

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini mencakup Ilmu Penyakit Gigi dan Mulut serta Ilmu Mikrobiologi.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

1. Ruang lingkup tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sentral Mikrobiologi Rumah Sakit Nasional Diponegoro Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

2. Ruang lingkup waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Mei 2018.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*.

3.4 Sampel

Sampel penelitian ini meliputi koloni *Staphylococcus epidermidis* yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan memenuhi kriteria inklusi serta eksklusi. Menentukan jumlah duplikasi digunakan rumus sebagai berikut

$$\begin{aligned} \text{Rumus Federer}^{25,24,26} : & \quad (n-1) (t-1) \geq 15 \\ & \quad (n-1) (5-1) \geq 15 \\ & \quad (n-1) (4) \geq 15 \\ & \quad (n-1) \geq 15/4 \\ & \quad (n-1) \geq 3,75 \\ & \quad n \geq 3,75+1 \\ & \quad n \geq 4,75 \\ & \quad n = 5 \end{aligned}$$

Keterangan :

n : banyaknya ulangan

t : banyaknya perlakuan

Berdasarkan perhitungan dengan rumus di atas, maka diperoleh $n = 5$, maka jumlah duplikasi sebanyak 5 kali.

3.4.1 Kriteria Inklusi

Koloni yang tumbuh pada media *Brain Heart Infussion (BHI)* dan *Blood Agar* setelah dipaparkan dengan perlakuan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

3.4.2 Kriteria Eksklusi

Koloni *Staphylococcus epidermidis* yang tumbuh pada media *Brain Heart Infussion* dan *Blood Agar* dengan disertai pertumbuhan jamur atau kontaminan lain.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi asap cair.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pertumbuhan koloni *Staphylococcus epidermidis*.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 5. Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel	Unit	Skala
1.	Konsentrasi asap cair Konsentrasi asap cair merupakan asap cair yang dibuat konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dalam aquades yang ditambahkan media BHI. Dinyatakan dalam mg/cc. Asap Cair <i>grade</i> I.	Persen (%)	Ordinal
2.	Kadar Hambat Minimum. Larutan sampel dengan konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan kejernihan secara visual yang dinilai oleh pengamat secara independen).	Jernih/Keruh	Nominal
3.	Kadar Bunuh Minimum Konsentrasi terkecil yang mampu membunuh pertumbuhan bakteri (ditandai dengan <i>Blood agar</i> apakah tumbuh bakteri/tidak secara visual yang dinilai oleh pengamat secara independen)	Tumbuh/Tidak tumbuh	Nominal

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

Bahan merupakan asap cair *grade 1* yang diperoleh dari PT. Asap Cair Multiguna Universitas Diponegoro yang telah terverifikasi.

- 1) Larutan induk dan asap cair dalam berbagai konsentrasi
 - I : Larutan induk terdiri dari 0,75 gr BHI dan 2 cc asap cair.
 - P1 : Asap cair 100% terdiri dari 1 cc larutan induk.
 - P2 : Asap cair 50% terdiri dari 1 cc larutan induk dan 1 cc BHI.
 - P3 : Asap cair 25% terdiri dari 1 cc larutan P2 dan 1 cc BHI.
 - P4 : Asap cair 12,5% terdiri dari 1 cc larutan P3 dan 1 cc BHI.
 - P5 : Asap cair 6,25% terdiri dari 1 cc larutan P4 dan 1 cc BHI.
- 2) Larutan standar Mc Farland 0,5
- 3) Suspensi *Staphylococcus epidermidis*
- 4) Media *Blood Agar*

Susunan media *Blood Agar* :

- 1) Pepton : 4 g
- 2) NaCl : 1 g
- 3) Agar : 2 g
- 4) Aquades : 100 cc
- 5) pH : 7,2
- 6) Darah

3.7.2 Alat

- 1) Cawan petri
- 2) Tabung reaksi
- 3) Rak tabung reaksi
- 4) Botol
- 5) Pipet dan mikropipet
- 6) Osse Steril
- 7) Kapas
- 8) Lampu bunsen dan korek api
- 9) Timbangan bahan
- 10) Kompor gas
- 11) Kertas pH
- 12) Inkubator dengan suhu 37⁰C

