

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah observasional analitik dengan studi longitudinal. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap penderita yang datang ke poliklinik gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga (FKG UNAIR) tahun 1997.

4.2 Populasi

Populasi penelitian ini adalah seluruh penderita yang datang ke poliklinik gigi FKG UNAIR pada tahun 1997.

4.3 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagian dari populasi yaitu penderita yang datang ke poliklinik FKG UNAIR tahun 1997 dengan kriteria seperti di bawah ini.

4.3.1 Kriteria sampel

Sampel dibagi menjadi dua kelompok, yaitu :

Kelompok studi : adalah kelompok penderita karang gigi pria dan wanita yang berusia 18 – 25 tahun serta mempunyai susunan gigi-geligi tidak berdesakan.

Kelompok pembanding : adalah bukan penderita karang gigi pria dan wanita usia 18 – 25 tahun, mempunyai susunan gigi-geligi tidak berdesakan serta belum pernah dilakukan pembersihan karang gigi.

Kedua kelompok sampel yang diperiksa tidak menderita penyakit sistemik *Diabetes Mellitus*, tidak menderita penyakit ginjal dan tidak minum obat apapun terutama pada saat pemeriksaan saliva. Pernyataan tentang kesehatan umum ini didapatkan melalui anamnesa.

4.3.2 Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *Simple Random Sampling*, dengan teknik pelaksanaan sebagai berikut, beberapa penderita yang datang pada hari tertentu diberi nomor pada status penderitanya, kemudian seluruh nomor yang ada pada hari tersebut diundi dan dari undian tersebut diambil 2 individu sampel setiap hari. Pemeriksaan saliva penderita dilakukan 2 kali dalam seminggu yaitu hari Selasa dan Kamis. Penelitian dimulai pada bulan Februari 1997 dan semua hasil pemeriksaan sampel terkumpul lengkap pada bulan Oktober 1997.

4.3.3 Besar sampel

Besar sampel didapatkan dari rumus berikut ini (Daniel, 1991) :

$$n = \frac{N \cdot Z\alpha^2 \cdot p (1 - p)}{N \cdot d^2 + Z\alpha^2 \cdot p (1 - p)}$$

Perhitungan besar sampel penelitian ini adalah sebagai berikut :

$$n = \frac{976 \times (1,96)^2 \times 0,80 (1 - 0,80)}{976 \times (0,15)^2 + (1,96)^2 \times 0,80 (1 - 0,80)} = \frac{3.747,84 \times 0,16}{19,52 + 0,61} = 29,79.$$

n = besar sampel atau *sample size*

N = jumlah penderita yang berkunjung ke poliklinik FKG UNAIR usia 18 – 25 tahun, pada bulan Januari sampai dengan Juni tahun 1996 = 976 orang.

$Z\alpha$ = harga kurva normal pada α 0,05 = 1,96.

p = probabilitas terbentuknya karang gigi = 80 % (Carranza, 1994).

d = besarnya penyimpangan probabilitas terbentuknya karang gigi yang masih dapat diterima = 15%.

Berdasarkan perhitungan dengan menggunakan rumus besar sampel di atas, minimal sampel yang harus diambil adalah 29,79 atau dibulatkan menjadi 30 *orang*. Untuk menghindari hilangnya sampel akibat *drop out*, maka besar sampel ditambah 5 orang, sehingga besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 35 orang.

4.3.4 Unit analisis

Unit analisis adalah saliva yang berasal dari produksi seluruh kelenjar saliva, yaitu kelenjar parotis, kelenjar submandibula, kelenjar sublingual serta kelenjar saliva kecil lain yang berada di dalam rongga mulut. Saliva yang diukur adalah hasil produksi saliva yang diambil pada saat seluruh kelenjar saliva dalam keadaan tidak terstimulasi (*whole resting-saliva*).

Teknik pengambilan saliva tersebut adalah sebagai berikut :

- a. Sampel diwajibkan berpuasa sejak pukul 24.00 sampai pada waktu pengambilan saliva pada pukul 9.00 WIB.
- b. Sampel ditempatkan dalam suatu ruangan yang sejuk dan nyaman, dalam posisi duduk, 30 menit sebelum pengambilan saliva. Selama menunggu waktu pengambilan saliva diberikan pengarahan tentang pengambilan saliva yang akan dilaksanakan. Pada waktu yang telah ditentukan yaitu pukul 9.00 WIB., sampel diminta untuk

mengumpulkan saliva dengan cara sebagai berikut : selama 5 menit sampel harus menutup mulut dengan posisi lidah istirahat. Pada saat pengumpulan saliva, sampel harus tetap duduk di tempatnya dengan posisi kepala menunduk, tenang dan tidak boleh tersenyum ataupun tertawa (Sreebney et al., 1992; Percival et al., 1994).

- c. Setelah saliva terkumpul di dalam rongga mulut atau setelah 5 menit, saliva dialirkan perlahan-lahan dan tidak boleh dipacu dengan menggerakkan pipi. Saliva yang mengalir segera ditampung dalam tabung reaksi steril, yang telah dipersiapkan menempel pada bibir sampel. Setelah saliva seluruhnya tertampung, segera dilakukan pengukuran pH dan dilanjutkan dengan pengukuran amonia serta variabel yang lain.

Pengambilan maupun pengukuran elektrolit, bahan organik dan pH saliva istirahat pada penelitian ini masih belum merupakan teknik yang ideal. Hal ini adalah akibat dari keterbatasan waktu pengambilan saliva istirahat dan kemampuan alat ukur laboratorium yang ada di Surabaya.

