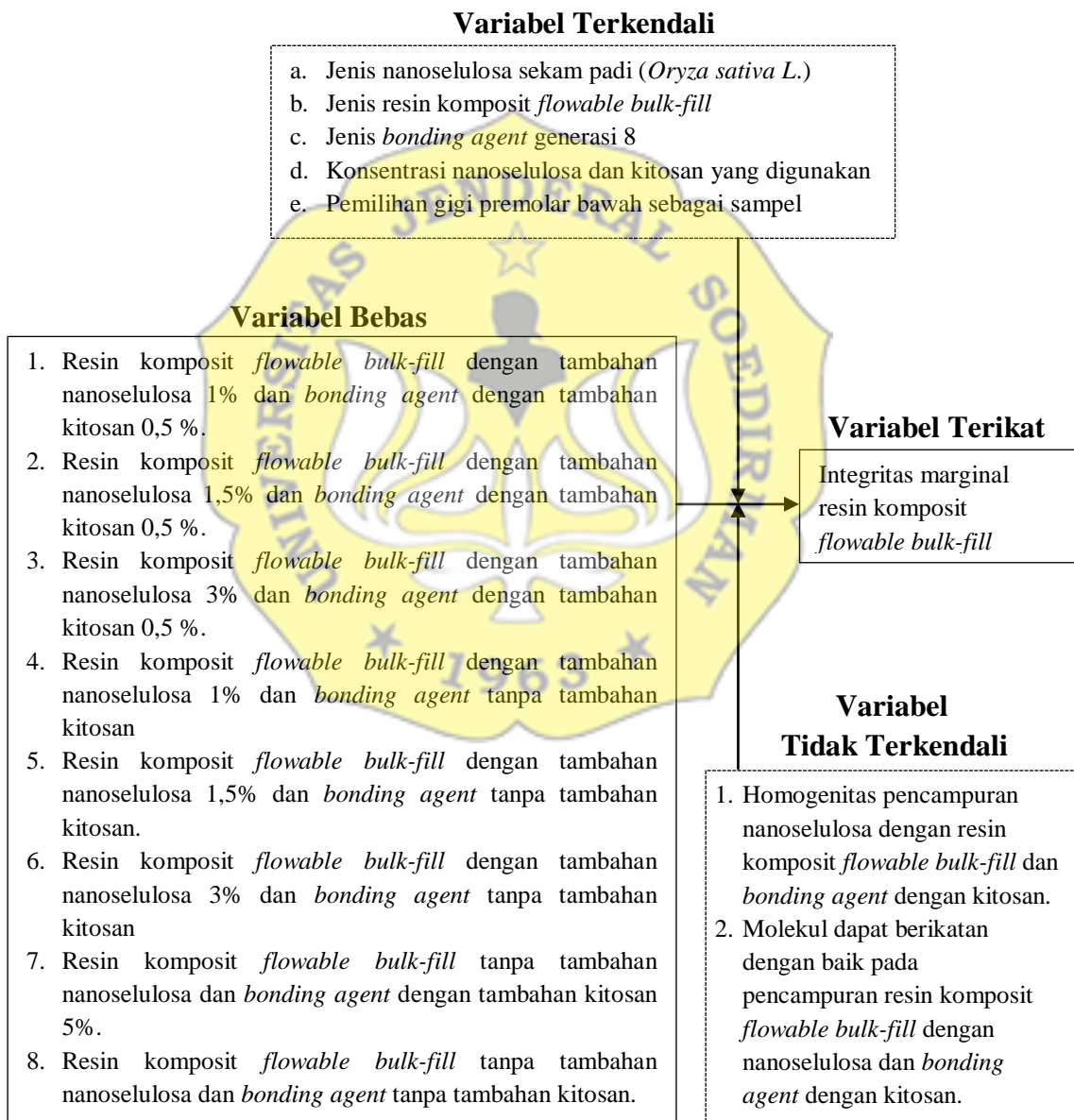


BAB III
METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep

Kerangka konsep pada penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true eksperimental*.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *post test only control group design* yang dikaji secara *in vitro*.