3.7.3 Jenis Data

Data yang dikumpulkan berdasarkan uji eksperimental yang dilakukan oleh peneliti di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro merupakan data primer berupa hasil pertumbuhan koloni *Staphylococcus epidermidis* pada media *Brain Heart Infussion* dan *Blood Agar* dari kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

3.8 Persiapan Alat, Bahan dan Media

Semua alat, bahan dan media yang digunakan pada penelitian disterilkan terlebih dahulu untuk mencegah kontaminasi, dengan menggunakan *autoclave* pada temperatur 121⁰C dengan tekanan 1-2 atm selama 15 menit, yang kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 60⁰C selama 2 jam.

3.9 Cara Kerja

3.9.1 Pembuatan Suspensi *Staphylococcus epidermidis*

Koloni *Staphylococcus epidermidis* dari hasil kultur dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi NaCl 0,9% lalu disesuaikan kekeruhannya dengan larutan standar Mc Farland 0,5

3.9.2 Uji Kadar Hambat Minimum (KHM)

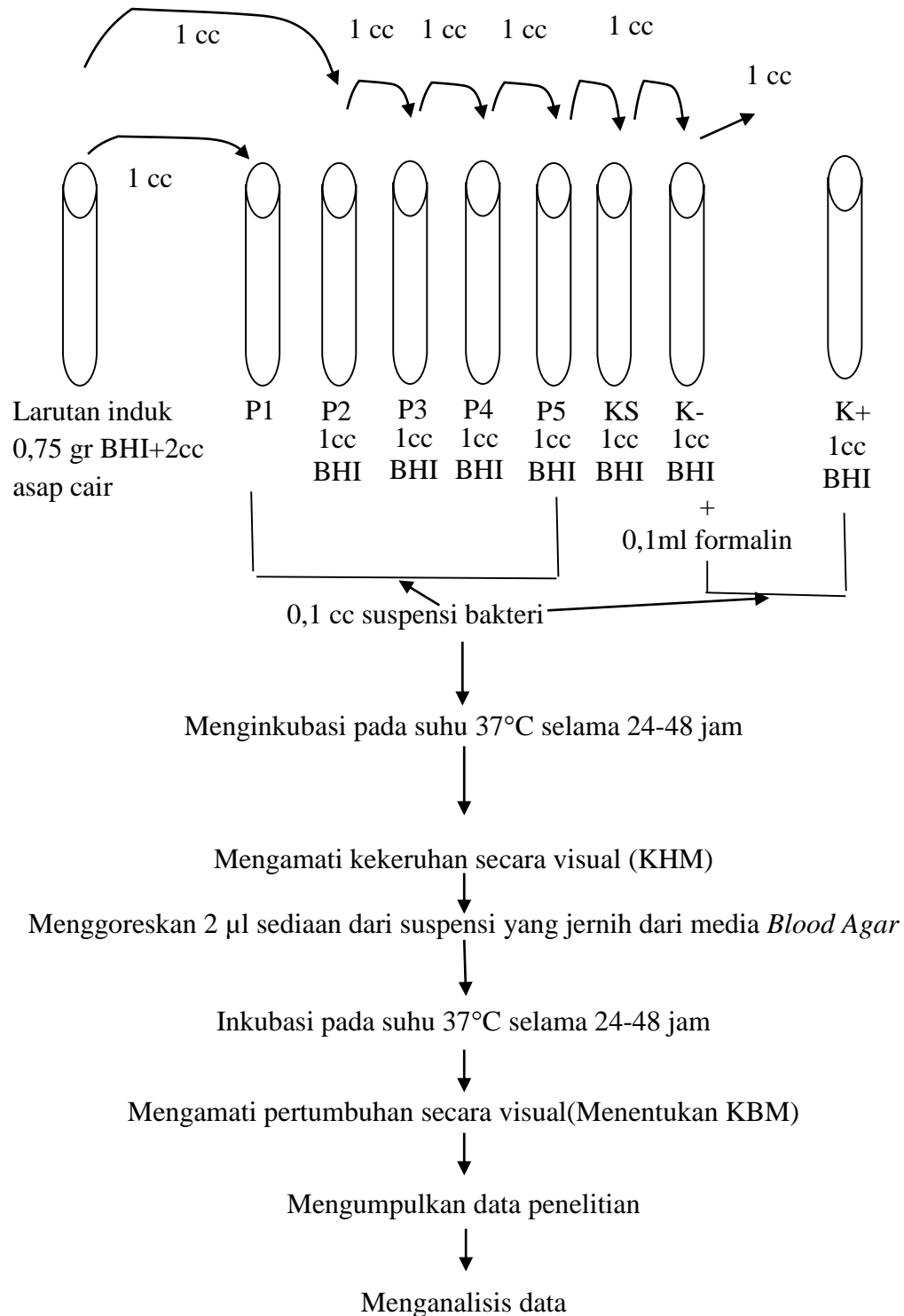
- 1) Disiapkan tabung reaksi steril.
- 2) Tabung I sebagai larutan induk terdiri dari 0,75 gr BHI yang dilarutkan kedalam 2cc larutan sampel (asap cair)
- 3) Tabung P1 diisi 1 cc larutan induk.
- 4) Tabung P2 diisi 1 cc larutan induk dan 1 cc BHI.
- 5) Tabung P3 diisi 1 cc larutan dari P2 dan 1 cc BHI.
- 6) Tabung P4 diisi 1 cc larutan dari P3 dan 1 cc BHI.
- 7) Tabung P5 diisi 1 cc larutan dari P4 dan 1 cc BHI.
- 8) Tabung KS sebagai kontrol sampel diisi 1 cc larutan dari P5 dan 1 cc BHI.