Waktu yang ideal untuk mendapatkan saliva istirahat adalah pada saat tidur, hal ini sangat tidak mungkin dilakukan oleh karena peneliti tidak dapat melakukan karantina terhadap semua sampel yang berjumlah 70 orang. Di samping itu peralatan yang digunakan untuk pengukuran sangat banyak dan tidak diijinkan untuk dibawa keluar dari laboratorium, sehingga waktu pengambilan saliva dilakukan pada pukul 9.00 WIB. Pukul 9.00 WIB. adalah waktu yang masih dalam rentang *resting saliva*, walaupun dalam grafik ritme *circadian* dari *unstimulated saliva* selama 24 jam sudah mulai meningkat sekresinya (Roth & Calmes, 1981).

Untuk mengukur pembentukan karang gigi supragingiva diperlukan pengukuran tingkat kejenuhan saliva. Pengukuran tingkat kejenuhan saliva terhadap garam kalsium

fosfat dibutuhkan pengukuran kadar ion kalsium dan ion fosfat dengan *specific ion electrode*. Namun, pada saat pelaksanaan penelitian ini, alat ukur ini tidak tersedia, bahkan pada seluruh laboratorium yang ada di Surabaya. Sebagai akibatnya penelitian ini tidak dapat mengukur kejenuhan saliva. Oleh karena keterbatasan tersebut, sebagai langkah pendekatan, penelitian ini mengukur kadar total kalsium dan kadar total fosfat saliva dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak UV Secomam 1000.

Pengaruh kadar ion kalsium dan kadar ion fosfat saliva terhadap tingkat kejenuhan garam kalsium fosfat dan pengendapannya, pada penelitian ini dianalogikan dengan pengaruh kadar kalsium total dan kadar fosfat total terhadap pertambahan endapan karang gigi supragingiva yang diukur dengan *Marginal Line Calculus Index* (MLCI).

Pengambilan sampel saliva istirahat memerlukan persiapan khusus, di samping puasa, sebelum pengambilan saliva istirahat sampel ditempatkan di ruang khusus yang tenang dan sejuk dan duduk dengan posisi khusus. Berdasarkan hasil survei terhadap laboratorium dari berbagai instansi di Surabaya yang dianggap mampu untuk mengukur variabel, ternyata hanya beberapa yang dapat menyediakan ruang untuk persiapan sampel sebelum diambil salivanya. Kemudian dari beberapa laboratorium yang dapat menyediakan ruangan persiapan, ternyata tidak semua dapat mengukur sekaligus beberapa variabel yang dibutuhkan pada penelitian ini.

Mengingat bahwa penelitian ini akan mengukur elektrolit yang mudah menguap, terutama amonia maka dipilih sebuah laboratorium yang dapat melakukan pengukuran dengan cepat, sesaat setelah saliva istirahat dikeluarkan dari mulut, maka dipilih laboratorium yang dapat melakukan pengukuran seluruh variabel yang dibutuhkan dalam

satu tempat. Laboratorium yang memenuhi syarat seperti yang dibutuhkan adalah laboratorium kimia FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Pengukuran variabel klinis seperti indeks kebersihan mulut OHI-S, indeks karang gigi MLCI serta pemilihan kelompok penderita dan bukan penderita dilakukan di laboratorium Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Pengukuran variabel yang merupakan komponen dari saliva dilakukan pada hari tertentu, yaitu hari Selasa dan Kamis. Sehingga sampel kelompok penderita yang telah selesai dibersihkan karang giginya maupun sampel kelompok bukan penderita yang datang pada hari lain, terpaksa harus dijadwalkan untuk diperiksa salivanya pada hari yang telah ditentukan. Keterbatasan ini juga mengakibatkan banyak waktu yang terbuang.

4.4 Variabel

Untuk membuktikan bahwa amonia saliva adalah faktor pemicu pembentukan karang gigi supragingiva melalui pengaruhnya terhadap pH saliva istirahat, analisis data pada penelitian ini dibagi menjadi tiga tahap. Tahap pertama adalah pembuktian bahwa kadar amonia saliva lebih berpengaruh terhadap pH saliva daripada kadar bikarbonat saliva dan kebersihan mulut (OHI-S), pembuktian ini menggunakan uji statistik regresi ganda linier.

Tahap kedua adalah pembuktian bahwa pH saliva lebih berpengaruh terhadap pembentukan karang gigi daripada kadar kalsium saliva, kadar fosfat saliva, kadar lipid total saliva dan kebersihan mulut (OHI-S), pembuktian ini menggunakan uji statistik regresi ganda linier.

Tahap ketiga adalah menguji hipotesis yang menyatakan bahwa kadar amonia merupakan pemicu pembentukan karang gigi supragingiva melalui pengaruhnya terhadap

pH saliva istirahat, digunakan uji jalur yang melibatkan keseluruhan variabel bebas, pembuktian ini menggunakan uji statistik *path analysis* (uji jalur). Pengujian hipotesis ini dilanjutkan dengan mempelajari kadar optimal amonia istirahat yang dapat memicu pembentukan karang gigi supragingiva serta pH saliva istirahat optimal yang dapat menyebabkan pembentukan karang gigi supragingiva.

Pada tahap pertama variabel yang diteliti adalah sebagai berikut:

Variabel bebas : a. Kadar amonia (NH_3) saliva

b. Kadar bikarbonat (HCO_3^-) saliva

c. Kebersihan mulut (OHI-S)

Variabel tergantung : pH saliva istirahat.

Pada tahap kedua variabel yang diteliti adalah sebagai berikut :

Variabel bebas : a. Kadar kalsium saliva

b. Kadar fosfat saliva

c. Kadar lipid total saliva

d. Kebersihan mulut (OHI-S)

Variabel tergantung : pembentukan karang gigi supragingiva yang diukur dengan *Marginal Line Calculus Index*.