3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada lokasi, yaitu sebagai berikut:

1. Laboratorium Kedokteran Gigi Dasar, Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman untuk preparasi gigi dan penumpatan.
2. Laboratorium *Advanced Material Processing*, Program Studi Teknik Fisika, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung untuk sintesis nanoselulosa dan manipulasi *filler* resin komposit *flowable bulk-fill*.
3. Pusat Penelitian Nanosains dan Nanoteknologi (PPNN) Institut Teknologi Bandung untuk uji karakterisasi nanoselulosa dan uji sampel.

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan November sampai Desember 2019.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

1. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 1% dan *bonding agent* dengan tambahan kitosan 0,5 %.

2. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 1,5% dan *bonding agent* dengan tambahan kitosan 0,5 %.
3. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 3% dan *bonding agent* dengan tambahan kitosan 0,5 %.
4. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 1% dan *bonding agent* tanpa tambahan kitosan
5. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 1,5% dan *bonding agent* tanpa tambahan kitosan.
6. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 3% dan *bonding agent* tanpa tambahan kitosan
7. Resin komposit *flowable bulk-fill* tanpa tambahan nanoselulosa dan *bonding agent* dengan tambahan kitosan 5%.
8. Resin komposit *flowable bulk-fill* tanpa tambahan nanoselulosa dan *bonding agent* tanpa tambahan kitosan.

3.5.2 Variable Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah integritas marginal resin komposit *flowable bulk-fill*.

3.5.3 Variabel Terkendali

- a. Jenis resin komposit yaitu resin komposit *flowable bulk-fill*
- b. Nanoselulosa yang diperoleh dari sekam padi (*Oryza sativa L.*).
- c. Jenis *bonding agent* yaitu *bonding agent* generasi 8.
- d. Konsentrasi nanoselulosa dan kitosan yang digunakan
- e. Pemilihan gigi premolar bawah sebagai sampel penelitian

3.5.4 Variabel Tak Terkendali

- a. Homogenitas pencampuran nanoselulosa pada resin komposit *flowable bulk-fill* dengan nanoselulosa dan pencampuran kitosan pada *bonding agent*.
- b. Molekul dapat berikatan dengan baik pada pencampuran resin komposit *flowable bulk-fill* dengan nanoselulosa dan pencampuran kitosan pada *bonding agent*.

3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Satuan	Skala
1.	Resin komposit <i>flowable bulk-fill</i>	Merupakan jenis bahan tumpatan komposit <i>flowable</i> yang telah dikembangkan sehingga dapat dilakukan teknik <i>bulk</i> dengan pengaplikasian sedalam 4 mm.	-	-	Nominal
2.	Nanoselulosa sekam padi	Merupakan biopolimer yang berasal dari sekam padi berupa selulosa berukuran nano yang dapat dimanfaatkan sebagai <i>filler</i> komposit.	-	-	Nominal
3.	Kitosan	Kitosan merupakan biopolimer yang dapat diaplikasikan sebagai polimer bioadhesif. Beberapa penelitian telah menambahkan kitosan pada <i>bonding agent</i>	-	-	Nominal
4.	<i>Bonding agent</i>	<i>Bonding agent</i> merupakan suatu bahan yang digunakan untuk proses pembentukan <i>adhesive joint</i> yang akan membentuk <i>mechanical interlocking</i> antara bahan tumpatan dengan kavitas	-	-	Nominal
5.	Integritas marginal	Garis transisi antara restorasi dengan garis marginal gigi yang berdekatan dengan jaringan lunak gingiva disebut dengan garis marginal pada sebuah restorasi. Integritas marginal diamati dengan SEM pada penelitian ini.	-	1. Tidak terdapat celah 2. Terdapat celah	Nominal

