

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *deskriptif observasional* dengan melakukan pemeriksaan mengenai identifikasi bakteri *staphylococcus aureus* 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 Kota Kendari

2. Tempat Penelitian

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

3. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2023.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah karies gigi SD 6 Kota Kendari sebanyak 130 orang.

2. Sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah karies gigi. Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu *accidental sampling* yakni teknik pengambilan sampel yang diambil tanpa perencanaan terlebih dahulu. Jadi sampel diambil berdasarkan jumlah sampel telah memenuhi, maka pengambilan sampel dapat dihentikan.

a. Kriteria sampel

1. Kriteria inklusi

- a) Penderita karies gigi
- b) Bersedia mengikuti penelitian

- c) Bersedia menjadi responden
- 2. Kriteria eksklusi
 - a) Tidak bersedia menjadi sampel
 - b) Tidak berada ditempat
 - c) Tidak memiliki karies gigi
- b. Besar sampel

Jika jumlah populasi lebih 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. Jumlah sampel yang akan diperiksa menggunakan alat mikroskop dan dibuat apusan dari hasil isolasi dan identifikasi bakteri pada karies gigi.

D. Prosedur Pengambilan Data

Prosedur pengumpulan data dimulai dari observasi awal pengumpulan jurnal dan studi literatur yang mendukung penelitian ini. Sehingga pencatatan hasil pemeriksaan bakteri terhadap karies gigi. Data yang sudah diperoleh hasilnya dari penelitian yang sudah 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) H₂O₂ 3%
 - 6) Aquades
 - 7) Kristalviolet
 - 8) Larutan lugol
 - 9) Alkohol
 - 10) Safranin

- 11) Oil imersi
- 12) NaCl
- 13) Masker
- 14) Handscoone
- 15) Kertas label
- 16) Tissue

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. Media yang telah ditimbang, dilarutkan dengan aquades sebanyak 1000 ml didalam erlenmeyer. kemudian ditutup dengan kapas lalu homogenkan menggunakan magnetic stirrer.
3. Setelah itu, dinginkan lalu tuang kedalam tabung reaksi sebanyak 9 ml, kemudian tutup dengan kapas.

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

1. Timbang media *Blood Agar Plate* (BAP) sebanyak 24 gram.
2. Media *blood agar plate* yang telah ditimbang, dilarutkan dengan aquades sebanyak 1000 ml didalam erlenmeyer. kemudian ditutup dengan kapas lalu homogenkan menggunakan magnetic stirrer.
3. Setelah itu, dinginkan lalu tambahkan darah O sebanyak 9 ml kemudian dituang kedalam cawan petri sebanyak 20 ml .
4. 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. 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.
 3. Setelah itu, dinginkan lalu tuang kedalam tabung reaksi sebanyak 9 ml dengan posisi kemiringan 30°, 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 selajutnya 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 penanaman 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°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 penggoresan dari media *Brain-Heart Infusion Broth* (BHIB) ke media *Blood Agar Plate* (BAP)
1. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan
 2. Nyalakan lampu spiritus, lalu ambil jarum ose pijarkan di atas api kemudian dinginkan.

3. Ambil sampel swab 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. Nyalakan lampu spiritus, lalu bakar ose di atas api kemudian dinginkan. Ambil objek glass dan fiksasi di atas api.
3. Ambil koloni pada media BAP kemudian diletakkan pada objek glass lalu ratakan menggunakan ose.
4. Keringkan dengan cara fiksasi diatas nyala api kecil.
5. Sediaan yang telah kering difiksasi dan diletakkan diatas jembatan pewarnaan.
6. Cat dengan larutan karbol gentian violet selama 1 menit.
7. Zat warna dibuang, kemudian cuci dengan air mengalir.
8. Genangi dengan larutan lugol selama 1 menit.
9. Cuci dengan air.
10. Genangi dengan alkohol 95% sampai semua zat warna hilang.
11. Sediaan dicuci dengan air mengalir.
12. Genangi dengan larutan fuchsin selama 30 detik.
13. Cuci dengan air dan keringkan, kemudian periksa dibawah mikroskop dengan pembesaran objektif 100x dengan menggunakan oil imersi.

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 aureus*.

3) Pasca Analitik

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

1. Terjadi kekeruhan pada media BHIB maka bakteri tersebut positif
2. Tidak terjadi kekeruhan pada media maka bakteri tersebut negatif

b) Media *Blood Agar Plate* (BAP)

Pada media BAP koloni bakteri berwarna putih keemasan, berukuran sedang halus, beta hemolisis.

c) Pewarnaan Gram

Pada pewarnaan gram akan terlihat kokus jika berwarna ungu dan basil berwarna merah.

d) Uji Katalase

1. Positif : Terdapat gelembung udara yang menandakan bakteri jenis *Staphylococcus aureus*.
2. Negatif : Tidak terdapat gelembung udara yang menandakan tidak adanya bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah didapatkan, dikumpulkan dan diinterpretasikan ada atau tidaknya bakteri *Staphylococcus aureus*.

F. Instrumen Penelitian

Instrument yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

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

G. Jenis Data

- 1) Data Primer

Data primer adalah karies gigi yang diperoleh dari SD 6 Kota Kendari.

2) Data Sekunder

Data sekunder dalam penelitian ini merupakan data yang diperoleh dari berbagai buku, jurnal dan penelitian yang berhubungan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* 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

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara *deskriptif Observasional*. Analisa data merupakan Analisa yang dipakai untuk menganalisis data dengan menggambarkan data yang telah dikumpulkan seadaanya tanpa ada maksud membuat generalisasi dan hasil penelitian dimana analisis *Deskriptif obserfasional* dilakukan dengan melihat adanya bakteri *Staphylococcus aureus* pada karies gigi. Analisis, kemudian menentukan jenis spesies yang ada pada karies gigi tersebut.

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) *Ananomiti* (Tanpa Nama) yaitu untuk menjaga kerahasiaan maka peneliti tidak akan mencamtumkan 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.

