

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 Jambu air Semarang merah yang dibeli di pasar swalayan, kemudian dibuat infusum dengan takaran 50 gram jambu dan 500 gram air

4.4 Spesimen penelitian

Wild strain *S.mutans* yang berasal dari laboratorium mikrobiologi FKG UI

4.5 Variabel Penelitian

Variabel bebas : Infusum Jambu air Semarang

Variabel terikat : KBM, KHM, dan Zona hambatan

4.6 Definisi Operasional

1. Infusum Jambu air Semarang

Infusum Jambu air Semarang adalah produk berupa larutan yang berasal dari pemanasan bertingkat buah Jambu air Semarang . Pada penelitian ini infusum didapatkan dari 50 gram buah Jambu air Semarang . Infusum yang digunakan dibagi menjadi 6 konsentrasi (15%, 20%, 30%, 40%, 60%, dan 80%)

2. Antimikroba pada infusum

Antimikroba adalah Senyawa kimia yang dapat menghambat atau mematikan mikroorganismenya. Pada penelitian ini senyawa kimia yang diduga bersifat antimikroba adalah Tannin dan Oleanolic acid

3. *S.mutans*

S.mutans adalah bakteri utama penyebab karies gigi. Pada penelitian ini bakteri yang digunakan terdiri dari 6 koloni *S.mutans* yang dipilih berdasar perbedaan morfologinya (konsistensi, ukuran, pigmen/warna, kontur, homogenisasi, dan kecembungan permukaan)

4. Kadar Hambat Minimum (KHM)

KHM adalah konsentrasi terendah dari antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganismenya tertentu.

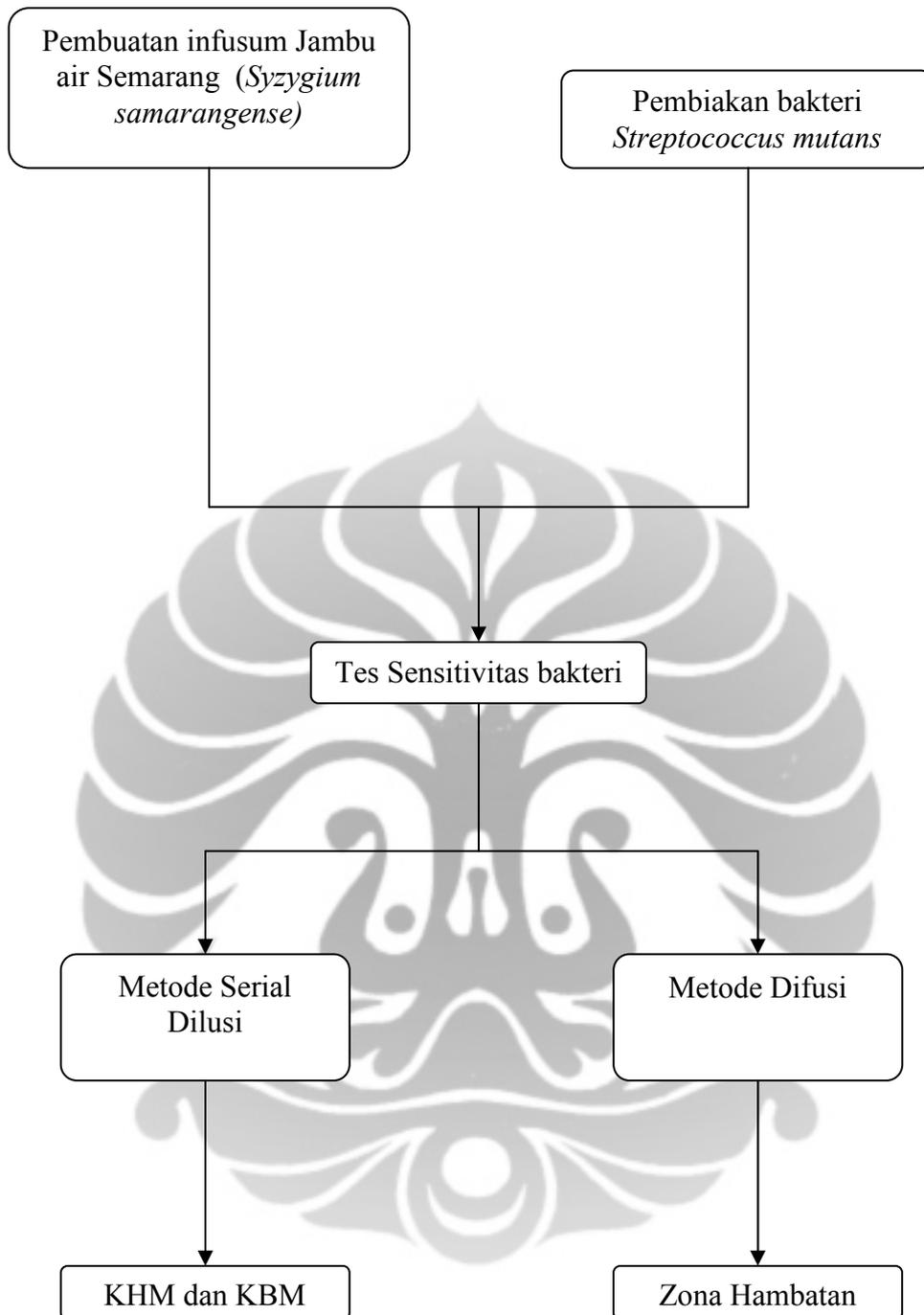
5. Kadar Bakterisid Minimum (KBM)