6.	Konsentrasi nanoselulosa dan kitosan yang digunakan	Konsentrasi adalah ukuran yang menggambarkan banyaknya zat di dalam suatu campuran dibagi dengan volume total campuran tersebut. Konsentrasi nanoselulosa dan kitosan menggambarkan jumlah nanoselulosa dan kitosan yang terlarut dalam resin komposit <i>flowable bulk-fill</i> dan <i>bonding agent</i> .	-	-	Nominal
7.	Homogenitas pencampuran nanoselulosa pada resin komposit <i>flowable bulk-fill</i> dan kitosan pada <i>bonding agent</i> .	Campuran homogen merupakan campuran dua senyawa atau lebih yang membentuk suatu fasa (satu wujud). Homogenitas pencampuran nanoselulosa pada resin komposit <i>flowable bulk-fill</i> dan kitosan pada <i>bonding agent</i> yaitu nanoselulosa dan kitosan dapat terlarut sempurna pada resin komposit <i>flowable bulk-fill bonding agent</i> .	-	-	Nominal
8.	Resin komposit <i>flowable bulk-fill</i> dengan penambahan nanoselulosa sekam padi 1%	Resin komposit <i>flowable bulk-fill</i> yang telah dimodifikasi dengan penambahan nanoselulosa sekam padi (<i>Oryza sativa L.</i>) 1%, Pencampuran dilakukan dengan perbandingan 0,1 mg nanoselulosa dan 10 ml resin komposit <i>flowable bulk-fill</i>	-	-	Nominal
9.	Resin komposit <i>flowable bulk-fill</i> dengan penambahan nanoselulosa sekam padi 1,5%	Resin komposit <i>flowable bulk-fill</i> yang telah dimodifikasi dengan penambahan nanoselulosa sekam padi 1,5%, Pencampuran dilakukan dengan perbandingan 0,15 mg nanoselulosa dan 10 ml resin komposit <i>flowable bulk-fill</i>	-	-	Nominal
10.	Resin komposit <i>flowable bulk-fill</i> dengan penambahan nanoselulosa sekam padi 3%	Resin komposit <i>flowable bulk-fill</i> yang telah dimodifikasi dengan penambahan nanoselulosa sekam padi 3%, Pencampuran dilakukan dengan perbandingan 0,3 mg nanoselulosa dan 10 ml resin komposit <i>flowable bulk-fill</i>	-	-	Nominal
9.	<i>Bonding agent</i> dengan penambahan kitosan 0,5%	<i>Bonding agent</i> yang telah dimodifikasi dengan penambahan kitosan 0,5%. Pencampuran dilakukan dengan perbandingan 0,5 ml kitosan dan 1 ml <i>bonding agent</i>	-	-	Nominal

3.7 Sampel Penelitian

3.7.1 Perhitungan Sampel

Penentuan sampel pada penelitian ini menggunakan perhitungan jumlah sampel minimal rumus Steel and Torrie (1997: 145), sebagai berikut:

$$n = \frac{(z\alpha + z\beta)^2 \times Qd^2}{d^2}$$

$$n = (1,96 + 0,84)^2$$

$$n = 7,84$$

$$n \approx 8$$

Keterangan:

- n : Jumlah sampel tiap kelompok
 $Z\alpha$: 1,96 (dengan derajat kepercayaan 0,05)
 $Z\beta$: 0,84 (level of power 80%)
 Qd : Standar deviasi sampel
d : Kesalahan yang dapat ditoleransi

Standar deviasi sampel (Qd) diasumsikan sama dengan kesalahan yang dapat ditoleransi (d), maka $Qd^2 = d^2$ sehingga $\frac{Qd^2}{d^2} = 1$.

Berdasarkan perhitungan penelitian ini menggunakan 8 sampel pada tiap kelompok. Sampel penelitian terdiri dari 8 kelompok sehingga total sampel yang digunakan adalah 64 sampel. Kelompok yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 1% dan *bonding agent* dengan tambahan kitosan 0,5 %.
2. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 1,5% dan *bonding agent* dengan tambahan kitosan 0,5 %.

3. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 3% dan *bonding agent* dengan tambahan kitosan 0,5 %.
4. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 1% dan *bonding agent* tanpa tambahan kitosan
5. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 1,5% dan *bonding agent* tanpa tambahan kitosan.
6. Resin komposit *flowable bulk-fill* dengan tambahan nanoselulosa 3% dan *bonding agent* tanpa tambahan kitosan
7. Resin komposit *flowable bulk-fill* tanpa tambahan nanoselulosa dan *bonding agent* dengan tambahan kitosan 5%.
8. Resin komposit *flowable bulk-fill* tanpa tambahan nanoselulosa dan *bonding agent* tanpa tambahan kitosan.