- 9) Tabung K- sebagai kontrol negatif diisi 1 cc larutan dari KS dan 1 cc BHI. Ambil 1 cc kemudian buang. Menambahkan 0,1 cc formalin.
- 10) Tabung K+ sebagai kontrol positif diisi 1 cc BHI.
- 11) Menambahkan 0,1 cc suspensi bakteri ke dalam tabung P1, P2, P3, P4, P5, P6, K- dan K+.
- 12) Setiap nomor tabung dilakukan percobaan sebanyak lima kali.
- 13) Semua tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24-48 jam, kemudian diamati, dibandingkan dengan kontrol KHM (Kadar Hambat Minimum) ditentukan oleh tabung yang berisi konsentrasi obat terendah yang masih menghambat pertumbuhan kuman (perbenihan tetap jernih)

3.9.3 Penentuan Kadar Bunuh Minimum (KBM)

- 1) Sediaan uji dari 3.9.2 diatas digoreskan pada blood agar sebanyak 2 μ l.
- 2) Inkubasi pada suhu 37⁰C selama 24-48 jam, kemudian diamati konsentrasi terkecil dimana tidak terjadi pertumbuhan koloni kuman pada media *Blood agar* merupakan KBM.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 9. Alur Penelitian

3.11 Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian akan dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Saphiro Wilk* untuk melihat sebaran distribusi data, serta uji homogenitas dengan menggunakan uji *lavene's test* untuk melihat varians data. Apabila data berdistribusi normal dan mempunyai varians yang sama, dilakukan uji parametrik *one way Anova* untuk menganalisis perbedaan antar kelompok. Apabila terdapat perbedaan yang bermakna, akan dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD* untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna. Apabila data tidak berdistribusi normal, dan mempunyai varians yang berbeda, dilakukan uji nonparametrik *Kruskal Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan antara masing-masing kelompok perlakuan. Pengelolaan data dilakukan dengan aplikasi di komputer.

3.12 Etika Penelitian

Ijin penelitian dilakukan dengan meminta *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/Rumah Sakit Nasional Diponegoro dan proposal Karya Tulis Ilmiah diajukan. Penelitian dilakukan setelah *ethical clearance* terbit.

