

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *Deskriptif Observasional* dengan melakukan pemeriksaan mengenai identifikasi bakteri *Streptococcus sp* pada karies gigi. Metode ini bertujuan untuk membuat gambaran tentang suatu keadaan secara objektif.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### 1. Tempat Pengambilan Sampel

Tempat pengambilan sampel dalam penelitian ini yaitu SD 6 negeri Kendari.

##### 2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Bina Husada Kendari.

##### 3. Waktu penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada tanggal 13 April - 19 Mei 2023.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### 1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah anak SD penderita karies di SD negeri 6 Kendari dengan jumlah kelas a sebanyak 31 orang, kelas b 33 orang, kelas c 32 orang dan kelas d 34 dengan total keseluruhan sebanyak 130 orang.

##### 2. Sampel

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah karies gigi. Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Purposive sampling* yakni tekni pengambilan sampel berdasarkan kriteria yang dibuat oleh peneliti sendiri dan disesuaikan dengan kehendak peneliti.

###### a) Kriteria sampel

- 1) Kriteria inklusi
  - a) Penderita karies gigi
  - b) Bersedia menjadi responden
- 2) Kriteria eksklusi
  - a) Tidak memiliki karies gigi
  - b) Responden tidak berada ditempat
- b) Besar sampel

Jika jumlah populasi besar dari >100 orang, maka dapat diambil 15-30% dan jika <100 maka sampel yang diambil 25-50%. Besar sampel pada penelitian ini adalah 23%, karena jumlah populasi >100. Maka didapatkan dari hasil menggunakan rumus berikut.

$$\begin{aligned}
 \text{Rumus : Jumlah sampel} &= \frac{23}{100} \times 130 \\
 &= 130 \times \frac{23}{100} \\
 &= 30 \text{ sampel.}
 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan diatas besar jumlah sampel yang diambil adalah sebanyak 30 sampel.

#### **D. Prosedur Pengambilan Data**

Prosedur pengumpulan data dimulai dari observasi awal, pengumpulan jurnal, dan studi litelatur yang mendukung penelitian ini, Sehingga pencatatan hasil pemeriksaan bakteri terhadap karies gigi. Data yang sudah diperoleh hasilnya dari penelitian sudah dapat dihitung, diproses dan dicatat.

#### **E. Prosedur Penelitian**

##### **1) Pra Analitik**

Persiapan alat dan bahan

a) Persiapan Alat :

- 1) Autoclave
- 2) Inkubator
- 3) Mikroskop
- 4) Oven
- 5) Hot plate
- 6) Timbangan digital

- 7) Erlenmeyer
  - 8) Rak tabung
  - 9) Jembatan pewarnaan
  - 10) Lampu spritus
  - 11) Gelas ukur
  - 12) Gelas kimia
  - 13) Tabung reaksi
  - 14) Cawan petri
  - 15) Sendok tanduk
  - 16) Pipet tetes
  - 17) Batang pengaduk
  - 18) Jarum Ose
  - 19) Objek glass
  - 20) Kaca mulut
  - 21) Pot sampel
  - 22) Sonde
  - 23) Katton swab
- b) Persiapan Bahan :
- 1) Sampel karies gigi
  - 2) Media *Tryptone Soya Broth* (BHIB)
  - 3) Media *Blood Agar Plate* (BAP)
  - 4) Media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)
  - 5) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%
  - 6) Aquades
  - 7) Kristalviolet
  - 8) Larutan lugol
  - 9) Alkohol
  - 10) Safranin
  - 11) Oil imersi
  - 12) NaCl
  - 13) Masker

- 14) Hanskun
- 15) Kertas label

## 2) Analitik

### a) Sterilisasi Alat

Melakukan terlebih dahulu sterilisasi alat sebelum digunakan dimana alat-alat gelas dan media distrilisasikan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. kemudian jarum ose dipijarkan dengan pembakaran diatas api langsung.

### b) Proses pembuatan media *Brain-heart Infusion Broth* (BHIB)

1. Timbang media *Brain-heart Infusion Broth* (BHIB) sebanyak 10 gram menggunakan timbangan analitik.
2. Ukur pH dengan indikator 7,4.
3. Media yang telah ditimbang, dilarutkan dengan aquades sebanyak 1000 ml didalam erlenmeyer. kemudian ditutup dengan kapas lalu homogenkan menggunakan magnetic stirrer.
4. Disterilisasikan dengan menggunakan autoclave pada suhu 121° C selama 15 menit.
5. Setelah itu, dinginkan lalu tuang kedalam tabung reaksi sebanyak  $\pm$  5 ml, kemudian tutup dengan kapas.

