

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental murni, karena selain menguji suatu perlakuan dan terdapat kelompok pembanding, juga dilakukan randomisasi. Pengujian dilakukan terhadap poliester EBP-2421, dengan menggunakan pembanding resin akrilik *Stellon*. Kajian utama penelitian ini adalah pada pemeriksaan biokompatibilitas bahan, yang terdiri dari pemeriksaan: 1) toksisitas akut, 2) karsinogenisitas, 3) teratogenisitas, serta 4) hipersensitivitas. Penelitian dilengkapi dengan pemeriksaan mikrobiologis dan pemeriksaan sifat kimiawi, sifat fisis serta sifat mekanis.

4.2 Sampel Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah poliester EBP-2421, yaitu suatu jenis polimer yang biasa digunakan untuk membuat patung. Sebagai kelompok pembanding digunakan resin akrilik *Stellon*. Pemilihan merek *Stellon* sebagai pembanding berdasarkan bahwa selama bertahun-tahun dan sampai saat ini bahan tersebut digunakan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada, baik untuk pekerjaan mahasiswa, maupun untuk keperluan pasien di poliklinik fakultas dalam pembuatan basis gigitiruan.

Dalam penelitian ini digunakan silika sebagai bahan pengisi. Pemilihan silika mengingat bahwa bahan tersebut memang sudah biasa digunakan sebagai bahan pengisi untuk

bahan kedokteran gigi. Silika mempunyai bentuk kristal yang lebih kompak bila dibandingkan dengan bahan pengisi lain (alumina), sehingga diharapkan penambahan silika pada poliester EBP-2421 dapat menambah kekuatan.

Cara pembuatan sampel untuk setiap bahan disesuaikan dengan aturan yang ditentukan oleh masing-masing pabrik. Polimerisasi poliester EBP-2421 terjadi pada suhu ruang, dengan waktu terminasi sekitar 15 menit. Poliester EBP-2421 menggunakan untuk perbandingan resin, katalis dan promotor sebesar 1 : 0,005 : 0,01 gram. Cara polimerisasi resin akrilik adalah dengan merebus. Perbandingan volume untuk bubuk dan cairan adalah sebesar 3 : 1. Pengendalian pembuatan sampel dilakukan terhadap: 1) jenis dan merek bahan, 2) perbandingan bahan, 3) tekanan hidrolis cetakan (22 kg/cm Hg), dan 4) ukuran lempeng polimer.

Dibuat terlebih dahulu suatu lempeng logam dengan ukuran yang sesuai dengan ukuran sampel atau lempeng polimer yang telah ditentukan, yaitu (75x 10 x 2,5 mm). Kegunaan lempeng logam adalah untuk membuat lempeng atau spesimen di dalam blok gips, untuk kemudian diisi dengan poliester EBP-2421 atau resin akrilik *Stellon*.

Pemeriksaan biokompatibilitas dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*, yaitu dengan menggunakan biakan sel dan binatang coba tikus (*Rattus norvegicus*) yang mendapat perlakuan polimer poliester EBP-2421 atau resin akrilik *Stellon*. Polimer diberikan dalam bentuk strip, bubuk, atau salep. Pemeriksaan sifat kimiawi, sifat fisis, sifat mekanis dan mikrobiologis dilakukan langsung terhadap polimer poliester EBP-2421 atau resin akrilik *Stellon* dalam bentuk lempeng atau spesimen.

4.3 Penentuan Jumlah Sampel pada Uji Sifat Fisis dan Sifat Mekanis

$$\text{Rumus (Babie, 1986)} : n = (Z\alpha + Z\beta) + 0,5 \ln \left(\frac{1+r}{1-r} \right) + 3$$

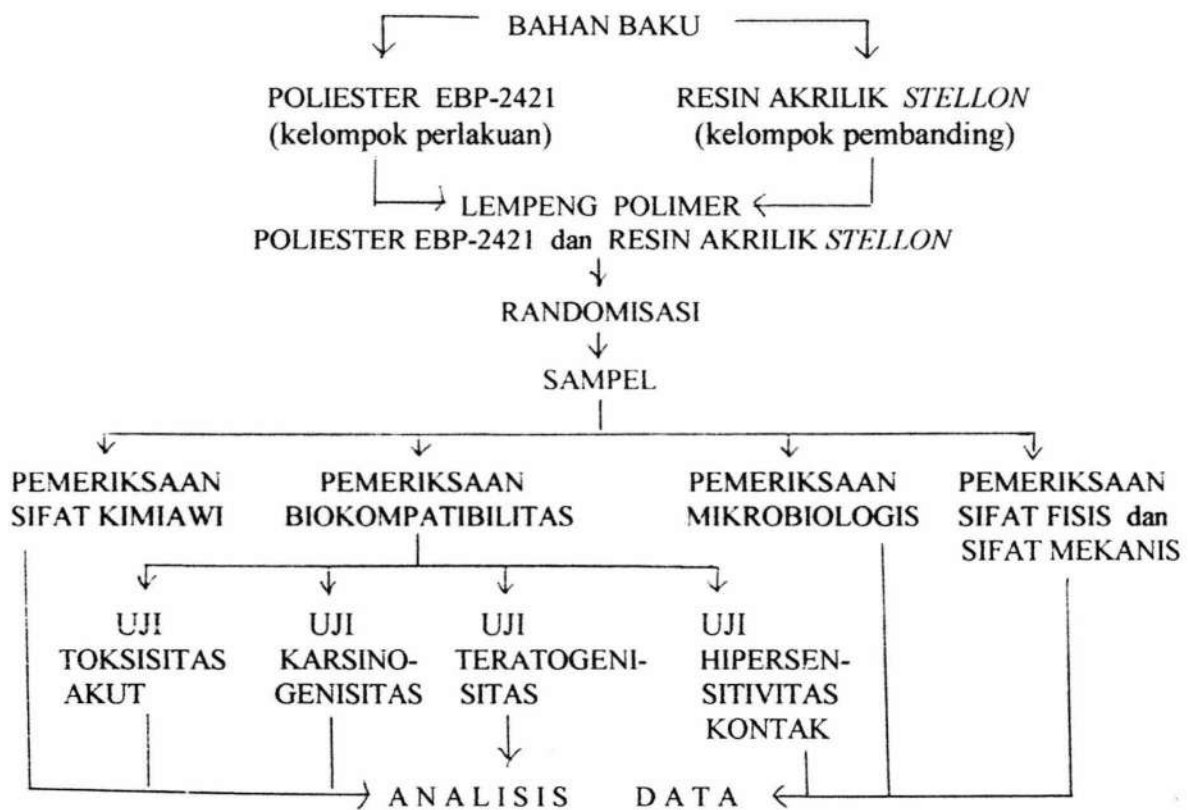
dengan menggunakan $\alpha = 0,01$ maka $Z\alpha = 2,576$

$\beta = 0,1$ maka $Z\beta = 1,282$

$r = 21$ (harga r untuk $\alpha = 0,01$ dan $\beta = 0,1$)

didapatkan $n = 18,2537$ (pembulatan $n = 20$)

