

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **1.1 Ruang Lingkup Penelitian**

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

#### **1.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.2.1 Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sentral bagian Mikrobiologi Rumah Sakit Nasional Diponegoro (RSND), Universitas Diponegoro, Semarang.

##### **3.2.2 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Mei 2018

#### **1.3 Jenis dan Rancangan Penelitian**

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

#### **1.4 Sampel Penelitian**

Sampel penelitian ini meliputi koloni *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang dan memenuhi kriteria inklusi serta eksklusi. Jumlah duplikasi diketahui dengan Rumus *Federer*.<sup>64</sup>

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15/4$$

$$(n-1) \geq 3,75$$

$$n \geq 3,75+1$$

$$n \geq 4,75$$

$$n = 5$$

Keterangan :

n : banyaknya ulangan

t : banyaknya perlakuan

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

#### **3.4.1 Kriteria Inklusi**

Koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B) dan *Blood Agar* setelah dipaparkan dengan perlakuan dan diinkubasi pada lingkungan aerob pada suhu 37°C selama 24 jam.

#### **3.4.2 Kriteria Eksklusi**

Koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B) dan *Blood Agar* dengan disertai pertumbuhan jamur atau kontaminan lain.

### **1.5 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 aureus*.

### 1.6 Definisi Operasional

**Tabel 2.** 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. Pada penelitian, menggunakan asap cair tingkat 1. Dinyatakan dalam mg/cc.	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 dilakukan dengan mengamati pertumbuhan koloni.	Tumbuh/ Tidak Tumbuh	Nominal

## 1.7 Cara Pengumpulan Data

### 3.7.1 Bahan

- 1) Larutan induk dan asap cair tingkat 1 dalam berbagai konsentrasi. Asap cair diperoleh dari PT. Asap Cair Multiguna Universitas Diponegoro yang telah tersertifikasi.

I : Larutan induk terdiri dari 0,74 gr BHI-B 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 aureus*
- 4) Media Blood Agar

Susunan media Blood Agar :

1) Pepton : 4g

2) NaCl : 1g

3) Agar : 2g

4) Aquades : 100cc

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 37°C

### 3.7.3 Jenis Data

Data yang dikumpulkan berdasarkan uji eksperimental yang dilakukan oleh peneliti di Laboratorium Sentral bagian Mikrobiologi, Rumah Sakit Diponegoro (RSND), Universitas Diponegoro, Semarang merupakan data primer berupa hasil pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* pada media BHI-B dan *Blood Agar* dari kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

## 1.8 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 121°C, tekanan 1-2 atm, selama 15 menit, kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 60°C selama 2 jam.