Pada tahap ketiga adalah menguji jalur pengaruh kadar amonia, kadar bikarbonat saliva istirahat dan kebersihan mulut (OHI-S) terhadap pembentukan karang gigi melalui pengaruh kondisi pH saliva istirahat. Di samping itu, uji jalur ini juga mengukur pengaruh langsung variabel kadar kalsium, fosfat dan lipid total saliva istirahat terhadap pembentukan karang gigi.

4.4.1 Definisi Operasional Variabel

- a. Kadar amonia saliva adalah kadar NH_3 saliva istirahat dalam satuan ppm yang didapatkan dari pengukuran kadar amonium saliva istirahat dengan Spektrofotometer Secomam 1000. Kadar amonium adalah setara dengan kadar amonia saliva istirahat (Manahan,1994). Kadar amonia saliva istirahat sebagai variabel bebas I.
- b. Kadar bikarbonat saliva adalah kadar HCO_3^- saliva dalam satuan ppm yang diukur dengan teknik Titrasi (Manahan,1994), sebagai variabel bebas I.
- c. Kondisi pH saliva adalah derajat keasaman saliva yang diukur dengan Orion pH meter (Poff et al., 1998), sebagai variabel tergantung I dan variabel bebas II.
- d. Kadar fosfat saliva adalah kadar fosfat total yang terdiri dari $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$, $[\text{HPO}_4^{2-}]$, $[\text{PO}_4^{3-}]$ dalam satuan ppm yang diukur dengan spektrofotometer Secomam 1000 (Lagerlof, 1988), sebagai variabel bebas II bersama dengan lipid total dan kalsium.
- e. Kadar lipid total saliva adalah konsentrasi lipid total saliva dalam satuan ppm yang diukur dengan teknik penimbangan setelah diekstraksi dengan campuran Chloroform dan Methanol (1:1 v/v) (Slomiany, 1980) sebagai variabel bebas II, bersama-sama dengan kalsium dan fosfat.
- f. Kadar kalsium saliva adalah kadar kalsium total dalam satuan ppm yang diukur dengan Spektrofotometer (*Atomic Absorption Spectrophotometry*) (Poff et al., 1997), sebagai variabel bebas II, bersama dengan lipid total dan fosfat.
- g. Indeks kebersihan mulut OHI-S adalah *Simplified Oral Hygiene Index* yang diciptakan oleh Green & Vermillion tahun 1961. Indeks ini adalah penjumlahan dari *Simplified Debris Index* (DI-S) yaitu indeks kekotoran gigi dan *Simplified Calculus Index* (CI-S) yaitu indeks karang gigi. Indeks kebersihan mulut ini diukur pada awal

pemeriksaan, pemeriksaan pada minggu keempat, minggu kedelapan dan minggu kedelapanbelas, sebagai variabel bebas I dan II

- h. Pembentukan karang gigi supragingiva diukur dengan Indeks karang gigi *Marginal Line Calculus Index* yang diciptakan oleh Muhlemman dan Villa pada tahun 1967. Indeks ini adalah indeks karang gigi paling peka untuk evaluasi pertumbuhan karang gigi. Pengukurannya dilakukan pada awal pemeriksaan, pemeriksaan pada minggu keempat, minggu kedelapan dan minggu kedelapanbelas, sebagai variabel tergantung II.

4.4.2 Teknik pengukuran variabel

Untuk mendapatkan ukuran kadar yang tepat dari beberapa elektrolit dan bahan organik saliva yang berhubungan dengan pembentukan karang gigi, digunakan bermacam-macam alat ukur, sesuai dengan kemampuan alat ukur tersebut. Alat ukur tersebut adalah spektrofotometer merek Secomam 1000 untuk mengukur kadar amonia dan fosfat, teknik titrasi untuk mengukur bikarbonat, pH meter merek Orion untuk mengukur pH saliva, teknik *Atomic Absorption Spectrofotometry* (A.A.S.) untuk mengukur kadar Kalsium, teknik isolasi lipid dengan menggunakan dengan campuran kloroform dan methanol (1:1 v/v) untuk mengukur kadar lipid total, indeks kebersihan mulut OHI-S untuk mengukur tingkat kebersihan mulut dan *Marginal Line Calculus Index* untuk mengukur pembentukan karang gigi. Pengukuran kadar elektrolit dan bahan organik saliva tersebut di atas dilakukan dengan teknik seperti di bawah ini :

4.4.2.1 Teknik pengukuran kadar amonia saliva istirahat

Amonia diukur dengan metoda spektrofotometer dari 5,5' metil endophenol.

Pereaksi yang tersedia dari E Merck Darmstadt adalah :

- a. $\text{NH}_4 - 1\text{B}$ adalah senyawa *alkali tartrate*,
- b. $\text{NH}_4 - 2\text{B}$ adalah senyawa *sodium hypochorite*,
- c. $\text{NH}_4 - 3\text{B}$ adalah senyawa *sodium nitropruside*.

Teknik pengukuran :

1. Pembuatan larutan persediaan 1000 ppm.
 - a. Ditimbang 0,0297 gram amonium klorida ($\text{NH}_4 \text{Cl}$).
 - b. Amonium klorida dilarutkan dengan aqua demineralisasi sampai batas garis labu ukur 1000 ml.
 - c. Dikocok sampai homogen dan didapatkan larutan persediaan 1000 ppm.
2. Pembuatan larutan kerja 100 ppm.
 - a. Dari larutan persediaan 1000 ppm Dipipet 5 ml Larutan tersebut
 - b. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 50 ml, diencerkan dengan aqua demineralisasi hingga batas garis labu ukur.
 - c. Dikocok sampai homogen dan didapatkan larutan kerja 100 ppm.
3. Pembuatan larutan standar.