4.4 Kerangka Operasional Penelitian

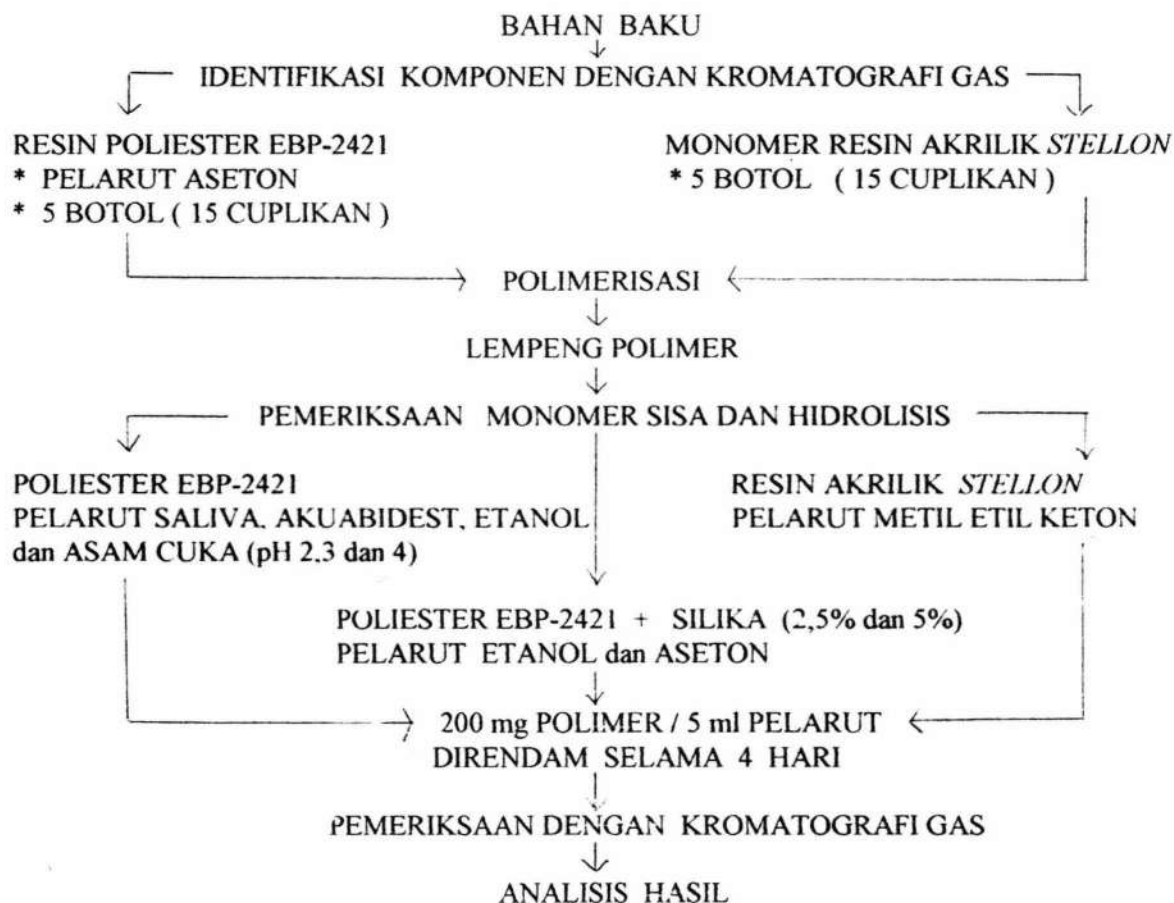


Gambar 4.1 Kerangka operasional penelitian poliester EBP-2421 dengan pembanding resin akrilik *Stellon*

4.5 Pemeriksaan Sifat Kimia wi

Pemeriksaan sifat kimiawi dikerjakan dengan menggunakan alat kromatografi gas. Tujuan pemeriksaan adalah: 1) untuk melakukan identifikasi komponen dan konsentrasi yang terdapat pada bahan baku poliester EBP-2421 dan bahan baku resin akrilik *Stellon*, serta 2) mengetahui senyawa yang menjadi monomer sisa atau yang terhidrolisis setelah polimerisasi pada poliester EBP-2421 dan resin akrilik *Stellon*.

4.5.1 Kerangka Operasional Pemeriksaan Sifat Kimiawi



Gambar 4.2 Kerangka operasional pemeriksaan sifat kimia pada poliester EBP-2421

4.5.2 Definisi Operasional

Monomer sisa adalah senyawa bebas yang tidak bereaksi pada akhir polimerisasi, sedangkan senyawa yang terhidrolisis adalah senyawa yang terlepas karena terjadi pemutusan rantai polimer dengan katalisator asam atau basa kuat. Adanya monomer sisa atau senyawa yang terhidrolisis dapat dideteksi dengan metode kromatografi gas.

4.5.3 Cara Identifikasi Komponen

Bahan baku (resin) poliester EBP-2421 dilarutkan dalam aseton dengan perbandingan 2 : 1 untuk kemudian diinjeksikan dalam kromatografi gas sebanyak 0,5 µl. Hal yang sama juga dikerjakan pada bahan baku (monomer) resin akrilik *Stellon*, yaitu sebanyak 0,5 µl monomer diinjeksikan dalam kromatografi gas.

Bahan murni yang merupakan komponen polimer, yaitu: 1) anhidrida ftalat, 2) anhidrida maleat, 3) metil metakrilat, dan 4) propilen glikol masing-masing diinjeksikan sebanyak 0,5 µl untuk kemudian secara bergantian diperiksa dengan kromatografi gas. Hasil pemeriksaan bahan murni tersebut di atas menjadi pembanding hasil pemeriksaan resin poliester EBP-2421 dan monomer resin akrilik *Stellon*.

Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi gas merek *Shimadzu* dengan kondisi sebagai berikut :

- a. Jenis kolom : CBP-1 50 m
- b. Suhu kolom : 80° C (5 menit) - 30° C / menit - 250° C (8 menit)
- c. Jenis detektor : FID (*Flame Ionization Detector*)

- d. Suhu detektor : 270 ° C
- e. Suhu injektor : 260 ° C
- f. Gas pembawa : Nitrogen
- g. Jumlah injeksi : 0,5 µl

Hasil pemeriksaan berupa gambaran puncak dari beberapa komponen yang menyusun poliester EBP-2421 atau resin akrilik *Stellon*. Hasil (gambaran puncak) tersebut dibandingkan dengan hasil pemeriksaan (gambaran puncak) bahan murni. Dengan menggunakan persamaan regresi dihitung konsentrasi setiap komponen dalam poliester EBP-2421 dan resin akrilik *Stellon*.

4.5.4 Cara Pemeriksaan Monomer Sisa dan Proses Hidrolisis

Lempeng polimer poliester EBP-2421 berat 200 mg direndam dalam 5 ml pelarut selama 4 hari. Pelarut yang digunakan adalah: 1) etanol, 2) saliva buatan, 3) akuabidest, dan 4) asam cuka dalam beberapa macam derajat keasaman (ph 2,3 dan 4). Polimer poliester EBP-2421 dengan penambahan bahan pengisi silika (2,5% dan 5%) direndam dalam 5 ml pelarut (etanol dan aseton) selama 4 hari. Polimer resin akrilik *Stellon* berat 200 mg direndam dalam 5ml metil etil keton selama 4 hari (Sadamori et al., 1990).

Setelah 4 hari larutan perendam diperiksa, dan alat yang digunakan untuk mengetahui bahan yang terlarut adalah kromatografi gas merek *Hewlett Packard* dengan kondisi sebagai berikut :

- a. Jenis kolom : HP-5 30 m

- b. Suhu kolom : 80°C (5 menit) - $20^{\circ}\text{C/ menit}$ - 250°C (30 menit)
- c. Jenis detektor : FID (*Flame Ionization Detector*)
- d. Suhu detektor : 270°C
- e. Suhu injektor : 260°C
- f. Gas pembawa : Helium
- g. Injeksi bahan : $0,5\ \mu\text{l}$

4.6 Pemeriksaan Toksisitas Akut

Penelitian bersifat eksperimental murni, dengan menggunakan bubuk polimer poliester EBP-2421; yaitu lempeng poliester EBP-2421 yang dihaluskan menjadi bubuk. Perlakuan diberikan terhadap 40 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar* yang berusia 3 bulan dengan berat badan 140 gram - 150 gram.