KBM adalah konsentrasi terendah dari antimikroba yang dapat membunuh mikroorganismenya tertentu

6. Zona Hambatan

Zona hambatan adalah daerah yang bebas dari pertumbuhan mikroorganismenya *S.mutans* yang terdapat di sekeliling disk yang telah ditetesi infusum Jambu air Semarang sebagai antimikroba

4.7 Alur penelitian



4.8 Bahan dan Alat penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah

1. Jambu air Semarang (*Syzygium samarangense*) 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 Jambu air Semarang 100%

1. 50 gram jambu ditimbang kemudian dicampur dengan 500 ml aquadest steril, lalu dipanaskan hingga temperatur mencapai 100 ° 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 Jambu air Semarang .
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 Jambu air Semarang .

4.9.2 Pembuatan Infusum Jambu air Semarang 80%, 60%, 40%, 30%, 20%, 15%

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

4.9.3 Pemilihan 6 koloni *S.mutans*

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

4.9.4 Metode Serial Dilusi

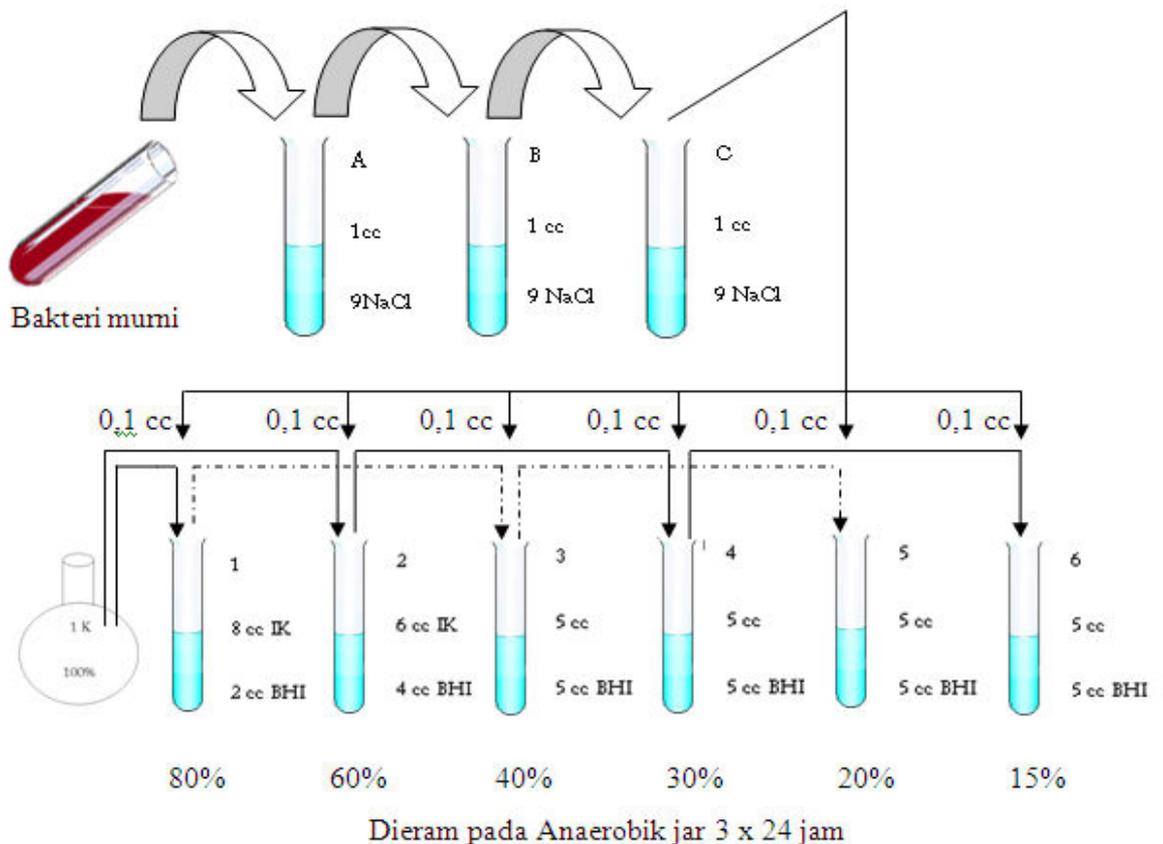
1. Pembuatan media kultur bakteri

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

2. Pengenceran bakteri