3.7.2 Kriteria Sampel

a. Kriteria Inklusi

1. Gigi premolar satu rahang bawah dengan mahkota dan akar utuh.
2. Tidak terdapat anomali dan karies pada gigi premolar satu rahang bawah.

b. Kriteria Eksklusi

Gigi yang sudah pernah ditumpat.

3.8 Jenis dan Sumber Data

Sumber data yang digunakan adalah data primer. Data primer merupakan materi atau kumpulan fakta yang dikumpulkan sendiri oleh peneliti pada saat penelitian berlangsung (Sugiyono, 2012).

3.9 Instrumen Penelitian

3.9.1 Alat penelitian

- a. Alat yang digunakan untuk sintesis nanoselulosa dengan metode hidrolisis asam yaitu: Timbangan digital, *beaker Glass*, gelas ukur, *magnetic mixer (stirrer + heater)*, *magnetic bar*, *falcon tube*, alat sentrifugasi, cawan petri, Termometer 150°C, *ultrasonic homogenizer*, mortar dan alu, tungku besar, tungku kecil, pH meter, dan kertas saring, kertas timbang, *plastic wrap*, *aluminium foil*, spatula, pipet tetes, batang pengaduk, *handscoen*, masker.
- b. Alat yang digunakan untuk manipulasi filler resin komposit *flowable bulk-fill* yaitu timbangan digital, *mixing jar*, dan spatula semen.
- c. Alat yang digunakan untuk preparasi dan penempatan gigi yaitu: mikromotor, *handpiece contra angle*, *diamond bur (round bur)*, *micro brush* untuk pengaplikasian etsa, dan *light cure* untuk proses polimerisasi.
- d. Alat yang digunakan untuk uji karakterisasi nanoselulosa dan melihat gambaran integritas marginal dari sampel yaitu SEM Hitachi SU3500.

3.9.2 Bahan Penelitian

- a. Bahan-bahan yang digunakan untuk sintesis nanoselulosa dari sekam padi (*Oryza sativa L.*) dengan metode hidrolisis asam yaitu:

sekam padi (*Oryza sativa L.*), akuades, natrium hidroksida (NaOH), asam sulfat 45% (H₂SO₄), natrium hipoklorit (NaOCL).

- b. Bahan-bahan yang digunakan untuk manipulasi *filler* resin komposit *flowable bulk-fill* yaitu: resin komposit *flowable bulk-fill* dan nanoselulosa sekam padi (*Oryza sativa L.*).
- c. Bahan-bahan yang digunakan untuk penggunaan kitosan sebagai *bonding agent* yaitu: etsa, *bonding agent* generasi 8, kitosan, dan pelarut.

3.10 Jalannya Penelitian

3.10.1 Pembuatan sampel

1. Sintesis nanoselulosa dengan metode hidrolisis asam
 - a. Sekam padi dicuci dengan akuades lalu dikeringkan di dalam oven pada suhu 110°C selama 24 jam. Sekam padi yang telah kering dihaluskan.
 - b. Isolasi selulosa dimulai dengan hidrolisis basa, yakni merebus 30 gram serbuk sekam padi dalam 500 ml natrium hidroksida (NaOH) 4 M. Tahap hidrolisis basa ini dilakukan di atas *magnetic mixer* pada temperatur 80°C selama 4 jam.
 - c. Produk hidrolisis basa berupa suspensi sehingga perlu dilakukan filtrasi menggunakan saringan. Filtrat hidrolisis basa dibilas hingga pHnya mencapai 7 dengan akuades di atas *magnetic mixer*. Setelah filtrat hidrolisis basa memiliki

pH 7, filtrat dikeringkan dengan *oven* selama 24 jam pada temperatur 60°C.