Larutan standar dibuat dari larutan kerja 100 ppm. Untuk pembuatan larutan standar 0,5 ppm; 1 ppm; 2 ppm, dan 3 ppm, dipipet berturut-turut 0,05 ml; 0,1 ml; 0,2 ml dan 0,3 ml larutan kerja 100 ppm. Kemudian diencerkan dengan aqua demineralisasi di dalam labu ukur masing-masing 10 ml.
4. Perlakuan sampel saliva istirahat.
 - a. Saliva istirahat diukur volumenya dan kemudian diukur pH-nya.
 - b. Saliva istirahat diencerkan dengan aqua demineralisasi menjadi 100 ml di dalam

labu ukur 100 ml.

- c. Labu ukur yang berisi sampel tersebut disimpan dalam lemari pendingin pada temperatur 4° C.
5. Cara pengukuran kadar amonia saliva istirahat
- a. Larutan blangko, larutan standar dan larutan sampel, masing-masing dipipet 5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
 - b. Ke dalam tabung reaksi tersebut ditambahkan masing-masing NH₄ – 1B sebanyak 0,6 ml dengan *syringe*.
 - c. Dikocok perlahan-lahan sampai homogen.
 - d. Kemudian ditambahkan lagi NH₄ – 2B sebanyak 1 sendok yang telah tersedia dalam paket, dicampur perlahan-lahan sehingga homogen.
 - e. Selanjutnya ditetesi NH₄ – 3B sebanyak 4 tetes. Dicampur perlahan-lahan sampai homogen. Selanjutnya larutan dibiarkan selama 5 menit.
 - f. Dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang 690 nm. Kadar amonium terukur setara dengan kadar amonia saliva.

4.4.2.2 Teknik pengukuran kadar fosfat saliva istirahat

Fosfat diukur dengan metode spektrofotometer dari kompleks warna kuning-oranye dari fosfomolybdenum vanadat.

1. Pembuatan larutan fosfat persediaan.

Ditimbang 219,5 mg. [KH₂PO₄] anhidrous dan diencerkan dengan aqua demineralisasi di dalam labu ukur 1000 ml sampai batas garis.

Catatan : 100 ml larutan = 50 µg. fosfat

2. Pembuatan larutan fosfat standar.

- a. Diambil 10 ml larutan fosfat persediaan dan diencerkan dengan aqua demineralisasi di dalam labu ukur 100 ml sampai batas garis. Catatan : 100 ml larutan = 0,5 μ g. fosfat
 - b. Diambil 0,1 ml larutan hasil pengenceran tersebut dan diencerkan menjadi 10 ml larutan ini adalah larutan standar fosfat 0,005 ppm. Kemudian diambil 0,2 ml dan diencerkan menjadi 10 ml untuk membuat larutan standar fosfat 0,01 ppm. Selanjutnya diambil 0,4 ml; 0,6ml; 0,8 ml dan 1,0 ml dan diencerkan sampai menjadi 10 ml untuk membuat larutan standar fosfat 0,02 ppm; 0,03 ppm; 0,04 ppm dan 0,05 ppm.
3. Perlakuan sampel saliva istirahat.
 - a. Saliva istirahat diukur volumenya dan kemudian diukur pH-nya.
 - b. Saliva istirahat diencerkan dengan aqua demineralisasi menjadi 100 ml di dalam labu ukur 100 ml
 - c. Labu ukur yang berisi sampel tersebut disimpan dalam lemari pendingin pada temperatur 4° C.
 4. Cara pengukuran kadar fosfat saliva istirahat.
 - a. Berturut-turut larutan blangko, larutan standar dan larutan cuplikan yang telah diencerkan masing-masing dipipet 5 ml dan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi.
 - b. Masing-masing tabung reaksi tersebut ditambahkan fosfomolybdenum vanadat sebanyak 1,2 ml dengan syringe. Terjadi perubahan warna kuning-oranye.
 - c. Dilakukan pengukuran dengan alat spektrofotometer UV-Visible dengan panjang gelombang 400 nm.

4.4.2.3 Teknik pengukuran kadar bikarbonat saliva istirahat

Pengukuran bikarbonat dilakukan dengan metoda titrasi balik yaitu gas CO_2 yang dihasilkan dilarutkan ke dalam $[\text{Ba}(\text{OH})_2]$ berlebihan atau disebut juga air barit berlebihan. Kelebihan air barit dititrasi kembali dengan indikator metil oranye.

- a. Disiapkan satu set peralatan destilasi dengan pendingin Liebig.
- b. Larutan sampel saliva istirahat yang telah diencerkan dipipet 10 ml dan dimasukkan ke dalam labu alas bulat.
- c. Pada bagian penampung destilat diberikan 20 ml $[\text{Ba}(\text{OH})_2]$ 0,05 M.
- d. Labu alas bulat yang berisi sampel dipanaskan, maka semua gas CO_2 dari sampel akan bergerak masuk ke larutan $[\text{Ba}(\text{OH})_2]$. Terjadi reaksi.
- e. Kelebihan $[\text{Ba}(\text{OH})_2]$ dititrasi kembali dengan larutan HCl 0,5 M menggunakan indikator metil oranye
- f. Titrasi dihentikan jika warna larutan menjadi oranye.