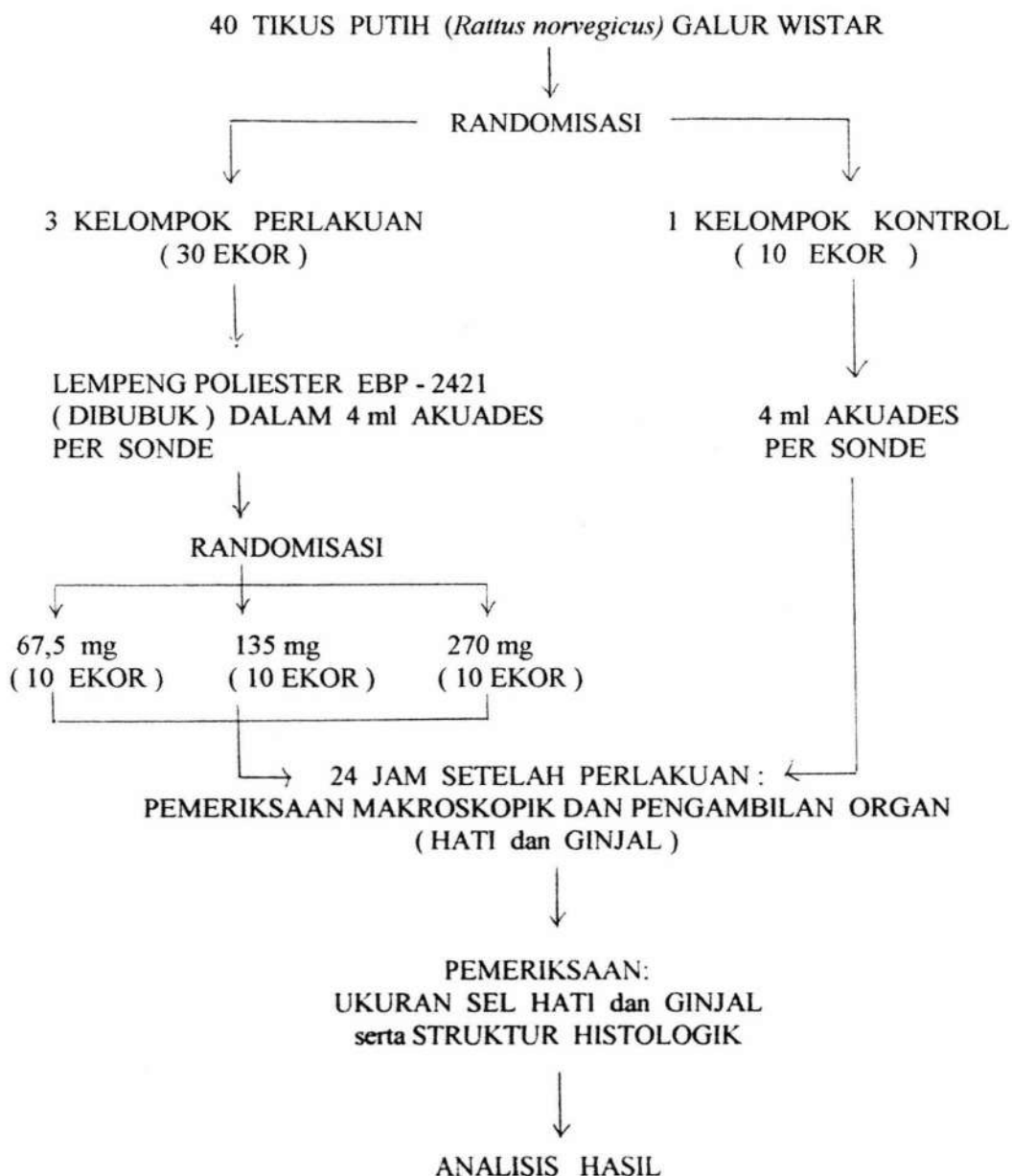
4.6.1 Variabel dan Definisi Operasional

a. Variabel bebas : Dosis bubuk poliester EBP-2421 yang diberikan pada tikus.

b. Variabel tergantung : Ukuran sel hati dan sel ginjal tikus

Definisi operasional : Gejala toksik ditunjukkan dengan adanya perubahan morfologi sel dan atau histologis sel pada hati dan ginjal tikus dibandingkan dengan kontrol.

4.6.2 Kerangka Operasional Pemeriksaan Toksisitas Akut



Gambar 4.3 Kerangka operasional pemeriksaan toksisitas akut

4.6.3 Cara Pemeriksaan

Sebanyak empat puluh ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar usia rata-rata 3 bulan dikelompokkan secara random menjadi empat kelompok, yaitu satu kelompok sebagai kontrol sedangkan tiga yang lain sebagai kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari sepuluh ekor tikus.

Lempeng polimer poliester EBP-2421 dibuat menjadi bubuk dan diberikan secara oral pada ketiga kelompok perlakuan dengan dicampur dalam 4 ml akuades. Variasi takaran bubuk poliester EBP-2421 yang diberikan pada kelompok perlakuan adalah 67,5 mg, 135 mg dan 270 mg. Penghitungan variasi dosis tersebut berdasarkan pada tabel konversi penghitungan dosis untuk hewan uji (Ngatidjan, 1991) dengan rata-rata resin akrilik yang dibutuhkan untuk pembuatan satu basis gigitiruan, yaitu 5 gram. Berdasarkan cara penghitungan tersebut, untuk tikus dengan berat badan rata-rata 150 gram membutuhkan 67,5 mg bubuk resin akrilik. Pada kelompok kontrol hanya diberikan 4 ml akuades.

Pemeriksaan toksisitas akut dilakukan 24 jam kemudian setelah pemberian perlakuan (Casarett and Doull, 1991). Organ hati dan ginjal dari semua kelompok diambil untuk kemudian dibuat sediaan dan dilakukan pemeriksaan mikroskopik. Pengukuran sel dilakukan dengan menggunakan mikrometer, yaitu dengan mengukur diameter sel sebanyak dua kali dan kemudian dibagi dua. Juga dilakukan pemeriksaan pada struktur histologik, untuk melihat kemungkinan adanya sel yang nekrose atau lisis. Pemeriksaan dilakukan untuk melihat adanya efek toksik baik secara kualitatif maupun secara kuantitatif, yaitu

dengan membandingkan diameter sel pada kelompok perlakuan dengan diameter sel pada kelompok kontrol. Hasil yang didapat dianalisis dengan menggunakan uji statistik manova.

4.7 Pemeriksaan Karsinogenisitas

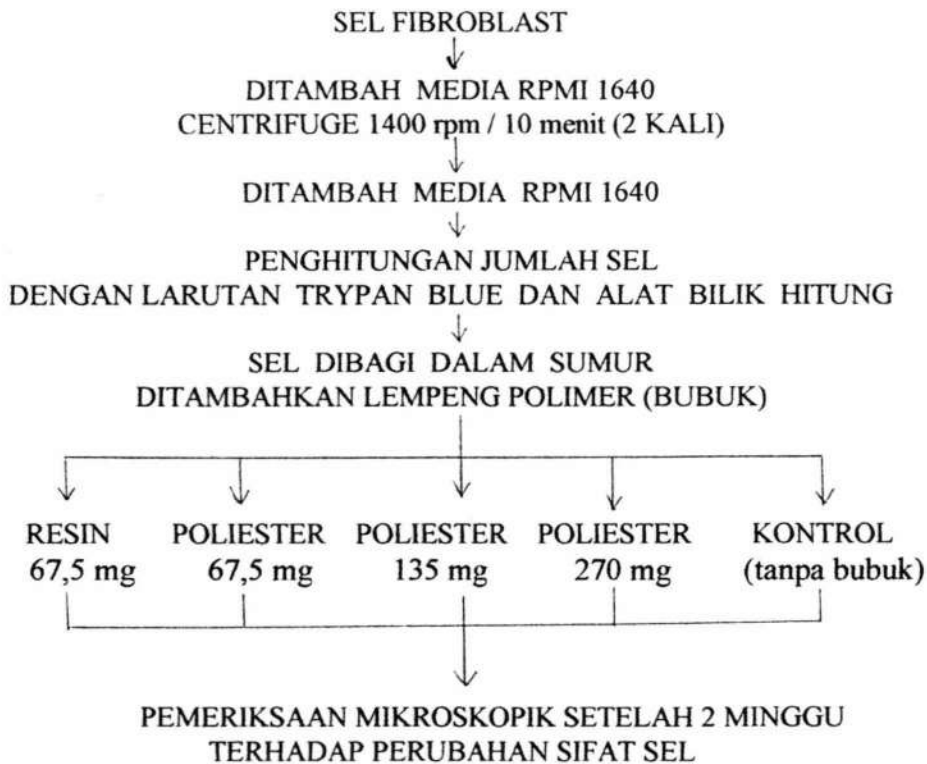
Pemeriksaan karsinogenisitas dilakukan secara eksperimental murni dengan menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dan biakan sel fibroblast. Penelitian dikerjakan secara *in vitro* dan *in vivo*. Pemeriksaan karsinogenisitas untuk mengetahui pengaruh bahan terhadap kemungkinan terjadinya transformasi sel ke arah proses keganasan.