- d. Setelah dikeringkan, filtrat hidrolisis basa ditimbang dengan menggunakan timbangan digital dan dicatat massanya. Proses *bleaching* dilakukan terhadap filtrat hidrolisis basa dengan natrium hipoklorit (NaOCl) 5% (v/v) di atas *magnetic mixer* pada temperatur 80°C selama 4 jam. Perbandingan antara massa filtrat hidrolisis basa terhadap NaOCl 5% adalah 1 : 50 (w/v).
- e. Setelah dipanaskan selama 4 jam, filtrat *bleaching* dibilas dengan menggunakan akuades hingga pH mencapai 7. Produk *bleaching* berupa suspensi yang lebih halus sehingga perlu dipisahkan dengan menggunakan mesin sentrifugasi. Filtrat yang dihasilkan dari *bleaching* dikeringkan dengan oven selama 3-4 jam pada temperatur 60°C.
- f. Hidrolisis Selulosa dimulai dengan mencampurkan selulosa kering 5 gram ke dalam 25 ml larutan H₂SO₄ 45% (w/v) pada temperatur 45°C di atas *magnetic mixer* selama 1,5 jam.
- g. Setelah pencampuran selama 1,5 jam, ditambahkan akuades ke dalam koloid tersebut hingga volume total mencapai 400

ml, yang kemudian koloid tersebut didiamkan selama 24 jam.

h. Setelah mengendap, akan terbentuk dua lapisan terpisah, antara koloid selulosa dan akuades hasil penetralan. Selanjutnya, koloid dinetralkan dengan larutan NaOH 0,5 M 28 ml kemudian koloid dan filtrat dipisahkan menggunakan mesin sentrifugasi ($w = 8000 \text{ rpm}$; $t = 10 \text{ menit}$).

i. Endapan sudah terpisah disonikasi menggunakan *ultrasonic homogenizer* dengan jeda waktu 0,5 detik dan daya luaran 60% dilakukan untuk setiap 100 ml koloid selulosa selama 20 menit. Hasil yang diperoleh berupa nanoselulosa yang dikarakterisasi menggunakan SEM.

2. Uji karakterisasi nanoselulosa dengan TEM

a. Persiapan sampel

- 1) Sampel ditempatkan di atas rintisan sampel.
- 2) Sampel ditempatkan ke dalam sistem sputtering emas. Menggunakan mini-gold sputter, sputter gold selama 30 detik pada tekanan $\sim 70 \text{ mTorr}$.

b. Penyisipan sampel dan *Startup* TEM

- 1) Sampel dimasukkan ke dalam ruang sampel. Tutup kompartemen sampel.
- 2) Pompa dinyalakan dan ditunggu hingga sistem mencapai vakum.

c. Mengambil gambar TEM

1) Tingkat perbesaran ditingkatkan sampai fitur yang diinginkan diamati yaitu perbesaran 2000 kali dan 6000 kali. Kenop pemfokusan kasar disesuaikan untuk memfokuskan gambar secara kasar pada perbesaran ini. Kemudian, tingkatkan fokus menggunakan kenop fokus halus untuk mendapatkan gambar fokus pada tingkat pembesaran yang diinginkan. Langkah ini akan diulang setiap kali tingkat pembesaran ditingkatkan.

2) Setelah pembesaran yang diinginkan tercapai, kenop fokus disesuaikan halus untuk meningkatkan kejernihan.

3) Setelah mencapai gambar berkualitas, gambar dapat diambil dengan menekan tombol foto dalam mode 'foto lambat' atau 'foto cepat'. Mode 'foto lambat' memberikan kualitas gambar yang lebih baik dan resolusi tinggi.

d. Melakukan pengukuran menggunakan perangkat lunak TEM

1) Pada daftar 'Panel' dipilih 'M. Alat '.

2) Berbagai pengukuran seperti panjang, luas, dan sudut dapat diukur secara langsung dalam perangkat lunak

SEM. Untuk melakukan salah satu pengukuran ini, klik ikon yang diinginkan di jendela M. Tools.

- 3) Pengukuran dilakukan dengan mengklik gambar untuk membuat titik referensi yang akan dianalisis oleh perangkat lunak. Titik data yang diukur dapat dimasukkan langsung ke gambar. Gambar kemudian disimpan ke komputer.