4.4.2.4 Teknik pengukuran lipid total saliva istirahat

- a. Sampel saliva istirahat sebesar 10 ml diekstrak dengan campuran kloroform dan metanol = 1 : 1 (v/v) sejumlah 10 ml dan dikocok dalam corong pisah
- b. Bagian bawah yang merupakan campuran kloroform : metanol tersebut dipipet dan dimasukkan ke dalam wadah.
- c. Perlakuan (a) dan (b) dikerjakan sebanyak 3 kali. Semua bagian campuran kloroform dan metanol dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam wadah.
- d. Semua pelarut yang ada diuapkan dengan mengalir gas N_2 .
- e. Wadah dengan lipid totalnya ditimbang.
- f. Didapatkan berat lipid total.

4.4.2.5 Teknik pengukuran pH saliva istirahat

Elektroda alat ukur tersebut sebelumnya dikalibrasi dengan pH 4, kemudian pH 7, setelah tepat, maka alat tersebut telah siap untuk mengukur pH saliva istirahat. Segera setelah saliva dikeluarkan dari mulut, saliva diukur volumenya dengan tabung reaksi berskala (ml) kemudian setelah dicatat, diukur dengan alat ukur pH yaitu pH meter merek Orion. Elektroda dari pH meter tersebut dicelupkan ke dalam saliva di tabung reaksi, setelah pH terukur alat tersebut akan berbunyi, maka didapatkan pH saliva istirahat.

4.4.2.6 Teknik pengukuran kadar kalsium saliva istirahat

1. Tahap persiapan

- a. Buat larutan lantanum klorida dengan cara tempatkan 58,7 g. lantanum oksida dalam labu bulat 1000 ml, basahi sedikit dengan aqua demineralisasi. Tambahkan 250 ml [HCl] pekat perlahan-lahan sampai semua bahan terlarut. Encerkan larutan sampai 1 liter dengan aqua demineralisasi dan [HCl] Normal sehingga menjadi larutan lantanun klorida 5%.
- b. Buat larutan lantanum untuk kerja (0,1 % w/v), dengan cara mengencerkan larutan lantanum klorida 10 ml sampai 500 ml dengan aqua demineralisasi
- c. Buat larutan lantanum untuk kerja (0,5% w/v), dengan cara mengencerkan 50 ml larutan stok lantanun sampai 500ml dengan aqua demineralisasi.
- d. Buat larutan standar kalsium (25 mgrek/l), dengan cara melarutkan 124,9 mg. pereaksi CaCO_3 dalam 3 ml 1 Normal [HCl], encerkan sampai 100 ml dengan aqua demineralisasi.
- e. Buat standar Kalsium untuk kerja (5 mgrek/l dan 7,5 mgrek/l), dengan cara

memindahkan 20 ml dan 30 ml persediaan standar kalsium dalam labu bulat 100 ml kemudian encerkan sampai 100 ml dengan aqua demineralisasi

2. Tahap pengukuran.

- a. Encerkan 0,1 ml saliva sampai 5 ml dengan 0,1 ml larutan lantanum kerja.
- b. Ulangi langkah pertama dengan 5 mgrek / l dan 7,5 mgrek / l standar kalsium untuk kerja.
- c. Tuangkan 30 ml dan 0,1% lantanum kerja ke dalam labu 50 ml untuk dijadikan blanko.
- d. Dilakukan pengukuran dengan AAS.

4.4.2.7 Teknik pengukuran indeks kebersihan mulut *Simplified Oral Hygiene Index (OHI-S)*

Simplified Oral Hygiene Index (OHI-S) atau indeks kebersihan mulut yang dikembangkan oleh Green & Vermillion pada tahun 1961 ini merupakan indeks yang paling praktis untuk digunakan di lapangan maupun di klinik, oleh karena pada penggunaannya tidak memerlukan peralatan khusus selain *dental explorer* (sonde).

Keuntungan lain OHI-S adalah dapat mengukur kebersihan mulut dan sekaligus dapat mengukur keberadaan karang gigi di dalam rongga mulut, oleh karena OHI-S adalah gabungan dari *Simplified Debris Index (DI-S)* atau indeks yang mencatat keberadaan plak gigi, sisa makanan yang menutupi permukaan gigi dan *Simplified Calculus Index (CI-S)* atau indeks yang mencatat keberadaan karang gigi yang menutupi permukaan gigi.

4.4.2.7.1 *Simplified Debris Index (DI-S)*

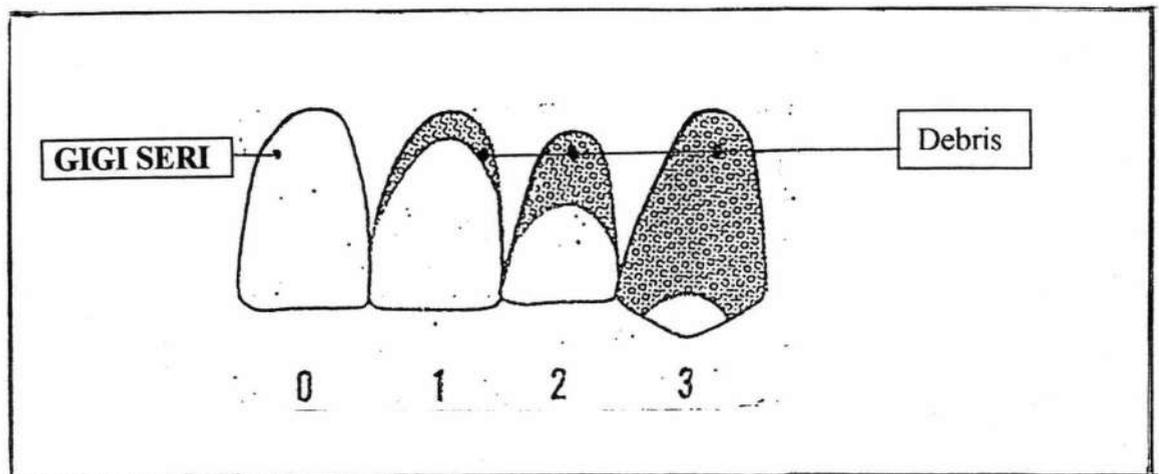
Nilai atau skor DI-S perorangan didapat dari penjumlahan skor *debris* setiap permukaan gigi dibagi dengan jumlah gigi yang diperiksa. Cara pengukurannya adalah dengan meletakkan sonde pada tepi gingiva sebelah distal gigi yang diukur, kemudian menggeser sonde ke arah tepi gingiva sebelah mesial. Apabila terdapat kotoran yang menempel pada permukaan gigi maka kotoran tersebut akan menempel pada permukaan sonde. Pengamatan ini hanya dilakukan dengan mata telanjang. Sedangkan kriteria untuk menentukan skor *debris* adalah sebagai berikut :