4.7.1 Variabel dan Definisi Operasional

- a. Variabel bebas : Konsentrasi bubuk poliester EBP-2421
- b. Variabel tergantung : 1) Perubahan bentuk sel (*in vitro*)
2) Gambaran mikroskopik yang terjadi pada sel organ dan jaringan sekitar implan (*in vivo*)

Definisi operasional : Pengaruh karsinogenik pada pemeriksaan *in vitro* akan terlihat adanya perubahan pada bentuk morfologi sel, terdapat proliferasi, perlekatan sel satu sama lain serta sifat sel yang menjadi imortal. Pada pemeriksaan *in vivo* jaringan sekitar implan terlihat ada tanda peradangan dan secara mikroskopik terlihat ada infiltrasi limfosit, mitosis atau tumor.

4.7.2 Kerangka Operasional Pemeriksaan Karsinogenisitas *in vitro*



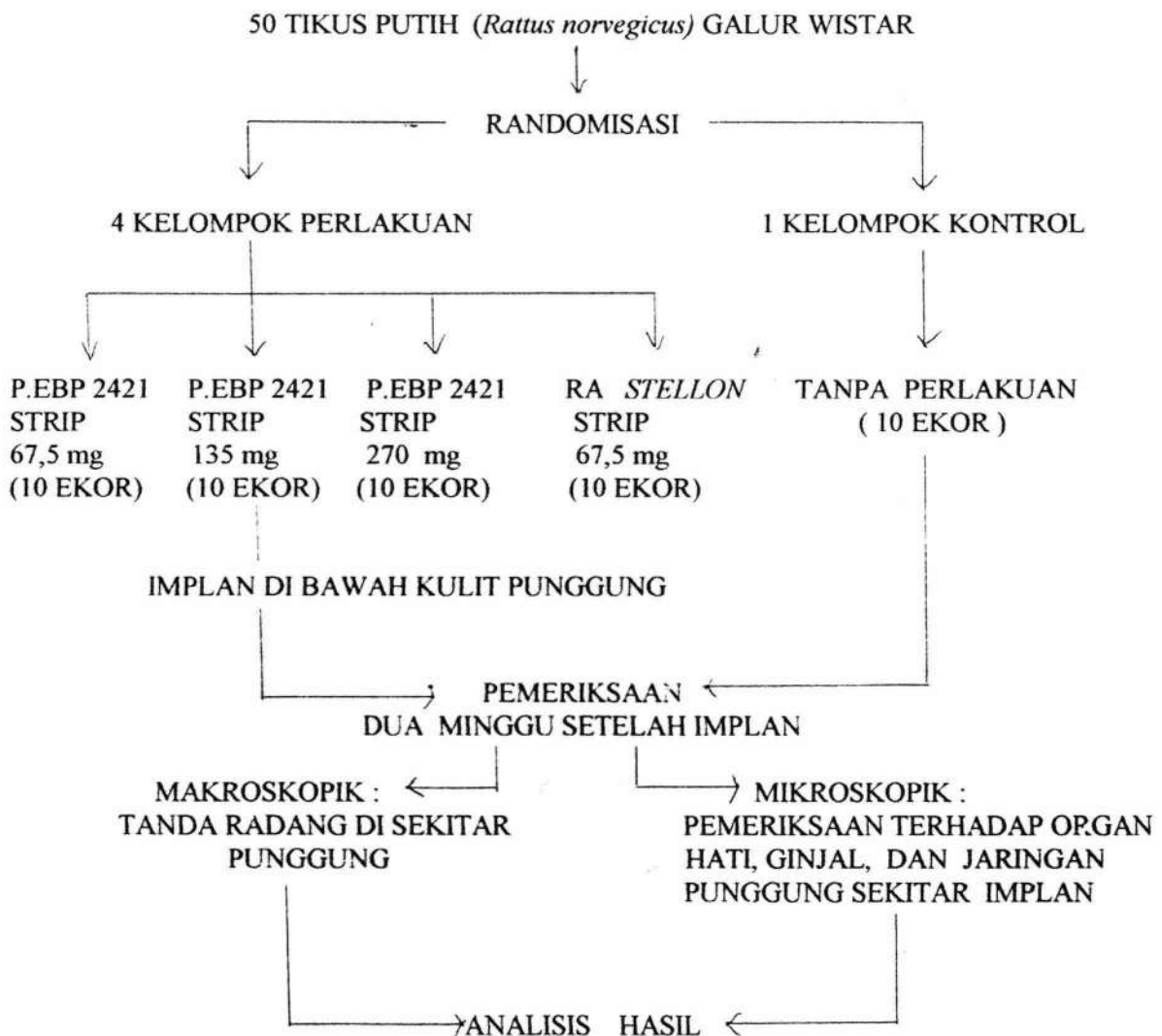
Gambar 4.4 Kerangka operasional pemeriksaan karsinogenisitas *in vitro*

4.7.3 Cara Pemeriksaan Karsinogenisitas *in vitro*

Dilakukan pembiakan sel fibroblast. Pada sel ditambahkan media RPMI 1640 untuk kemudian dilakukan *centrifuge* 1400 rpm selama 10 menit sebanyak dua kali. Setelah ditambahkan larutan *trypan blue* pada media, sel dimasukkan dalam bilik hitung (*haemocytometer*) kemudian dilakukan penghitungan sel dengan menggunakan mikroskop. Sel dimasukkan dalam lima sumur. Satu sumur sebagai kontrol, satu sumur diberi resin akrilik *Stellon* 67,5 mg, dan tiga sumur masing-masing diberi poliester EBP-2421 sebanyak 67,5

mg, 135 mg, dan 270 mg. Baik poliester EBP-2421 maupun resin akrilik *Stellon* diberikan dalam bentuk polimer yang dibubuk. Setelah dua minggu dilakukan pemeriksaan terhadap keadaan sel, yaitu bentuk sel, dan perlekatan sel terhadap permukaan sumur.

4.7.4 Kerangka Operasional Pemeriksaan Karsinogenisitas *in vivo*



Gambar 4.5 Kerangka operasional pemeriksaan karsinogenisitas *in vivo*

4.7.5 Cara Pemeriksaan Karsinogenisitas *in vivo*

Sebanyak 50 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) usia 3 bulan dibagi menjadi lima kelompok, yaitu empat kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol. Setiap kelompok terdiri dari 10 ekor tikus.