3.10.2 Perlakuan sampel

1. Manipulasi *filler* resin komposit *flowable bulk-fill* dengan penambahan nanoselulosa sekam padi (*Oryza sativa L.*)
 - a. Resin komposit *flowable bulk-fill* dibagi menjadi 3 kelompok yang diletakan pada 3 *mixing jar*.
 - b. Nanoselulosa 1%, 1,5% dan 3% dicampurkan pada masing-masing *mixing jar* berisi resin komposit *flowable bulk-fill*.
 - c. Pencampuran dilakukan dengan perbandingan 0,1 mg nanoselulosa untuk 10 ml resin komposit *flowable bulk-fill* pada kelompok nanoselulosa 1%. Pada kelompok nanoselulosa 1,5% dilakukan pencampuran 0,15 mg nanoselulosa dengan 10 ml resin komposit *flowable bulk-fill*, dan pada kelompok nanoselulosa 3% dilakukan pencampuran 0,3 mg nanoselulosa dengan 10 ml resin komposit *flowable bulk-fill*.
 - d. Campuran resin komposit *flowable bulk-fill* dengan nanoselulosa diaduk menggunakan spatula semen.

2. Preparasi dan penumpatan gigi

- a. Enam puluh empat gigi premolar pertama bawah manusia utuh yang diekstraksi digunakan dalam penelitian ini. Setelah dibersihkan dengan scaler, akar dan cups gigi dipotong menggunakan *disc bur* untuk mendapatkan permukaan enamel gigi yang rata.
- b. Setiap gigi dipreparasi Kelas V klasifikasi G.V. Black dengan kedalaman 2 mm ($2 \times 2 \times 2$ mm) menggunakan *round diamond bur* lalu dinding kavitas diratakan menggunakan *flat-end tapered diamond bur*.
- c. Proses *bonding* dilakukan menggunakan *bonding agent* generasi 8 tanpa penambahan kitosan untuk kelompok kontrol dan menggunakan *bonding agent* dengan tambahan kitosan untuk kelompok perlakuan dengan sistem *total-etch*. Etsa diaplikasikan selama 20 detik, kemudian diirigasi dengan air, lalu dikeringkan dengan udara hingga *moist*. *Bonding* diaplikasikan pada permukaan kavitas dengan gosok selama 20 detik menggunakan *microbrush* dan dikeringkan selama 5 detik, kemudian dipolimerisasi menggunakan *light cure* selama 10 detik.
- d. Resin komposit *flowable bulk-fill* yang telah dimodifikasi dengan penambahan nanoselulosa sekam padi (*Oryza sativa L.*) diaplikasikan kedalam kavitas sesuai kelompok penelitian.

3. Perendaman gigi yang sudah ditumpat dengan resin komposit *flowable bulk-fill* yang telah dimodifikasi dengan penambahan nanoselulosa sekam padi (*Oryza sativa L.*) pada cairan saliva buatan selama 24 jam.

3.10.3 Pengujian sampel

1. Persiapan sampel untuk melihat gambaran integritas marginal
 - a. Gigi yang sudah direstorasi disimpan dalam saliva buatan selama 24 jam pada suhu kamar.
 - b. Setelah dikeluarkan dari penyimpanan saliva buatan, setiap gigi dipotong secara horizontal pada bagian gigi yang terdapat tumpatan menggunakan mesin pemotong *disc bur*.
 - c. Setelah sampel dipotong dan dikeringkan, kemudian sampel gigi tersebut diamati dan dievaluasi untuk dilihat gambaran integritas marginalnya dengan melihat besarnya celah pada tumpatan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*).
2. Pengambilan gambaran integritas marginal sampel dengan SEM
 - a. Persiapan Sampel
 - 1) Sampel ditempatkan di atas rintisan sampel.
 - 2) Sampel ditempatkan ke dalam sistem sputtering emas. Menggunakan mini-gold sputter, sputter gold selama 30 detik pada tekanan ~ 70 mTorr.

b. Penyisipan sampel dan *Startup* SEM

- 1) Sampel dimasukkan ke dalam ruang sampel. Tutup kompartemen sampel.
- 2) Pompa dinyalakan dan ditunggu hingga sistem mencapai vakum.

