

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian : eksperimental laboratorik

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian : Laboratorium Biologi Oral FKG UI

Waktu penelitian : Minggu ke-4 Bulan September dan minggu ke-1 Bulan Oktober

4.3 Bahan yang diuji

Bahan yang diuji dalam penelitian ini adalah Kismis yang dibeli di pasar swalayan, kemudian dibuat infusum dengan takaran 50 g dalam 500 cc air.

4.4 Spesimen penelitian

Wild strain *Streptococcus mutans* yang diambil dari Laboratorim Biologi Oral FKGUI.

4.5 Variabel Penelitian

Variabel bebas : Infusum Kismis

Variabel terikat : KBM, KHM, Zona Hambatan

4.6 Definisi Operasional

1. Infusum Kismis

Hasil dari pemanasan bertingkat dari Kismis yang berupa larutan untuk diambil kegunaan medisnya.

2. S. mutans

Salah satu bakteri yang paling banyak ditemukan pada lesu karies manusia dan berperan penting dalam proses awal terjadinya gigi berlubang.

3. Antimikroba pada infusum

Senyawa kimia yang dapat menghambat atau mematikan mikroorganisme

4. Pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme

Perubahan ukuran dan jumlah mikroorganisme

5. Sensitivitas mikroorganisme terhadap efek antimikroba

Daya tahan mikroorganisme terhadap efek antimikroba

6. Kadar Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi terendah dari antimicrobial yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu.

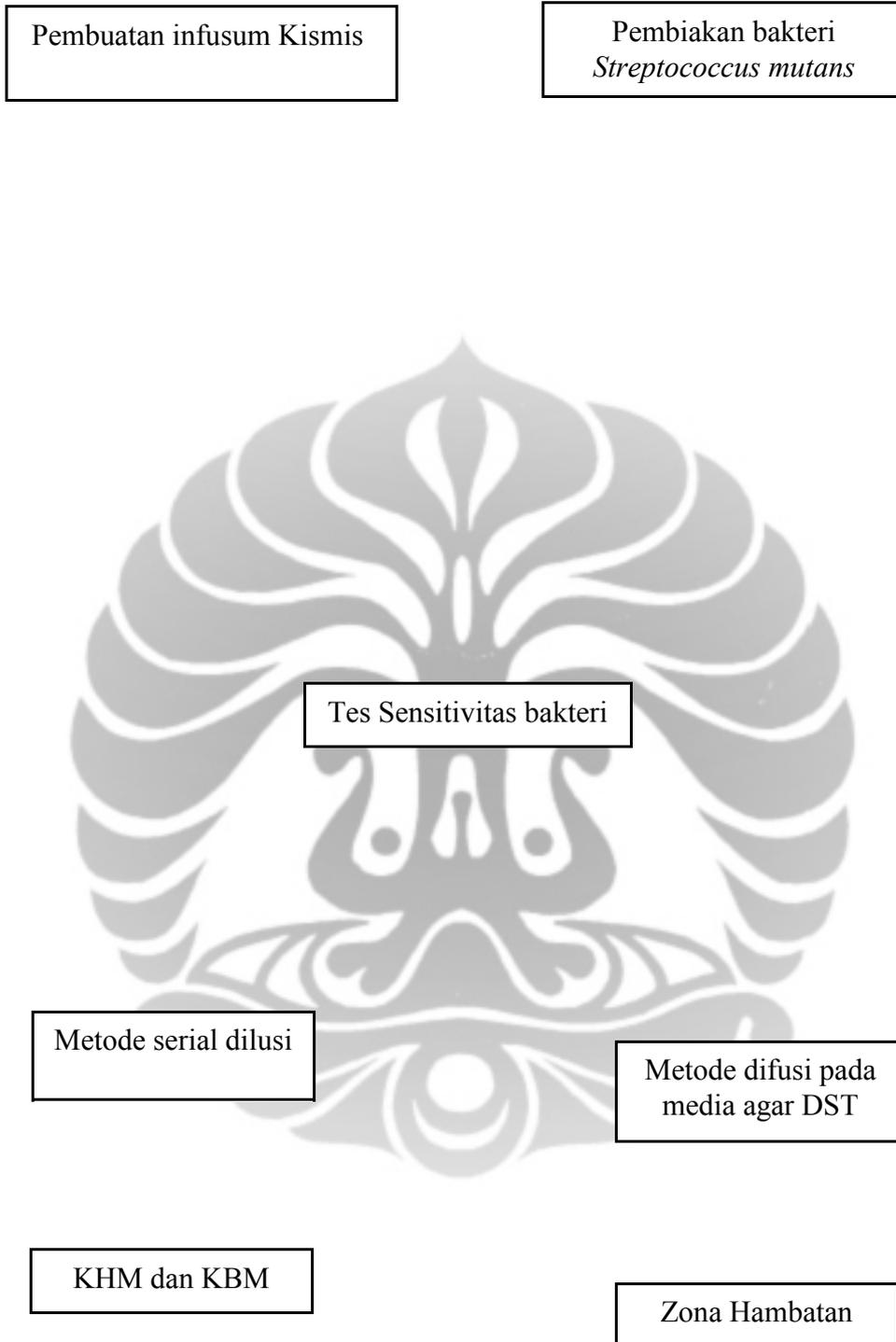
7. Kadar Bakterisid Minimum (KBM)