- Setelah 3 hari, ambil 1 cc dari masing-masing tabung yang telah dieram lalu dicampur dengan 9 cc NaCl. (Tabung A)

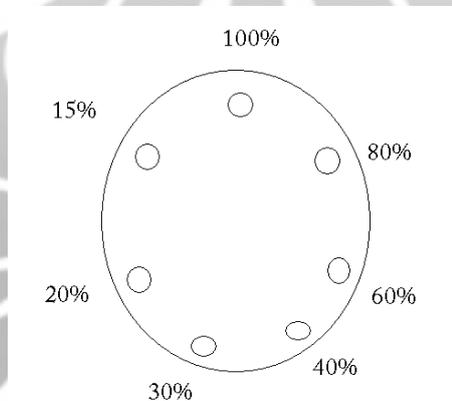
- Ambil 1 cc dari tabung A dicampur dengan 9 cc NaCl. (Tabung B)
 - Ambil 1 cc dari tabung B dicampur dengan 9 cc NaCl. (Tabung C) → Bakteri hasil pengenceran 1000x inilah yang akan kita pakai (Total terdapat 6 tabung C yang berasal dari 6 koloni *S.mutans*)
3. Tes sensitivitas bakteri terhadap infusum Jambu air Semarang
- 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 37°C selama 3X24 jam
 - Setelah 3 hari, Dilihat hasil yang didapat untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) dan Kadar Bakterisid Minimum (KBM)



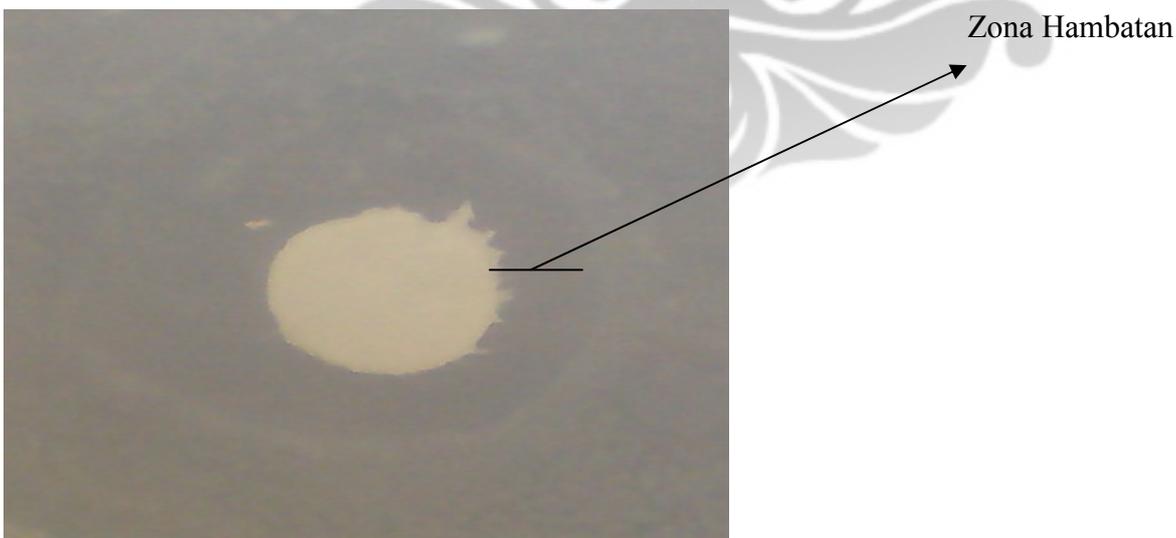
Gambar 4.1 cara kerja

4.9.5 Metode Difusi

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 37⁰ C selama 15 menit.
3. Infusum Jambu air Semarang dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, 30%, 20% diteteskan sebanyak 0,01 cc pada *blank disc* (diameter disc = 6 mm), lalu diletakkan di atas permukaan agar.
4. Zona hambatan akan ditunjukkan di sekitar disc, dan zona terisolasi yang ada di sekitar spesimen akan diukur.



Gambar 4.2 Penanaman bakteri pada Media DST



Gambar4.3 Zona hambatan