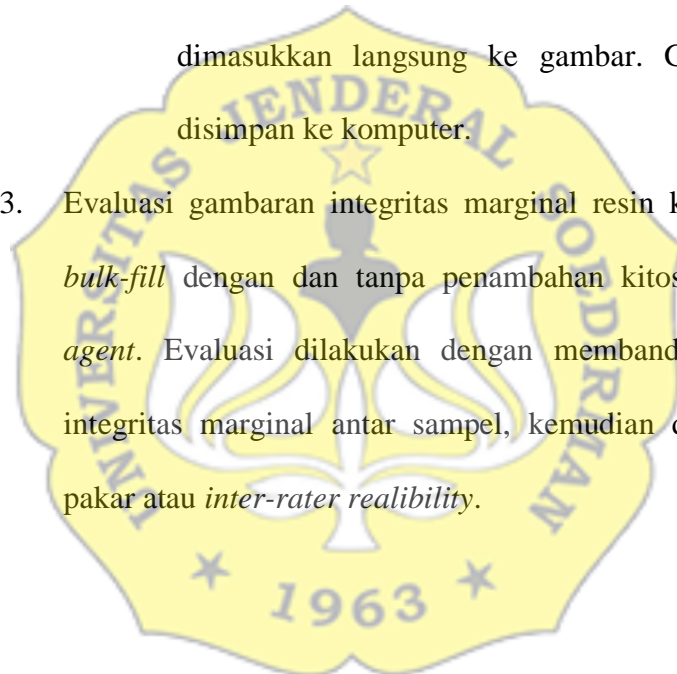
c. Mengambil gambar SEM

- 1) Tingkat perbesaran ditingkatkan sampai fitur yang diinginkan diamati yaitu perbesaran 75 kali dan 300 kali. Kenop pemfokusan kasar disesuaikan untuk memfokuskan gambar secara kasar pada perbesaran ini. Kemudian, tingkatkan fokus menggunakan kenop fokus halus untuk mendapatkan gambar fokus pada tingkat pembesaran yang diinginkan. Langkah ini akan diulang setiap kali tingkat pembesaran ditingkatkan.
- 2) Setelah pembesaran yang diinginkan tercapai, kenop fokus disesuaikan halus untuk meningkatkan kejernihan.
- 3) Setelah mencapai gambar berkualitas, gambar dapat diambil dengan menekan tombol foto dalam mode 'foto lambat' atau 'foto cepat'. Mode 'foto lambat' memberikan kualitas gambar yang lebih baik dan resolusi tinggi.