Skor 0 – Tidak terdapat debris

Skor 1 – *Debris* menutupi kurang dari 1/3 permukaan gigi atau terdapat *stain* (bercak kecoklatan) tanpa memperhatikan luasnya

Skor 2 – *Debris* menutupi lebih dari 1/3 permukaan akan tetapi tidak melebihi 2/3 permukaan gigi

Skor 3 – *Debris* menutupi lebih dari 2/3 permukaan gigi.



Gambar 4.1 Kriteria pemberian skor DI-S sebagai komponen dari OHI-S
Sumber : Carranza, 1994

4.4.2.7.2 *Simplified Calculus Index (CI-S)*

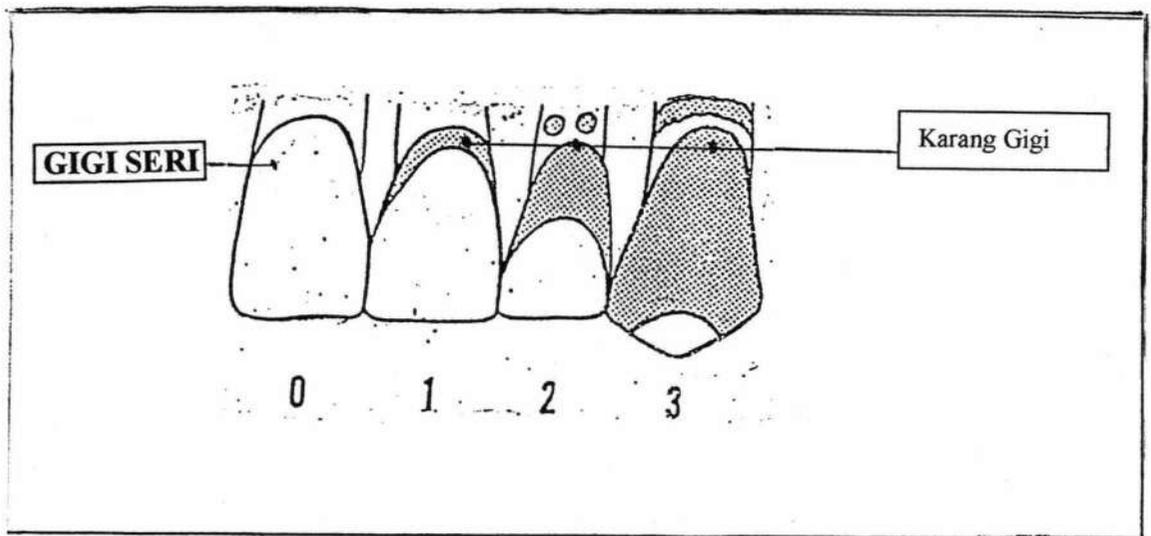
Pengukuran indeks karang gigi atau CI-S dilakukan dengan cara yang sama dengan pengukuran indeks *debris*. Sedangkan kriteria pemberian nilai atau skor karang gigi adalah sebagai berikut :

Skor 0 – Tidak didapatkan karang gigi

Skor 1 – Karang gigi di dapatkan di atas gusi dan menutupi kurang dari 1/3 permukaan gigi

Skor 2 – Karang gigi di atas gusi menutupi lebih dari 1/3 permukaan gigi tetapi tidak melebihi 2/3 permukaan gigi atau terdapat bercak karang gigi di bawah gusi, mengelilingi leher gigi

Skor 3 – Karang gigi di atas gusi menutupi lebih dari 2/3 permukaan gigi atau terdapat gelang tebal karang gigi di bawah gusi mengelilingi leher gigi.



Gambar 4.2 Kriteria pemberian skor CI-S sebagai komponen dari OHI-S
Sumber : Carranza, 1994

4.4.2.8 Teknik pengukuran indeks karang gigi *Marginal Line Calculus Index* (MLCI)

Marginal Line Calculus Index merupakan indeks yang dapat mengukur pembentukan karang gigi supragingiva dengan sangat teliti. Karang gigi supragingiva yang diukur adalah karang gigi supragingiva di sekitar permukaan leher gigi seri rahang bawah sebelah *lingual*. Permukaan gigi seri yang diukur adalah permukaan gigi seri pertama bawah kiri dan kanan serta permukaan gigi seri kedua bawah kiri dan kanan, sehingga keseluruhan jumlah gigi yang diukur adalah 4 buah.