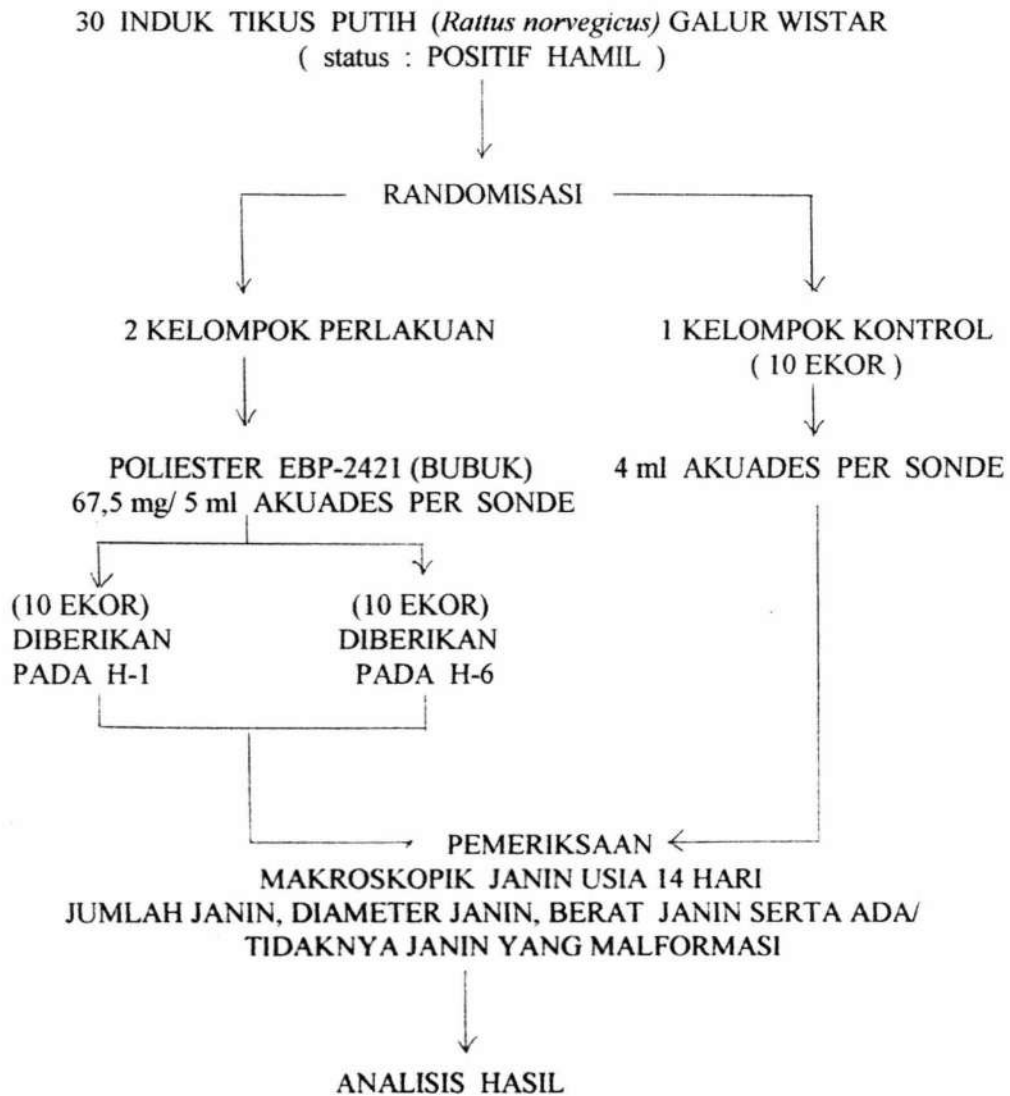
Perlakuan yang diberikan adalah pemberian poliester EBP-2421 untuk ke tiga kelompok perlakuan dan resin akrilik *Stellon* untuk kelompok pembanding. Bahan diberikan dalam bentuk strip. Variasi yang dilakukan adalah pada konsentrasi strip poliester EBP-2421, yaitu 67,5 mg, 135 mg dan 270 mg. Konsentrasi strip resin akrilik *Stellon* adalah 67,5 mg. Strip disisipkan di bawah kulit punggung yang telah dicukur bulunya. Pekerjaan implan dilakukan setelah tikus dibius dengan menggunakan eter.

Dua minggu kemudian setelah perlakuan, strip diambil serta dilakukan pengamatan secara makroskopik pada jaringan sekitar tempat penyisipan strip, untuk melihat adanya tanda peradangan. Dilakukan pengambilan organ hati, ginjal dan jaringan sekitar strip untuk pemeriksaan mikroskopik.

4.8 Pemeriksaan Teratogenisitas

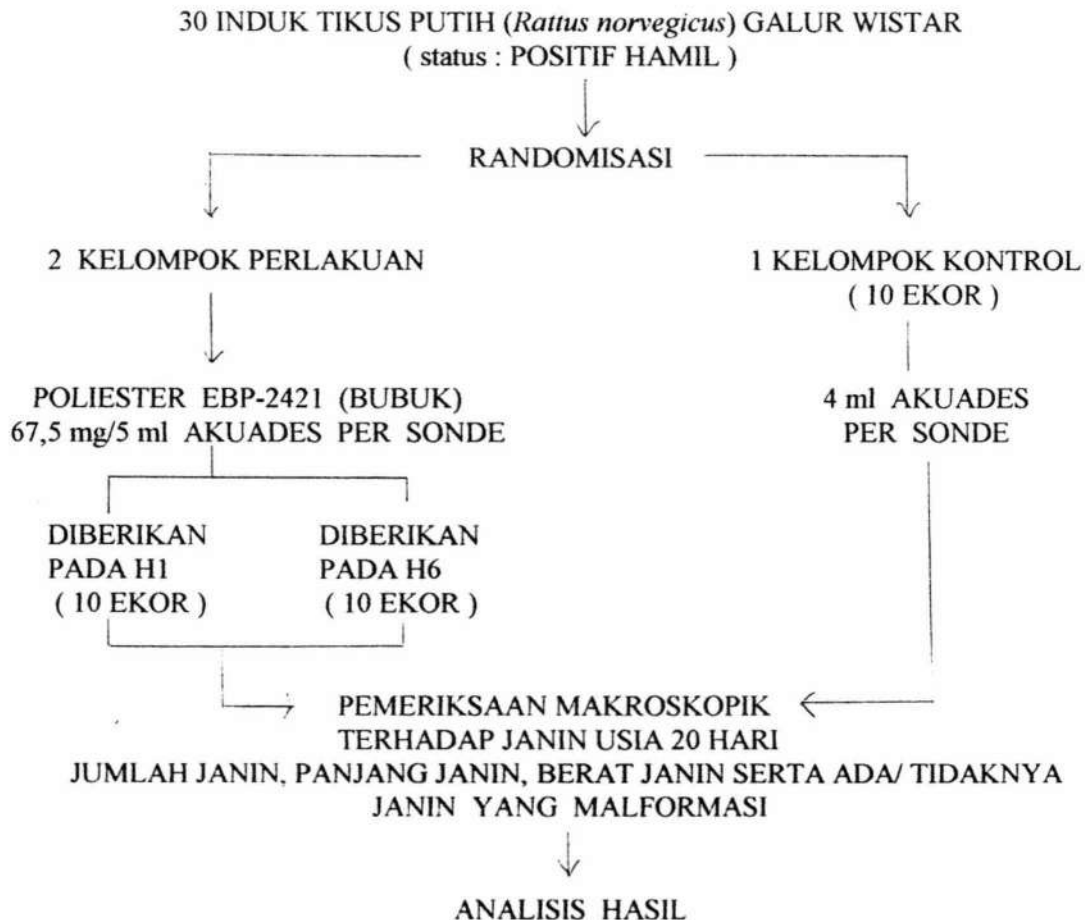
Pemeriksaan teratogenisitas dilakukan dengan mengadakan eksperimental murni pada induk tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan status positif hamil. Perlakuan yang diberikan berupa pemberian bubuk poliester EBP-2421 pada masa kehamilannya. Pemeriksaan dilakukan terhadap kelengkapan tubuh janin pada usia kehamilan 14 hari dan 20 hari.

4.8.1 Kerangka Operasional Pemeriksaan Teratogenisitas Janin Usia 14 hari



Gambar 4.6 Kerangka operasional pemeriksaan teratogenisitas janin usia 14 hari

4.8.2 Kerangka Operasional Pemeriksaan Teratogenisitas Janin Usia 20 hari



Gambar 4.7 Kerangka operasional pemeriksaan teratogenisitas janin usia 20 hari

4.8.3 Variabel dan Definisi Operasional

- a. Variabel bebas : Dosis dan waktu pemberian bubuk poliester EBP- 2421, yaitu 67,5 mg pada hari pertama kehamilan (H1) dan pada saat organogenesis atau hari ke enam kahamilan (H6).

- b. Variabel tergantung : Sifat teratogenik digambarkan oleh jumlah janin, diameter janin, panjang janin, berat janin serta ada tidaknya malformasi. Pemeriksaan diameter janin dilakukan pada H14. Pengukuran dilakukan dengan alat *sliding caliper* (ketepatan 0,01 mm), yaitu dengan mengukur lingkaran janin.

Definisi operasional : Suatu bahan kimia bersifat teratogenik apabila bahan tersebut menimbulkan gangguan terhadap janin. Manifestasi gangguannya dapat berupa kematian janin, ukuran janin yang mengecil, atau adanya kelainan bentuk tubuh atau organ janin.