Konsentrasi terendah dari antimicrobial yang dapat membunuh mikroorganisme tertentu

8. Zona Hambatan

Daerah yang bebas dari pertumbuhan mikroorganisme yang terdapat di sekeliling disk yang telah ditetesi infusum sebagai antimikroba

4.7 Alur penelitian



4.8 Bahan dan Alat penelitian

Material yang digunakan pada penelitian ini adalah

1. Kismis sebanyak 50 gram
2. Cairan BHI (Brain Heart Infusion Broth)
3. TYS20B, untuk perbenihan *S. mutans*

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah

1. Inkubator
 2. Autoclave
 3. Tabung reaksi steril
 4. Rak tabung reaksi
 5. Ose dan sengkeli
 6. Cawan petri
 7. Eppendorf tube steril
 8. Tip Eppendorf steril
 9. Pipet Eppendorf
 10. Water bath
 11. Labu Erlenmeyer
 12. Gelas Beker
 13. Lemari pendingin
- 4.9 Cara Kerja
- 4.9.1 Pembuatan Infusum Kismis 100%
1. 50 gram Kismis ditimbang kemudian dicampur dengan 500 ml aquadest steril, lalu dipanaskan hingga temperatur mencapai 100 o C. Diamkan selama 15 menit.
 2. Saat larutan masih panas tuangkan ke dalam tabung erlenmeyer 1000 ml dengan menggunakan corong kaca, yang sebelumnya sudah dilapisi dengan kertas filter dan muslin, sehingga mencapai volume 500 ml. Dari proses ini, didapat konsentrasi 10% infusum Kismis
 3. Kemudian tabung erlemeyer dimasukkan ke dalam water-bath, yang berisikan air mendidih. Panaskan terus hingga isi di dalam tabung erlemeyer mencapai volume 50 ml. Dari proses ini, didapat konsentrasi 100% infusum Kismis.
- 4.9.2 Pembuatan Infusum Kismis 80%, 60%, 40%, 30%, 20%, 15%

1. 80% : masukkan 8 cc infusum 100% ke dalam tabung dicampur dengan 2 cc BHI (tabung1)
2. 60% : masukkan 6 cc infusum 100% ke dalam tabung lalu campur dengan 4 cc BHI (tabung 2)
3. 40 % : masukkan 5 cc infusum konsentrasi 80% ke dalam tabung lalu campur dengan 5 cc BHI (tabung3)
4. 30% : masukkan 5 cc infusum konsentrasi 60% ke dalam tabung lalu campur dengan 5 cc BHI (tabung4)
5. 20% : masukan 5 cc infusum konsentrasi 40% ke dalam tabung lalu campur dengan 5 cc BHI (tabung5)
6. 15% : masukan 5 cc infusum konsentrasi 30% ke dalam tabung lalu campur dengan 5 cc BHI (tabung6)
7. C (+) : 2 ml BHI
8. C (-) : 2 ml infusum Kismis 100%

4.9.3 Pemilihan koloni S.mutans

1. Pemilihan koloni dilakukan dengan cara melihat morfologi dari S.mutans pada media padat TYS20B (diameter, kontur, konsistensi, homogenisasi, pigmen, besarnya, dan kecembungan permukaan). Dengan metode ini dipilih 6 koloni S.mutans.