### c) Proses pembuatan media *Blood Agar Plate* (BAP)

1. Timbang media *Blood Agar Plate* (BAP) sebanyak 24 gram.
2. Ukur pH dengan indikator 6,8.
3. Media *blood agar plate* yang telah ditimbang, dilarutkan dengan aquades sebanyak 1000 ml didalam erlenmeyer. kemudian ditutup dengan kapas lalu homogenkan menggunakan magnetic stirrer.
4. Sterilisasikan media menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
5. Setelah itu, dinginkan lalu tambahkan darah sebanyak 9 ml kemudian dituang kedalam cawan petri sebanyak 20 ml .
6. Lalu diamkan hingga memadat.

### d) Proses pembuatan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

1. Timbang media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) sebanyak 18 gram.
2. Ukur pH dengan indikator pH  $7,4 \pm 0,2$ .
3. Media *Triple Sugar Iron Agar* yang telah ditimbang, dilarutkan dengan aquades sebanyak 1000 ml didalam erlenmeyer. Kemudian ditutup dengan kapas lalu homogenkan menggunakan magnetic stirrer.
4. Sterilisasikan media menggunakan autoclave pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.
5. Setelah itu, dinginkan lalu tuang kedalam tabung reaksi sebanyak  $\pm 5$  ml dengan posisi kemiringan  $30^{\circ}$ , kemudian tutup dengan kapas.

e) Proses pengambilan sampel

Memberi penjelasan pada siswa mengenai tindakan yang akan dilakukan. Sebelum pengambilan sampel, terlebih dahulu periksa apakah ada karies yang terbuka atau tidak. Jika terdapat karies gigi yang terbuka, maka lakukan pengambilan sampel karies gigi tersebut dengan cara swab. Setelah memperoleh jaringan karies gigi selanjutnya masukkan kedalam pot sampel, lalu beri label sesuai identitas, kemudian segera membawah sampel tersebut ke lab untuk melakukan penanaman bakteri pada media *Brain-Heart Infusion Broth* (BHIB). Setelah itu diberi label sesuai dengan identitas pasien.

f) Proses inokulasi bakteri pada media *Brain-Heart Infusion Broth* (BHIB)

1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
2. Sampel karies gigi yang telah diambil dengan cara swab dimasukkan pada media *Brain-Heart Infusion Broth* (BHIB).
3. Kemudian tutup dengan kapas lalu masukkan ke dalam inkubator.
4. Inkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 1 x 24 jam.
5. Setelah itu lakukan pengamatan pada media, jika terjadi kekeruhan pada media BHIB menandakan positif pertumbuhan bakteri, jika tidak terjadi kekeruhan maka hasilnya negatif.

g) Proses inokulasi pada media *Blood Agar Plate* (BAP)

1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan
  2. Nyalakan lampu spritus, lalu ambil jarum ose pijarkan di atas api kemudian dinginkan.
  3. Ambil sampel katton pada media BHIB menggunakan ose, kemudian digoreskan ke media *Blood Agar Plate* secara perlahan jangan sampai merusak media.
  4. Kemudian masukkan ke dalam inkubator dan inkubasi dengan suhu 37°C selama 1 x 24 jam.
  5. Setelah itu lakukan pengamatan pada media, jika terjadi pertumbuhan koloni pada media BAP maka positif ada bakteri, dan jika tidak terjadi pertumbuhan koloni maka hasilnya negatif, dan tidak dilanjutkan pada tahap pewarnaan gram.
- h) Pewarnaan Gram
1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
  2. Teteskan NaCL pada kaca objek.
  3. Nyalakan lampu spiritus, lalu bakar ose di atas api kemudian dinginkan. Ambil objek glass dan fiksasi di atas api.
  4. Ambil koloni pada media BAP kemudian diletakkan pada objek glass lalu ratakan menggunakan ose.
  5. Keringkan dengan cara fiksasi diatas nyala api kecil.
  6. Tetesi sediaan dengan gentian violet selama 1 menit lalu bilas dengan air mengalir.
  7. Tetesi sediaan dengan lugol selama 1 menit, lalu bilas dengan air mengalir.
  8. Genangi dengan alkohol 95 % selama 30 detik.
  9. Tetesi sediaan dengan safranin selama 1 menit lalu cuci dengan air mengalir.
  10. Keringkan lalu periksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x dengan menambahkan oil imersi.
- i) Proses inokulasi pada media *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*.
1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.