4.8.4 Cara Pemeriksaan

Sebanyak 60 ekor induk tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi 6 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 10 ekor. Semua tikus dalam status positif hamil. Diagnosa kehamilan didasarkan pada pemeriksaan mikroskopik usapan dinding vagina satu hari setelah tikus jantan dan betina dikawinkan. Apabila terlihat ada sperma, maka dihitung sebagai kehamilan hari pertama (H1).

Dari enam kelompok yang ada, sebanyak tiga kelompok diperiksa pengaruh teratogeniknya pada saat janin berusia 14 hari (H14), dan tiga kelompok lainnya diperiksa pada saat usia janin 20 hari (H20 - satu hari sebelum perhitungan kelahiran normal). Tiga

kelompok dari H14 dibagi menjadi satu kelompok kontrol dan dua kelompok perlakuan, yaitu kelompok yang mendapat perlakuan pada hari pertama kehamilan (H1) dan kelompok yang mendapat perlakuan pada saat organogenesis (H6). Pembagian kelompok ini juga berlaku bagi tiga kelompok dari H20.

Polimer poliester EBP-2421 diberikan dalam bentuk bubuk secara oral, yaitu dengan menggunakan sonde pada kelompok perlakuan. Takaran yang diberikan adalah 67,5 mg dalam 4 ml akuades. Pada kelompok kontrol diberikan 4 ml akuades secara oral.

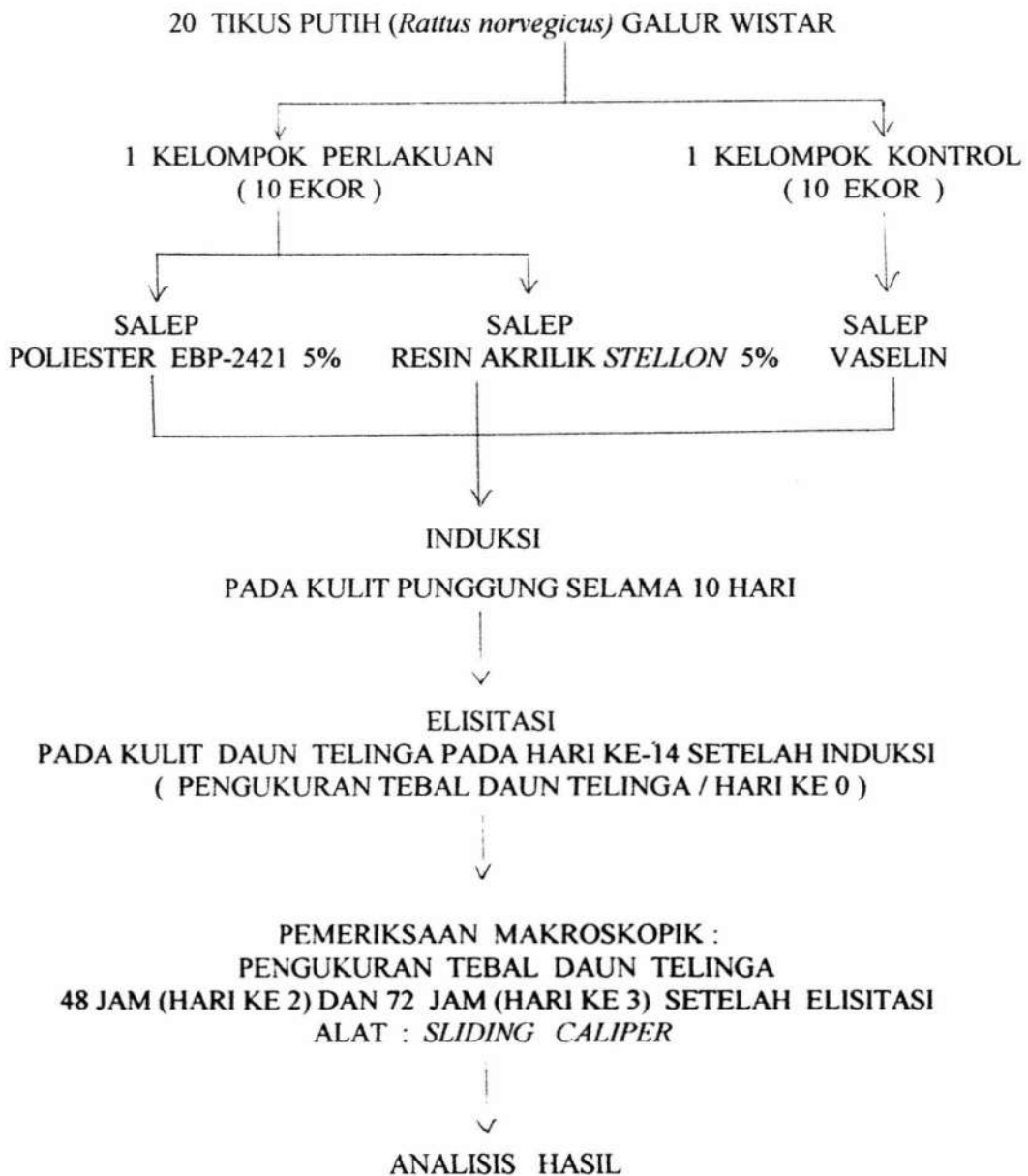
Variasi perlakuan berdasarkan saat pemberian poliester EBP-2421, yaitu pada hari pertama kehamilan (H1) dan pada hari keenam kehamilan (H6), yaitu pada awal organogenesis (Casarett and Doull, 1991). Pemeriksaan terhadap janin dilakukan pada hari keempat belas dari kehamilan (H14) dan terhadap janin pada saat kehamilan berusia 20 hari (H20).

Pemeriksaan sifat teratogenik dilakukan secara makroskopik (visual), yaitu terhadap jumlah janin, diameter janin, panjang janin, berat janin, serta kelengkapan pada organ dan anggota tubuh janin. Analisis hasil dilakukan dengan menggunakan uji manova.

4.9 Pemeriksaan Hipersensitivitas

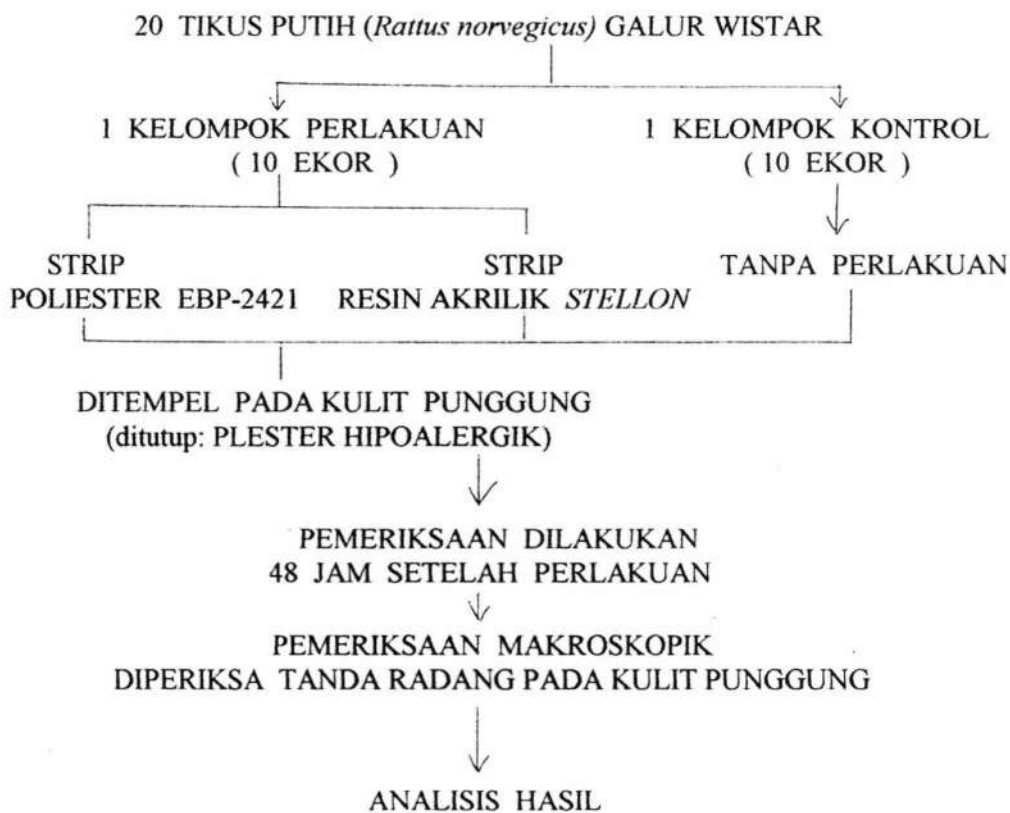
Pemeriksaan yang dilakukan adalah dengan cara tes hipersensitivitas kontak dan tes tempel kulit. Penelitian bersifat eksperimental murni yaitu pemberian perlakuan pada tikus putih. Perlakuan pada tes hipersensitivitas kontak berupa pemberian poliester EBP-2421 dan resin akrilik *Stellon* dalam bentuk salep. Sedangkan pada pemeriksaan tes tempel kulit bahan diberikan dalam bentuk strip.

