi

- a) Gigi dibilas dengan aquades
- b) Gigi dikeringkan

- c) Untuk gigi pada kelompok pertama (EDX) dibelah menjadi dua potongan pada arah mesio-distal. Satu potongan menjadi sampel kontrol negatif, satu potongan menjadi sampel perlakuan.
- d) Untuk gigi pada kelompok kedua (XRD) dibelah menjadi tiga potongan pada arah bukal-lingual. Satu potongan menjadi sampel kontrol positif, satu potongan menjadi sampel kontrol negatif, dan satu potongan menjadi sampel perlakuan.

4.5.3.2. Pengelompokan sampel gigi

- a) Sampel yang berasal dari spesimen gigi yang telah dipotong menjadi tiga sampel untuk kelompok XRD dan dua sampel untuk kelompok EDX dikelompokkan sesuai asal gigi.
- b) Setiap sampel ditandai sesuai asal gigi agar tidak tertukar.
- c) Setelah dikelompokkan sesuai dengan asal gigi, kelompok sampel dikelompokkan lagi sesuai dengan pengamatannya.

4.5.3.3. Pembuatan Larutan Demineralisasi

Larutan demineralisasi dibuat dengan menggunakan larutan asam asetat 0.01 M dengan pH 4.0.

4.5.3.4. Pembuatan Larutan Remineralisasi

Larutan remineralisasi dibuat dengan mencampurkan ion – ion remineralisasi (Ca^{2+} 1 mM, PO_4^{3-} 0.6 mM, F^- 0.05 mM) dengan xylitol 20% dan xylitol 50%. Pelarut yang digunakan adalah aquabides.

Tabel 4. 1. Komposisi Larutan Remineralisasi

Konstituen	Jumlah
0.1 M CaCl ₂	1 ml
0.01M KH ₂ PO ₄	6 ml
0.005 M NaF	1 ml
2.9 M NaCl	5 ml

pH disesuaikan menjadi 7.3 menggunakan 50 mM KOH dan volume digenapkan menjadi 100 ml dengan menggunakan aquabides.

Sumber: Remineralization Effects of Xylitol in Demineralized Enamel. Takaaki Yanagisawa, et al.

4.5.3.5. Aplikasi Larutan Demineralisasi

- Sampel kontrol negatif dan sampel perlakuan direndam dalam larutan demineralisasi asam asetat 0.01 M pH 4.0 pada suhu 50°C selama dua hari. Larutan diganti setiap hari.
- Sampel dibilas dengan aquades dan dikeringkan.

4.5.3.6. Aplikasi Larutan Remineralisasi

- Sampel perlakuan direndam dalam larutan remineralisasi sesuai dengan kelompok konsentrasi xylitol, yaitu xylitol 20%, dan 50% xylitol pada suhu 37°C selama dua minggu. Larutan diganti setiap minggu.
- Setelah dua minggu, sampel diangkat, dibilas, dikeringkan, dan dikelompokkan sesuai dengan kelompok asal gigi dan kelompok pengamatan.

4.5.3.7. Pengujian Sampel

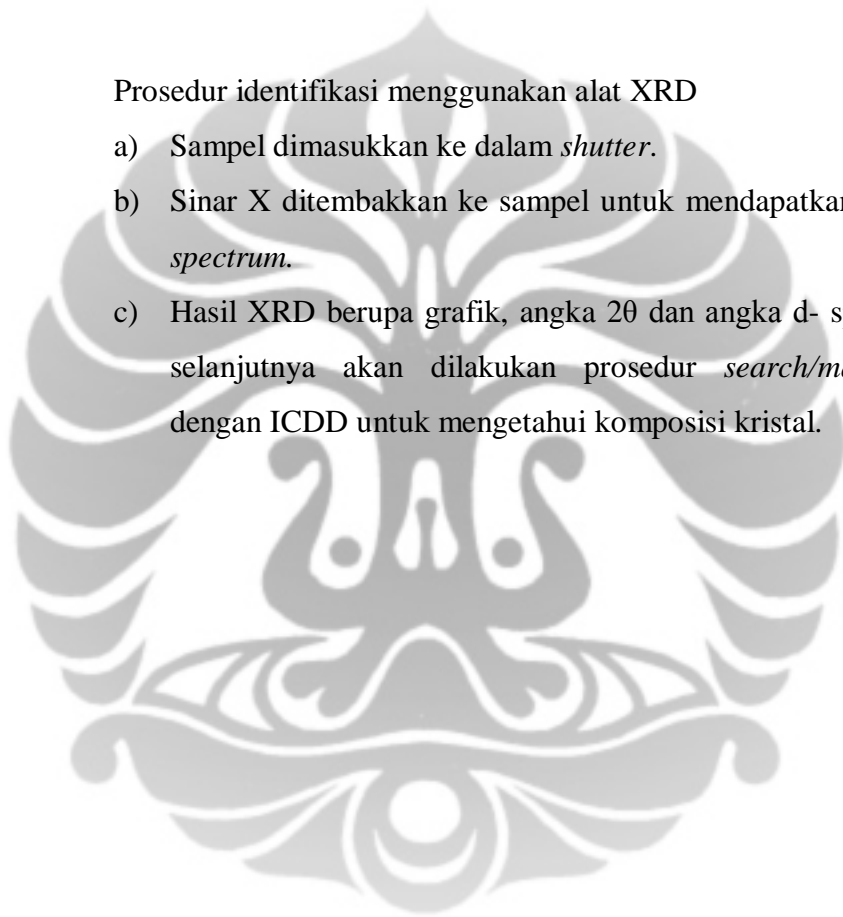
Dua puluh sampel email yang terdiri dari sepuluh sampel kontrol negatif dan sepuluh sampel perlakuan diuji dengan EDX. Enam sampel email yang terdiri dari dua sampel kontrol positif, dua sampel kontrol negatif, dan dua sampel perlakuan diuji XRD.