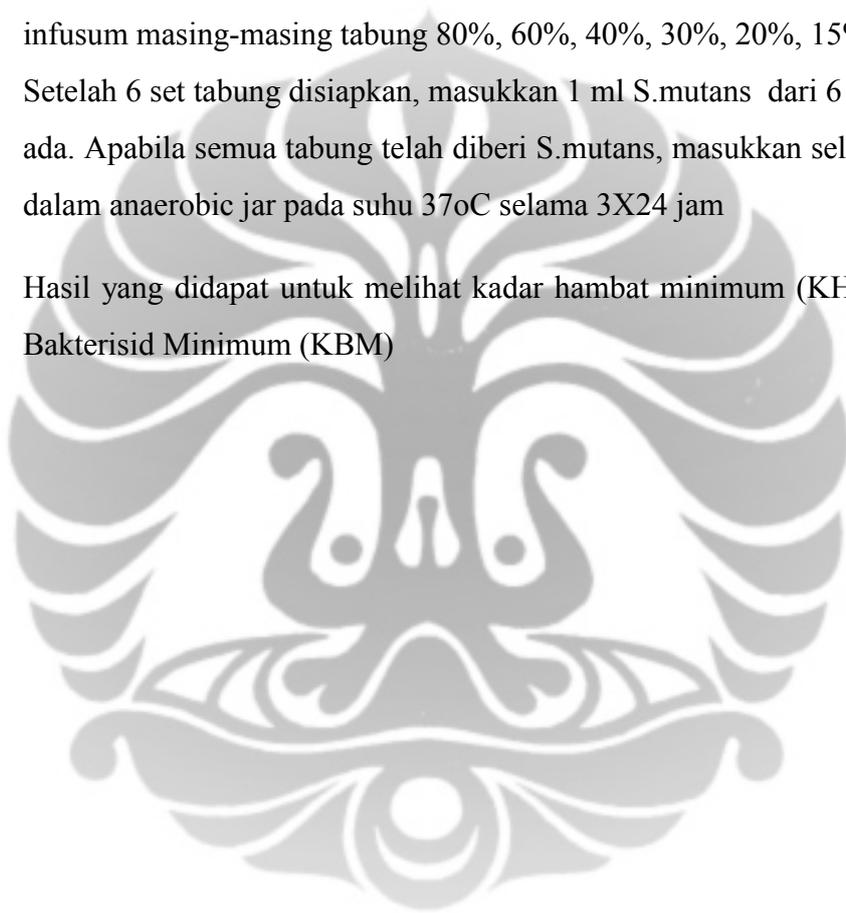
4.9.4 Metode Serial Dilusi

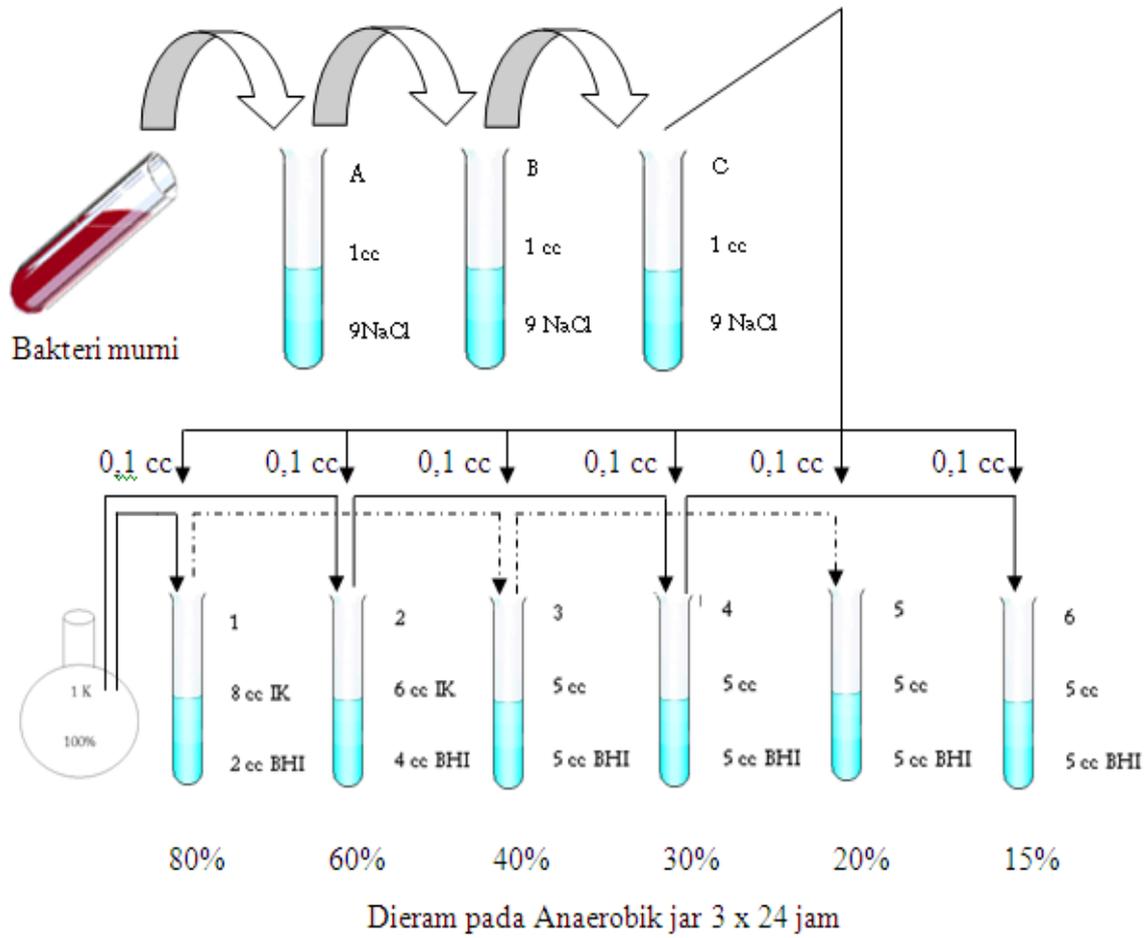
1. Pembuatan media kultur bakteri

Pembuatan media kultur bakteri dilakukan dengan cara memasukan strain dari S.mutans yang dipilih ke dalam tabung yang berisi cairan BHI lalu eram di dalam anaerobik jar selama 3X24 jam pada suhu 37o Celsius.(dibuat ke dalam 6 tabung, masing-masing strain 1 tabung)

2. Pengenceran bakteri 41

- Setelah 3 hari, ambil 1 cc dari masing-masing tabung yang telah dieram lalu dicampur dengan 9 cc NaCl. (Tabung A)
 - Ambil 1 cc dari tabung A dicampur dengan 9 cc NaCl. (Tabung B)
 - Ambil 1 cc dari tabung B dicampur dengan 9 c NaCl. (Tabung C)→Bakteri hasil pengenceran 1000x inilah yang akan kita pakai (Total terdapat 6 tabung C yang berasal dari 6 strain S.mutans)
3. Tes sensitivitas bakteri terhadap infusum Kismis
- Siapkan 6 set tabung tes, tiap set terdiri dari 8 tabung dengan konsentrasi infusum masing-masing tabung 80%, 60%, 40%, 30%, 20%, 15%., C (+), C (-)