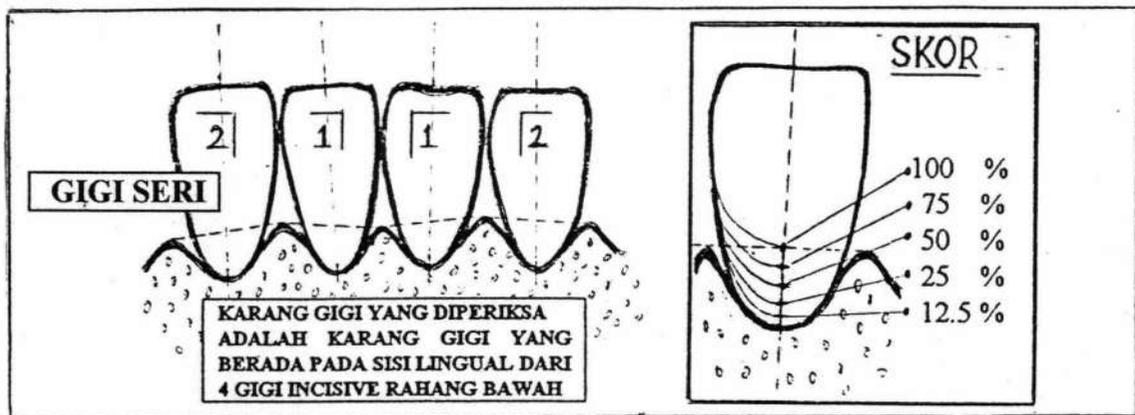
Dengan menggunakan indeks MLCI, pembentukan karang gigi dapat terlihat jelas setelah dua minggu pemeriksaan, sedangkan penghambatan pembentukan karang gigi juga dapat terlihat setelah 2 minggu pemeriksaan. Kepekaan indeks MLCI ini memenuhi syarat untuk digunakan pada penelitian ini, sebab penelitian ini akan mengikuti perkembangan pembentukan karang gigi pada minggu ke 4, 8 dan 18.

Permukaan gigi seri sebelah *lingual* dibagi menjadi 2 bagian secara vertikal, garis khayal ini akan memotong garis yang dibuat melalui dua buah ujung *free gingiva* di sebelah mesial dan distal gigi yang diukur. Dua buah garis khayal ini akan membagi gigi seri menjadi 4 bagian. Pengukuran MLCI didasarkan atas keberadaan karang gigi supragingiva yang berada di 2 bagian sebelah bawah (bagian leher gigi), nilai atau skor keberadaan karang gigi diukur dengan satuan persen atau per seratus.

Untuk memudahkan tata laksana penilaian, skor terkecil adalah 0%, berikutnya adalah 12,5%, 25%, 50%, 75% dan terbesar adalah 100%. Biasanya karang gigi yang sedikit tidak tampak pada kondisi basah, oleh karena itu sebelum pengukuran seluruh permukaan gigi yang akan diukur harus dikeringkan. Untuk mendapatkan rerata skor

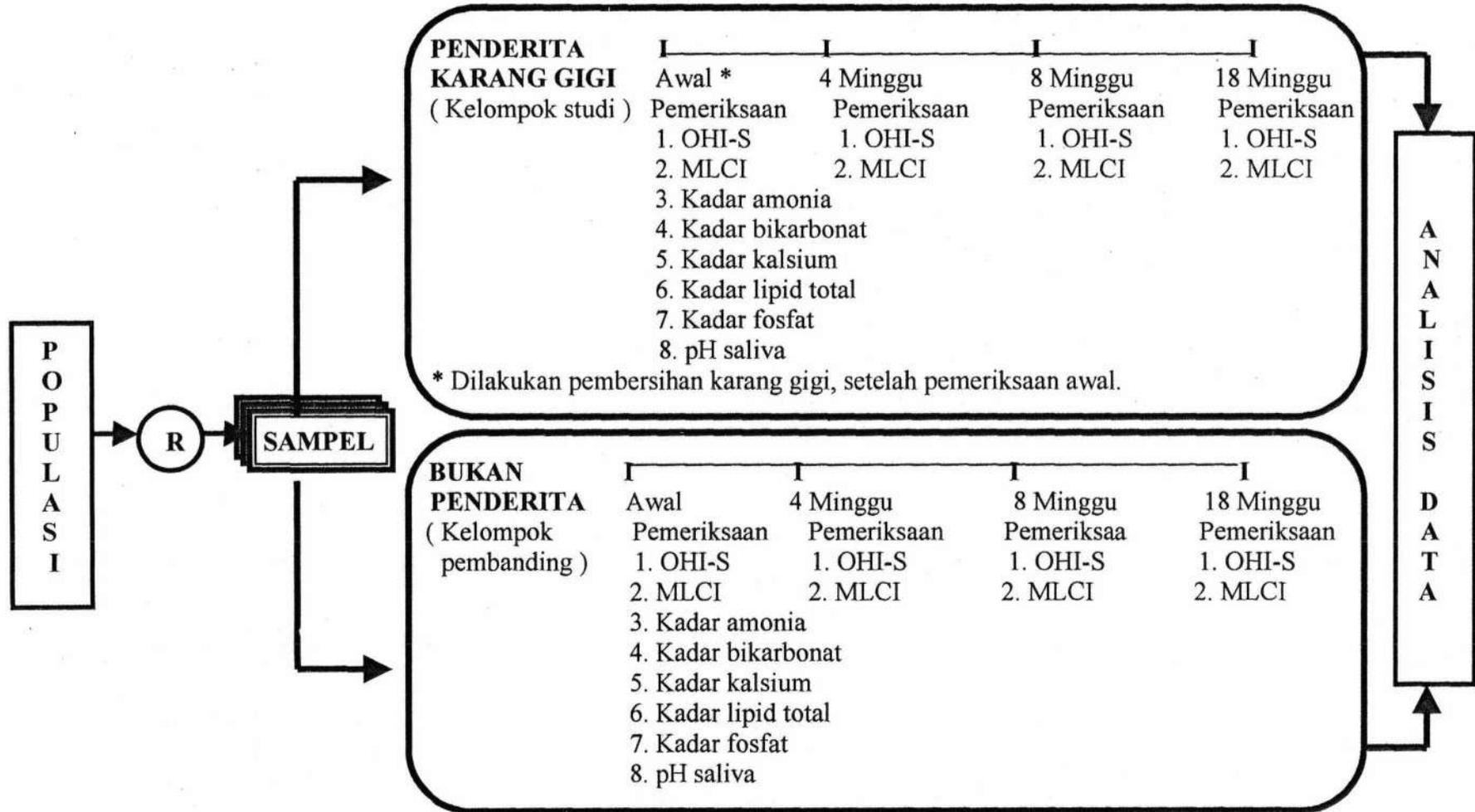
MLCI perorangan, hasil seluruh pengukuran keempat permukaan gigi seri tersebut dijumlah dan kemudian di bagi empat (Muhlemman & Villa, 1967).