## 1.9 Cara Kerja

### 3.9.1 Pembuatan suspensi *Staphylococcus aureus*

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

### 3.9.2 Kadar Hambat Minimum (KHM)

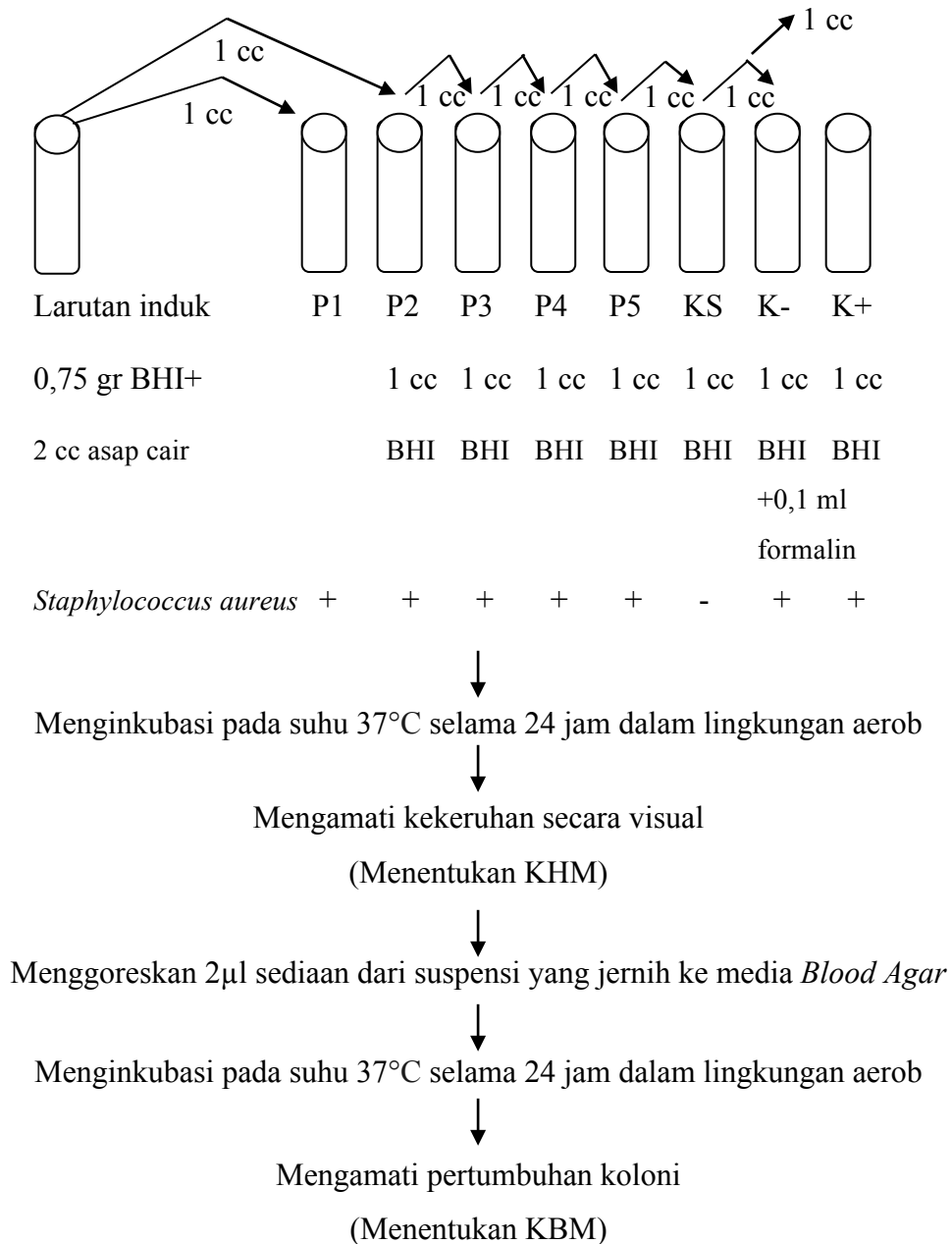
- 1) Menyiapkan tabung reaksi steril
- 2) Mengisi tabung I sebagai larutan induk dengan bahan media *Brain Heart Infusion* (BHI) yang dilarutkan dalam 2 cc larutan sampel (asap cair)
- 3) Mengisi tabung P1 dengan 1 cc larutan induk
- 4) Mengisi tabung P2 dengan 1 cc larutan induk dan 1 cc BHI
- 5) Mengisi tabung P3 dengan 1 cc larutan P2 dan 1 cc BHI
- 6) Mengisi tabung P4 dengan 1 cc larutan P3 dan 1 cc BHI
- 7) Mengisi tabung P5 dengan 1 cc larutan P4 dan 1 cc BHI
- 8) Mengisi tabung KS sebagai kontrol sampel dengan 1 cc larutan P5 dan 1 cc BHI
- 9) Mengisi tabung K- sebagai kontrol negatif dengan 1 cc larutan KS dan 1 cc BHI. Mengambil 1 cc kemudian buang. Menambahkan 0,1 cc formalin
- 10) Mengisi tabung K+ sebagai kontrol positif dengan 1 cc BHI
- 11) Menambahkan 0,1 cc suspensi bakteri ke dalam tabung P1, P2, P3, P4, P5, K-, K+

- 12) Melakukan percobaan sebanyak lima kali pada setiap nomor tabung
- 13) Menginkubasi semua tabung tersebut pada suhu 37°C pada lingkungan aerob selama 24 jam, kemudian mengamati, membandingkan dengan kontrol KHM (Kadar Hambat Minimum) yang ditentukan oleh tabung yang berisi konsentrasi asap cair terendah yang masih menghambat pertumbuhan kuman (perbenihan tetap jernih)

### **3.9.3 Kadar Bunuh Minimum (KBM)**

- 1) Menggoreskan sediaan 3.9.2 pada sediaan *Blood Agar* sebanyak 2µl
- 2) Menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam lingkungan aerob, kemudian mengamati konsentrasi terkecil dimana tidak terjadi pertumbuhan koloni kuman, yang merupakan KBM (Kadar Bunuh Minimum)

### 1.10 Alur Penelitian



**Gambar 4.** Alur Penelitian

### 1.11 Analisis Data

Sebelum dilakukan analisis data, maka dilakukan pemeriksaan kelengkapan dan kebenaran data. Data selanjutnya akan diberi kode, ditabulasi, dan



dianalisis menggunakan program komputer. Uji normalitas dilakukan dengan uji *Shapiro Wilk* untuk melihat sebaran distribusi data, serta uji homogenitas dilakukan dengan 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*. Nilai derajat kemaknaan adalah  $p < 0,05$ , pada interval kepercayaan 95%.<sup>65</sup>

### 1.12 Jadwal Penelitian

**Tabel 3.** Jadwal Penelitian

Kegiatan	Bulan (2018)					
	Feb	Maret	April	Mei	Juni	Juli
Studi Literatur	■					
Penyusunan proposal	■	■				
Pengujian proposal		■				
Pelaksanaan Penelitian			■	■		
Analisis dan Pengolahan Data				■	■	
Penulisan Laporan					■	■
Pengujian hasil akhir						■