2. Nyalakan lampu spritus, lalu ambil jarum ose pijarkan di atas api kemudian dinginkan.
3. Ambil sampel pada media BAP menggunakan ose, kemudian ditusuk ke media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) secara perlahan jangan sampai merusak media dengan posisi miring.
4. Kemudian masukkan ke dalam inkubator dan inkubasi dengan suhu 37°C selama 1 x 24 jam.
5. Setelah itu, lakukan pengamatan pada media TSIA, jika terjadi perubahan warna merah, hitam, dan kuning, lalu di tandai dengan adanya gas maka positif adanya *Streptococcus sp.*

j) Uji Katalase

- 1) Letakkan setetes larutan hydrogen proksida 3 di atas objek gelas.
- 2) Ambil koloni bakteri dari media BAP dan letakkan di atas larutan hidrogen peroksida.
- 3) Homogenkan secara perlahan kemudian amati yang terjadi, jika terdapat gelembung maka bakteri tersebut jenis *Staphylococcus sp.*, sedangkan jika tidak terdapat gelembung maka bakteri tersebut jenis *Streptococcus sp.*

3) **PascaAnalitik**

a) Media *Brain-heart Infusion Broth* (BHIB)

Adanya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terjadi kekeruhan pada media.

b) Media *Blood Agar Plate* (BAP)

Adanya pertumbuhan koloni *Streptococcus sp* yaitu koloni berwarna putih keabuan dan membentuk beta hemolitik pada media BAP.

c) Pewarnaan Gram

Pada pewarnaan gram bakteri gram positif, terlihat dibawah mikroskop dengan lapang pandang berwarna ungu dan bentuk kokus berantai berwarna ungu merupakan bakteri *Streptococcus sp.*

d) Uji TSIA

1. Karbohidrat memfermentasikan keseluruhan bila butt (dasar) media berwarna kuning dan slant (lereng) media berwarna kuning, maka bersifat asam.
2. Karbohidrat tidak memfermentasikan secara keseluruhan bila butt (dasar) media berwarna merah dan slant (lereng) media berwarna merah maka bersifat basa.
3. Jika hanya memfermentasikan glukosa maka berwarna kuning bersifat asam dan jika slant (lereng) media berwarna merah bersifat basa.
4. Memfermentasikan H<sub>2</sub>S jika berwarna hitam.
5. Memfermentasikan gas bila terbentuk gas pada butt (dasar) media. Uji Katalase.

e) Pengamatan bakteri pada uji katalase yaitu :

Positif : Tidak terbentuk gelembung udara

**F. Instrument Penelitian**

Instrument yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

- 1) *Infoment Consent*
- 2) Kuesioner
- 3) Kertas catatan dan alat dokumentasi

**G. Jenis Data**

1. Data primer

Data primer adalah data yang diperoleh secara langsung dari lapangan melalui instrument pengumpulan data yang digunakan berkaitan dengan objek yang diteliti.

2. Data Sekunder

Data sekunder dalam penelitian ini merupakan data yang diperoleh dari berbagai buku, jurnal dan penelitian yang berhubungan dengan bakteri *Streptococcus sp* pada karies gigi kemudian dijadikan landasan teoritis.

## H. Pengolahan Data

Proses pengolahan data yang dilakukan untuk penelitian ini adalah:

1. Pemeriksaan data (*editing*) bertujuan untuk pengecekan data yang telah diperoleh.
2. Pengkodean data (*coding*) bertujuan untuk memberikan kode pada setiap data yang terkumpul disetiap instrument penelitian. Kegiatan ini bertujuan untuk mempermudah dalam menganalisa dan menafsirkan data.
3. Metabulasi (*tabulating*) yaitu memasukkan data yang sudah dikelompokkan kedalam tabel agar mudah untuk dipahami.

## I. Analisa Data

Analisa data merupakan Analisa yang digunakan untuk menganalisis data dengan menggambarkan data yang telah ada kemudian dikumpulkan seadanya tanpa bermaksud membuat generalisasi dan hasil penelitian. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis oleh peneliti yaitu dengan mengamati secara langsung objek yang akan diteliti, selanjutnya digambarkan secara deskriptif untuk mengetahui adanya bakteri *Streptococcus sp* pada anak SD penderita karies gigi, kemudian menentukan jenis spesies yang ada pada karis gigi.

## J. Penyajian Data

Penyajian data pada penelitian ini yaitu data yang didapatkan dari hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan penjelasan mengenai hasil yang telah didapatkan.

## K. Etika Penelitian

Ketika akan melakukan penelitian perlu adanya rekomendasi dari pihak atas dengan mengajukan permohonan izin kepada instansi tempat penelitian. setelah mendapat persetujuan barulah dilakukan penelitian dengan menekankan masalah etika terhadap penelitian yang meliputi :

- a) *Informed consent* (Penjelsan Dan Persetujuan) lembar persetujuan ini diberikan kepada responden yang akan diteliti yang memenuhi kriteria inklusi dan disertai judul penelitian dan manfaat penelitian. bila subjek

menolak maka penelitian tidak akan memaksakan kehendak dan tetap menghormati hak-hak subjek.

- b) *Anonimti* (Tanpa Nama) yaitu untuk menjaga kerahasiaan maka peneliti tidak akan mencantumkan nama responden, tetapi lembar tersebut diberikan kode.
- c) *Confidentiality* (kerahasiaan) infrom responden dijamin oleh penelitian dan hanya kelompok data tertentu yang akan dilaporkan sebagai hasil peneliti.