Prosedur pengukuran menggunakan alat EDX

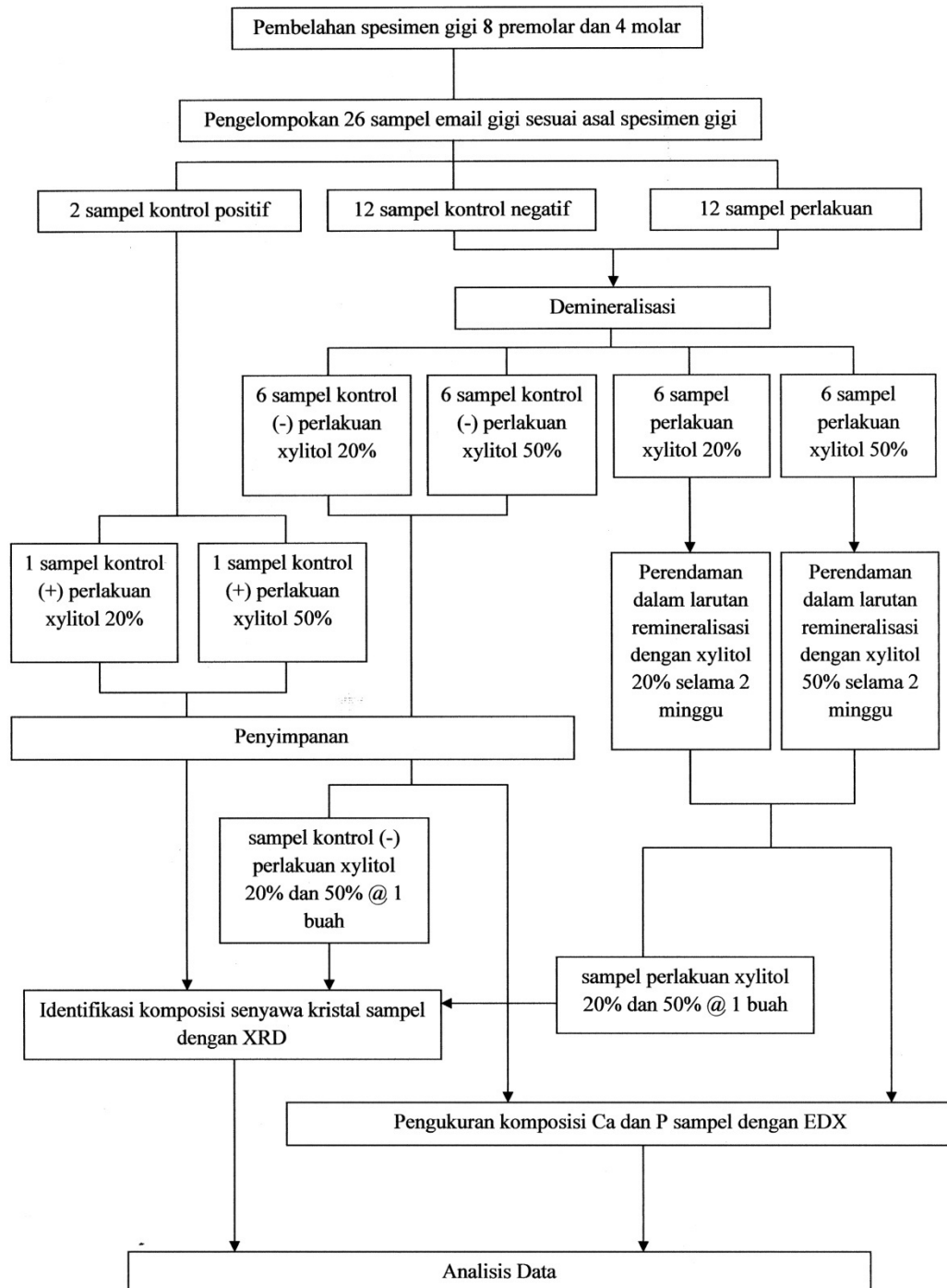
- a) Dilakukan *vacuuming* pada sampel yang bertujuan untuk mengeleminasi partikel air dan menghilangkan udara dalam tabung.
- b) Dilakukan pengukuran kandungan kalsium (Ca) dan fosfor (P).
- c) Hasil pengukuran berupa data numerik yang dicatat dalam bentuk data mentah.

Prosedur identifikasi menggunakan alat XRD

- a) Sampel dimasukkan ke dalam *shutter*.
- b) Sinar X ditembakkan ke sampel untuk mendapatkan *diffraction spectrum*.
- c) Hasil XRD berupa grafik, angka 2θ dan angka *d-spacing* yang selanjutnya akan dilakukan prosedur *search/match* sesuai dengan ICDD untuk mengetahui komposisi kristal.



4.6. RANCANGAN KERJA



4.7. RANCANGAN ANALISIS SAMPEL

Analisis data perbandingan komposisi Ca dan P yang berupa persentase antara kelompok kontrol dan perlakuan menggunakan uji *one way ANOVA*. Analisis data komposisi senyawa kristal dilakukan secara kualitatif.

4.8. MASALAH ETIKA PENELITIAN

Evaluasi etika penelitian dilakukan oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. Surat keterangan lolos etik untuk penelitian ini dikeluarkan pada tanggal 22 Agustus dengan nomor surat 04/EthicalClearance/FKGUI/VIII/2008.