Marginal Line Calculus Index (MLCI) merupakan indeks yang jarang digunakan pada klinik periodonsia FKG Unair, untuk itu sebelum diterapkannya MLCI untuk penelitian ini, dilakukan uji reliabilitas antar pengamat (*Cronbach Alpha*). Hasil dari uji reliabilitas antar pengamat ini amat baik ($r = 0,8243$, $p = 0,001$), sehingga MLCI layak untuk digunakan.



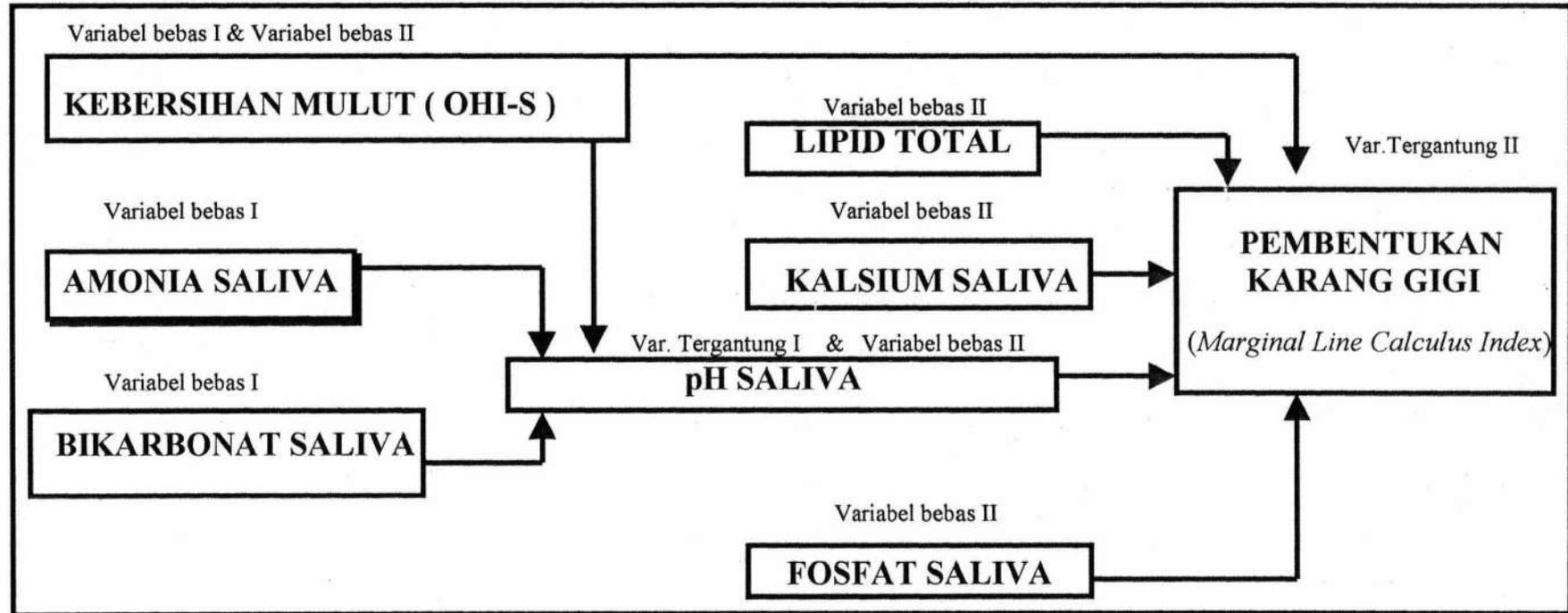
Gambar 4.3 Teknik pengukuran *Marginal Line Calculus Index*
Sumber : Muhlemman & Villa (1967).

4.5 Skema alur penelitian



Gambar 4.4. Skema alur penelitian

4.6 Kerangka Analisis



Gambar 4.5 Kerangka analisis pembentukan karang gigi supragingiva

Untuk membuktikan bahwa amonia saliva merupakan penyebab pembentukan karang gigi dilakukan tiga tahapan analisis seperti di bawah ini :

- Analisis regresi ganda untuk membuktikan pengaruh amonia, bikarbonat dan OHI-S terhadap pH saliva istirahat
- Analisis regresi ganda untuk membuktikan pengaruh pH, kalsium, fosfat, lipid total dan OHI-S saliva terhadap pembentukan karang gigi supragingiva
- Analisis jalur untuk membuktikan amonia sebagai pemicu pembentukan karang gigi supragingiva.