d. Melakukan pengukuran menggunakan perangkat lunak SEM

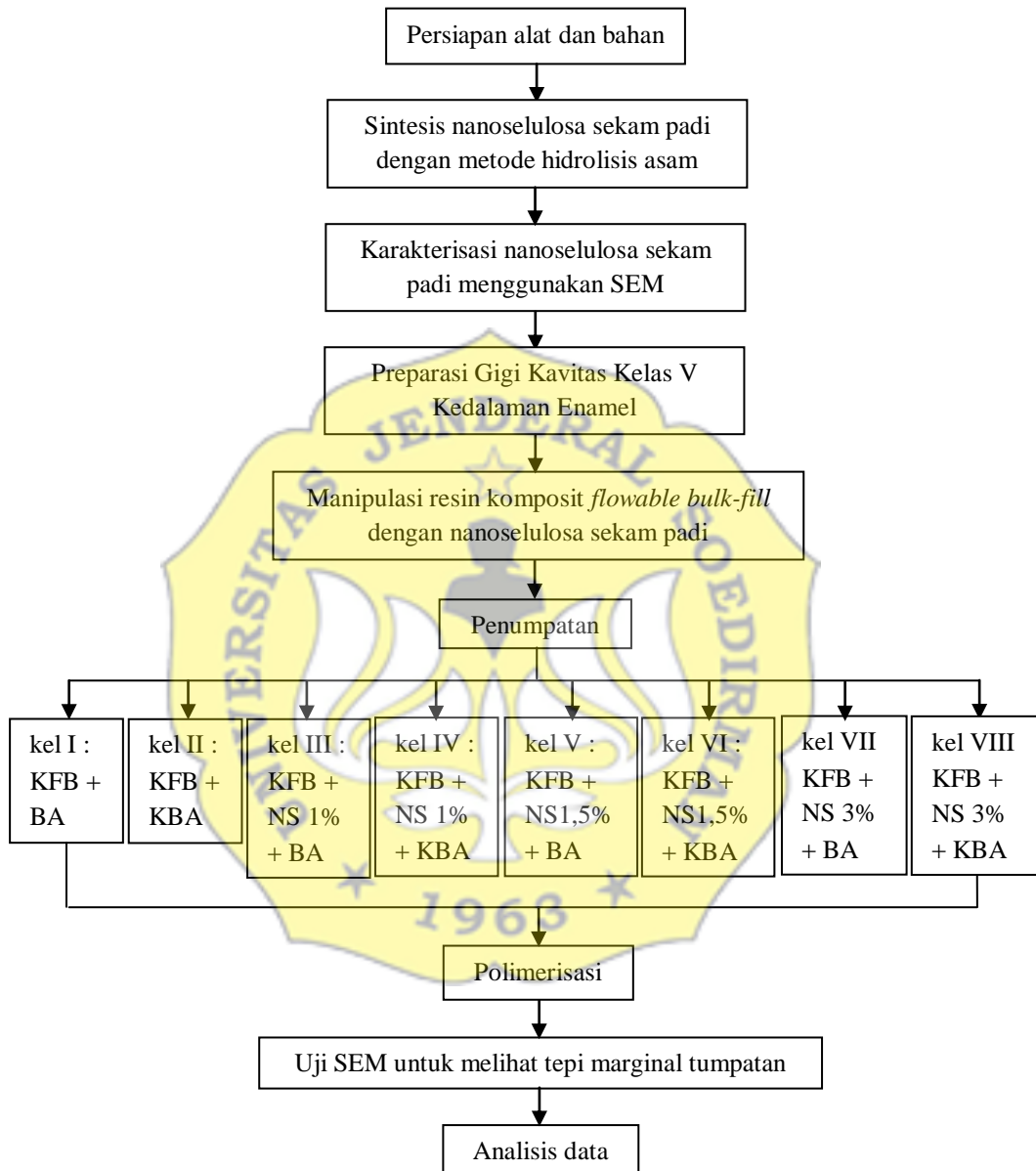
- 1) Pada daftar 'Panel' dipilih 'M. Alat '.

- 2) Berbagai pengukuran seperti panjang, luas, dan sudut dapat diukur secara langsung dalam perangkat lunak SEM. Untuk melakukan salah satu pengukuran ini, klik ikon yang diinginkan di jendela M. Tools.
 - 3) Pengukuran dilakukan dengan mengklik gambar untuk membuat titik referensi yang akan dianalisis oleh perangkat lunak. Titik data yang diukur dapat dimasukkan langsung ke gambar. Gambar kemudian disimpan ke komputer.
3. Evaluasi gambaran integritas marginal resin komposit *flowable bulk-fill* dengan dan tanpa penambahan kitosan pada *bonding agent*. Evaluasi dilakukan dengan membandingkan gambaran integritas marginal antar sampel, kemudian dilakukan validasi pakar atau *inter-rater reliability*.



3.11 Skema Penelitian

Skema penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.6.



Keterangan :

Kel : Kelompok sampel

KFB : Komposit *Flowable Bulk-fill*

NS : Nanoselulosa sekam padi

BA : *Bonding agent* konvensional

KBA : *Bonding agent* dengan tambahan kitosan

Gambar 3.1 Skema Penelitian

3.12 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dipresentasikan dalam bentuk deskriptif berdasarkan hasil uji karakterisasi nanoselulosa sekam padi dan gambaran integritas marginal pada tepi tumpatan menggunakan uji SEM. Gambaran integritas marginal setiap sampel dinilai dengan melakukan validasi pakar dengan metode *inter-rater reliability*. Data hasil penilaian dari metode *inter-rater reliability* dianalisis menggunakan program *Software Statistical Package the Social Science* (SPSS) dengan analisis koefisien Kappa.