 - Setelah 6 set tabung disiapkan, masukkan 1 ml S.mutans dari 6 specimen yang ada. Apabila semua tabung telah diberi S.mutans, masukkan seluruh tabung ke dalam anaerobic jar pada suhu 37oC selama 3X24 jam
 - Hasil yang didapat untuk melihat kadar hambat minimum (KHM) dan Kadar Bakterisid Minimum (KBM)

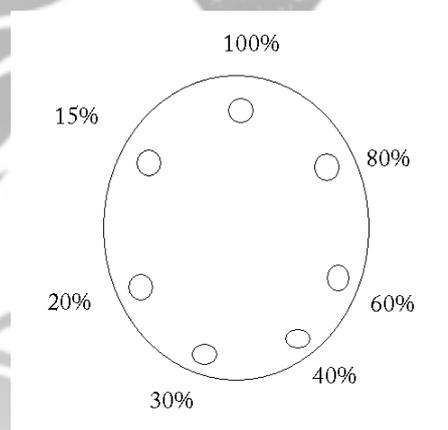




Gambar 4.1 Cara kerja

4.9.5 Metode difusi pada media agar DST

1. Siapkan 6 cawan petri untuk media agar DST.
2. Pada media agar DST ditanam rata-rata 1 cc bakteri murni hasil pengenceran 1000x (Tabung C) lalu dieram di dalam inkubator dengan suhu 37^oC selama 15 menit.
3. Infusum Kismis dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, 30%, 20% ditetaskan sebanyak 0,01 cc pada blank disc (diameter disc = 6 mm), lalu diletakkan di atas permukaan agar.
4. Zona inhibisi akan ditunjukkan di sekitar disc, dan zona terisolasi yang ada di sekitar spesimen akan diukur.



Gambar 4.2 Penanaman bakteri pada Media DST



Zona Inhibisi



Gambar 4.3 Zona Inhibisi

Blank disk