4.9.1 Kerangka Operasional Pemeriksaan Hipersensitivitas Kontak



Gambar 4.8 Kerangka operasional pemeriksaan hipersensitivitas kontak

4.9.2 Kerangka Operasional Pemeriksaan Tes Tempel Kulit



Gambar 4.9 Kerangka operasional pemeriksaan tes tempel kulit

4.9.3 Variabel dan Definisi Operasional

- a. Variabel bebas : Poliester EBP-2421 dan resin akrilik *Stellan* dalam bentuk salep 5% dan strip.
- b. Variabel tergantung : Tebal daun telinga (hipersensitivitas kontak) serta ada atau tidak adanya reaksi radang pada kulit punggung (tes tempel kulit)

- Definisi operasional : 1) Hipersensitivitas kontak dinyatakan dengan perubahan ketebalan daun telinga setelah dilakukan induksi dan elisitasi (hipersensitivitas kontak).
- 2) Tes tempel kulit dinyatakan positif apabila terjadi reaksi radang pada kulit setelah ditempel bahan (tes tempel kulit).

4.9.4 Cara Pemeriksaan Hipersensitivitas Kontak

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 20 ekor dibagi menjadi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, setiap kelompok terdiri dari 10 ekor. Poliester EBP-2421 dan resin akrilik *Stellon* dibuat menjadi salep 5% dengan campuran vaselin. Kelompok perlakuan dibagi dua. Kelompok I mendapat salep poliester EBP-2421 5%, dan kelompok II mendapat salep resin akrilik *Stellon* 5%. Satu bulan kemudian kelompok I mendapat resin akrilik *Stellon* 5%, dan kelompok II mendapat poliester EBP-2421 5%. Pada kelompok kontrol diberikan salep vaselin.

Perlakuan yang diberikan berupa induksi dengan mengoleskan salep pada kulit punggung yang sudah dicukur bulunya. Bagian kulit yang terdapat salep kemudian ditutup dengan plester hipoalergik. Pada hari ke sepuluh plester dibuka, dan pada hari ke 14 dilakukan elisitasi berupa pengolesan salep pada daun telinga (Van Hoogstraten, 1992). Pengukuran tebal daun telinga (Tron and Sauder, 1991) dilakukan sebelum elisitasi, 48 jam, dan

72 jam setelah elisitasi. Alat yang digunakan adalah *sliding caliper* dengan satuan milimeter. Hasil yang didapat dianalisis dengan uji manova.

4.9.5 Cara Pemeriksaan Tes Tempel Kulit

Sebanyak 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibedakan menjadi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Poliester EBP-2421 dan resin akrilik *Stellion* dibuat dalam bentuk strip dengan ukuran 5 x 1 x 10 mm. Tikus kelompok perlakuan, pada daerah kulit punggung yang sudah dicukur bulunya ditempel strip dari kedua macam bahan polimer. Supaya strip tidak lepas, ditutup dengan plester hipoalergik.

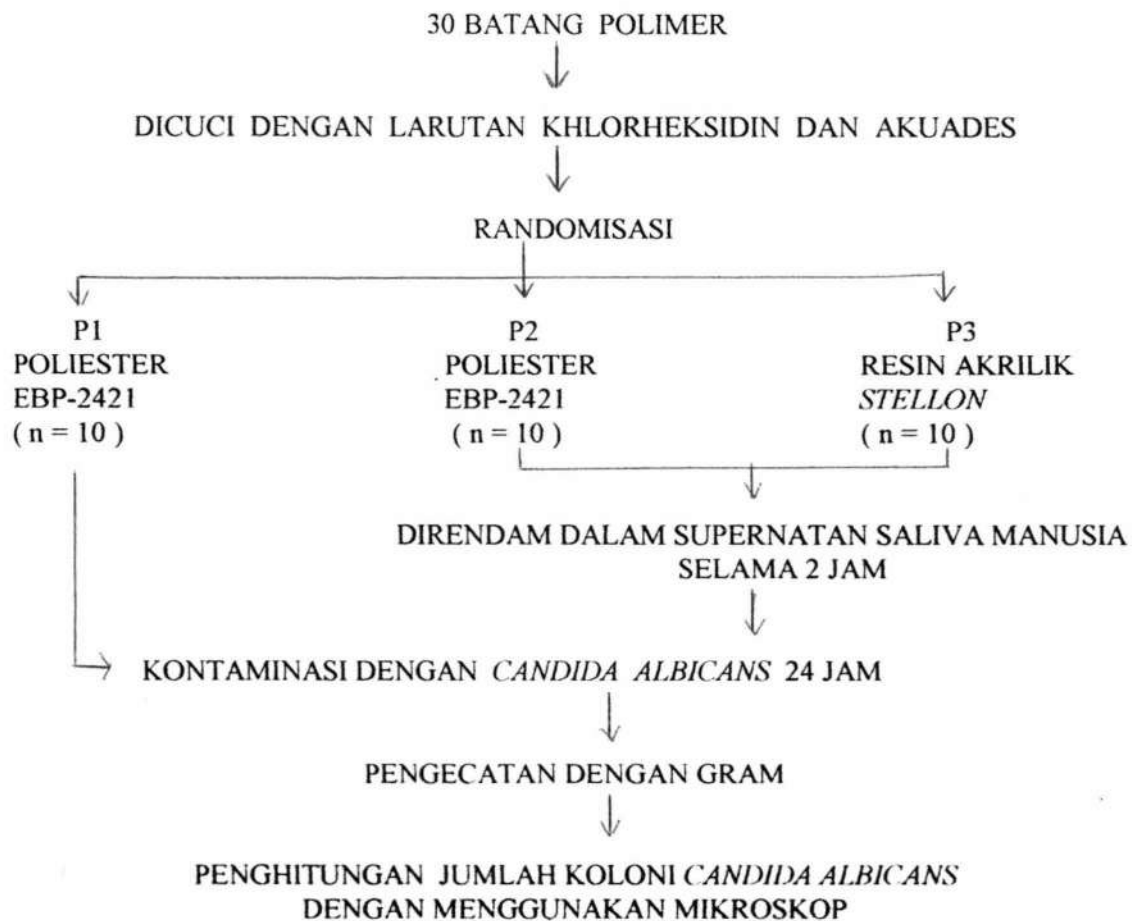
Pemeriksaan dilakukan 48 jam setelah perlakuan dengan cara menggunakan skor, yaitu : skor 1 bila ada tanda radang pada kulit, dan skor 2 bila tidak ada tanda radang pada kulit (Giunta et al., 1995). Hasil dianalisis dengan cara uji statistik non parametrik.

4.10 Pemeriksaan Mikrobiologis

Pemeriksaan dilakukan dengan cara eksperimental murni yang menggunakan strip poliester EBP-2421 dan resin akrilik *Stellon*. Kedua bahan direndam dalam supernatan saliva manusia, dan selanjutnya direndam dalam cairan *Candida albicans*. Tujuan pemeriksaan adalah untuk mengetahui jumlah koloni *Candida albicans* yang melekat pada permukaan bahan polimer.

Dalam penelitian ini mikroorganisme yang diperiksa hanya *Candida albicans*, karena *Candida albicans* menjadi salah satu penyebab stomatitis pada pemakai gigitiruan.

4.10.1 Kerangka Operasional Pemeriksaan Mikrobiologis



Gambar 4.10 Kerangka operasional pemeriksaan mikrobiologis

4.10.2 Variabel dan Definisi Operasional

- a. Variabel bebas : Perendaman dalam supernatan saliva.
: Kontaminasi dengan *Candida albicans*
- b. Variabel tergantung : Jumlah koloni *Candida albicans*

Definisi operasional :

Supernatan saliva adalah saliva manusia (setelah dilakukan penyaringan) yang dapat membentuk lapisan pelikel yang berfungsi sebagai media perlekatan *Candida albicans* pada permukaan bahan polimer.

Jumlah koloni *Candida albicans* adalah banyaknya koloni *Candida albicans* yang melekat pada permukaan bahan, setelah dilakukan inkubasi satu jam. Pemeriksaan dilakukan dengan pengecatan gram dan menggunakan mikroskop.

4.10.3 Cara Pemeriksaan

Bahan poliester EBP-2421 dan resin akrilik *Stellon* dibuat sebanyak 30 strip dengan ukuran (1 x 10 x 10) mm. Strip direndam dalam larutan khlorheksidin dan kemudian dicuci dengan akuades. Secara random dibagi menjadi dua kelompok poliester EBP-2421 (P1 dan P2) dan satu kelompok resin akrilik *Stellon* (P3), masing-masing kelompok terdiri dari 10 strip.

Kelompok P2 dan P3 direndam dalam supernatan saliva manusia selama 2 jam, sedangkan untuk kelompok P1 tidak dilakukan perendaman. Supernatan saliva didapat setelah dilakukan penyaringan. Semua strip dari semua kelompok dicuci dengan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) dan dilakukan kontaminasi dengan *Candida albicans* selama 24 jam.

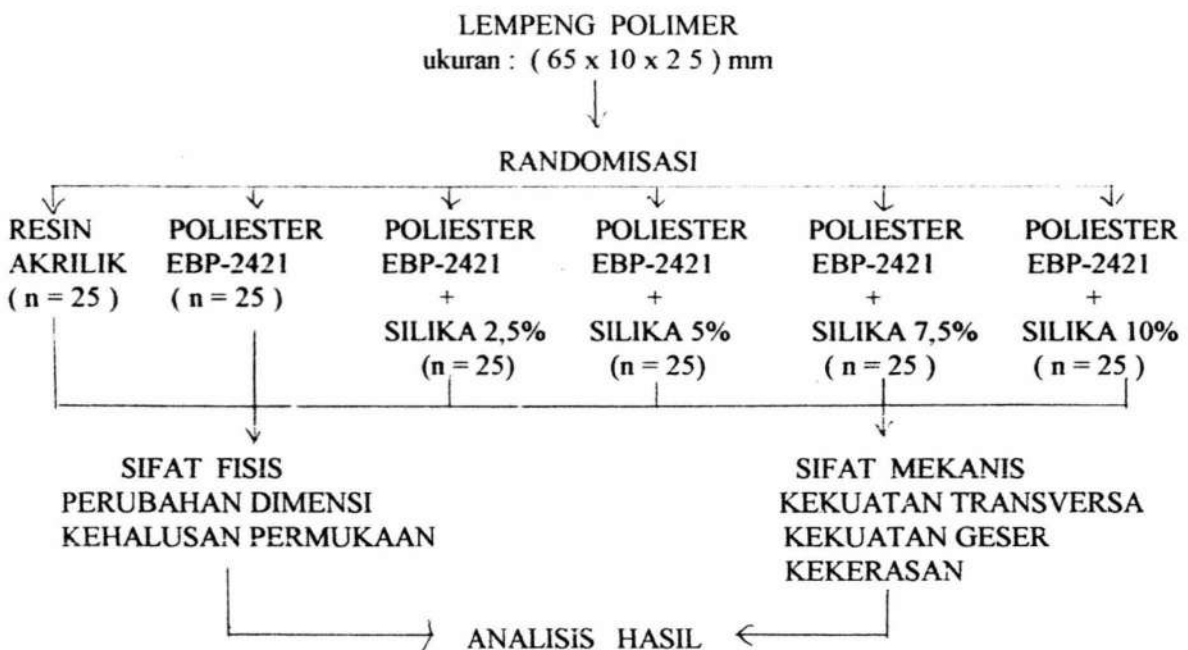
Dilakukan pengecatan pada semua strip dengan gram, sedangkan pemeriksaan jumlah koloni dilakukan dengan mikroskop. Hasil dianalisis dengan anava satu jalur.

4.11 Pemeriksaan Sifat Fisis dan Sifat Mekanis

Pemeriksaan dilakukan secara eksperimental murni dengan menggunakan batang poliester EBP-2421 sebagai kelompok perlakuan, dan resin akrilik *Stellon* sebagai kelompok pembanding. Perlakuan yang diberikan berupa konsentrasi penambahan bahan pengisi silika pada poliester EBP-2421.

Tujuan pemeriksaan adalah untuk mengetahui perubahan dimensi dan kehalusan permukaan bahan (sifat fisis), serta kekuatan transversa, kekuatan geser dan kekerasan bahan (sifat mekanis) pada kelompok perlakuan yang paling mendekati kekuatan resin akrilik *Stellon*.

4.11.1 Kerangka Operasional Pemeriksaan Sifat Fisis dan Sifat Mekanis



Gambar 4.11 Kerangka operasional pemeriksaan sifat fisis dan sifat mekanis

4.11.2 Variabel dan Definisi Operasional

a. Variabel bebas : Konsentrasi silika yang ditambahkan dalam poliester EBP-2421, yaitu 2,5%, 5%, 7,5% dan 10%.

b. Variabel tergantung : 1) Sifat fisis : Perubahan dimensi yang terjadi setelah polimerisasi dan kehalusan permukaan.

2) Sifat mekanis : Kekuatan transversa, kekuatan geser dan kekerasan.

Definisi operasional : 1) Perubahan dimensi adalah perbedaan luas permukaan sebelum dan sesudah polimerisasi (%).

2) Kehalusan permukaan adalah rata-rata permukaan bahan (Ra).

3) Kekuatan transversa adalah ketahanan bahan dalam menerima beban maksimum (MPa).

4) Kekuatan geser adalah kekuatan bahan dalam menerima beban geser maksimum (MPa).

5) Kekerasan adalah ketahanan bahan dalam menerima penetrasi atau indentasi pada permukaan bahan (VHN)

4.11.3 Cara Penelitian

Lempeng polimer dibuat dari poliester EBP-2421, kombinasi poliester EBP-2421 dengan beberapa konsentrasi silika (2,5%, 5%, 7,5% dan 10%), dan dari resin akrilik *Stellon*. Ukuran batang polimer sesuai aturan yang ditentukan oleh *American Dental Association*, yaitu (65 x 10 x 2,5) mm. Setiap kelompok terdiri dari 25 batang.

Pemeriksaan perubahan dimensi dilakukan dengan mengukur jarak titik AB dan titik AC pada permukaan malam, hal ini dianggap sebagai luas atau dimensi permukaan sebelum polimerisasi. Segera setelah polimerisasi dilakukan pengukuran kembali pada jarak titik AB dan titik AC. Ukuran atau dimensi permukaan merupakan hasil penghitungan jarak titik AB dikalikan dengan jarak titik AC. Perubahan dimensi merupakan perbedaan dimensi (dalam persen) sebelum dan sesudah polimerisasi (Salim et al., 1992). Pengukuran dilakukan dengan menggunakan *Research Microscope* dari Olympus model AHMT.

Pemeriksaan kehalusan permukaan dilakukan dengan menggunakan alat *Surftest* dari Mitutoyo tipe 211 dengan satuan Ra atau μ inci.

Pada pemeriksaan kekuatan transversa dan kekuatan geser lempeng polimer diberi beban maksimum. Alat yang digunakan adalah *United Testing System* dari Shimadzu dengan satuan MPa. Sedangkan untuk pemeriksaan kekerasan, permukaan lempeng polimer diberi indentasi. Alat yang digunakan adalah *Micro Hardness Tester* (satuan VHN) dari Shimadzu. Hasil dianalisis dengan menggunakan uji statistik anova.