

**EFEKTIVITAS DISINFEKSI K-FILE TERKONTAMINASI
STAPHYLOCOCCUS AUREUS DENGAN METODE PERENDAMAN
DALAM CHLORHEXIDIN BERBAGAI KONSENTRASI DAN WAKTU**



MUH. IBRA IKHZA GUNAWAN

J011211023



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

**EFEKTIVITAS DISINFEKSI K-FILE TERKONTAMINASI
STAPHYLOCOCCUS AUREUS DENGAN METODE PERENDAMAN
DALAM CHLORHEXIDIN BERBAGAI KONSENTRASI DAN WAKTU**

MUH. IBRA IKHZA GUNAWAN

J011211023



ROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

**EFEKTIVITAS DISINFEKSI K-FILE TERKONTAMINASI
STAPHYLOCOCCUS AUREUS DENGAN METODE PERENDAMAN
DALAM CHLORHEXIDIN BERBAGAI KONSENTRASI DAN WAKTU**

MUH. IBRA IKHZA GUNAWAN

J011211023

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana
Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

Pada

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

DEPARTEMEN KONSERVASI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

SKRIPSI

EFEKTIVITAS DISINFEKSI K-FILE TERKONTAMINASI
STAPHYLOCOCCUS AUREUS DENGAN METODE PERENDAMAN
DALAM *CHLORHEXIDIN* BERBAGAI KONSENTRASI DAN WAKTU

MUH. IBRA IKHZA GUNAWAN

J011211023

Skripsi

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Pendidikan Dokter Gigi
pada 21 Maret 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
DEPARTEMEN KONSERVASI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

Mengesahkan:
Pembimbing tugas akhir,



Prof. Dr. Maria Tanumihardja,
drq.,Md.Sc
NIP. 19610216 198702 2 001

Mengetahui:
Ketua Program Studi,



Muhammad Ikbal, drq., Ph.D.,Sp.Pro.,
Subsp., BKIKG (K)
NIP. 19801021 200912 1 002

**PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "**Efektivitas Disinfeksi K-File Terkontaminasi *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Perendaman Dalam Chlorhexidin Berbagai Konsentrasi Dan Waktu**" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Prof. Dr. Maria Tanumihardja, drg., Md.Sc). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 11 Mei 2024



Nuh. Ibra Ikhza Gunawan
J011211123

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas berkat dan karunia-Nya yang senantiasa memberkati serta memberikan kelancaran dan kesehatan kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat selesai tepat pada waktunya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan terwujud tanpa dukungan, bantuan, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D. selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta seluruh sivitas akademik atas bantuannya selama penulis menempuh pendidikan.
2. Prof. Dr. Maria Tanumihardja, drg., Md.Sc. selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing serta memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi hingga selesai.
3. Nurhayaty Natsir, drg., Ph.D., Sp.KG., Subsp KR(K) dan Dr. Hafsa Khatu, drg., M.Kes selaku dosen penguji skripsi saya yang telah memberikan kritik, saran, dan arahan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Pak Markus, M.Si atas kebaikan dan dukungannya kepada penulis dalam menjalankan penelitiannya.
5. Kepada kedua orangtua penulis, Ismawati dan Gunawan, serta ketiga saudara penulis, Muh. Abrar Ichsan Gunawan, Puteri Gadiza Gunawan, Puteri Gaita Gunawan Saya mengucapkan terima kasih kepada mereka atas pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan.
6. Sahabat terdekat saya, Bangkala Raya (Lajors, Latrol, Laalwan, Larifqy, Laraffy, Ladion, Laakil, Larama, Lahendra) saya mengucapkan terima kasih banyak atas banyak dukungan dan menjadi orang yang selalu menemani saya selama berada di perantauan.
7. Badboys FKG 2021
8. Teman seperbimbingan Sartika dan Khaerunisa Hasan yang telah berjuang sama-sama dalam menyelesaikan skripsi.
9. MAMAT (Muh. Tegar, Rahmat Abadan, Khalik Gibran). Terima kasih karena sudah membantu membentuk karakter kepada penulis hingga saat ini.
10. Teman Hidup Cahyani Faza terima kasih karena membantu penulis dalam memberikan waktu dan saran kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.

Penulis,

Muh. Ibra Ikhza Gunawan

ABSTRAK

MUH. IBRA IKHZA GUNAWAN. **Efektivitas Disinfeksi K-File Terkontaminasi *Staphylococcus Aureus* Dengan metode Perendaman Dalam *Chlorhexidine* Berbagai Konsentrasi Dan Waktu** (pembimbing Prof. Dr. Maria Tanumihardja drg., Md.Sc)

Latar Belakang: Prosedur endodontik memiliki prinsip *triad endodontik*. Beberapa penelitian, menunjukkan penggunaan K-File pada preparasi saluran akar berisiko terkontaminasi bakteri. *Chlorhexidine gluconate* merupakan salah satu bahan disinfektan yang sering digunakan untuk menghilangkan bakteri pada K-File karena memiliki sifat anti bakterisida. Konsentrasi yang sering digunakan adalah 0,2% hingga 5% tetapi data terbatas tentang konsentrasi lama waktu *chlorhexidine gluconate* yang digunakan **Tujuan:** Mengetahui efektivitas perendaman K-File dalam 0,5%, 1% dan 2% *chlorhexidine gluconate* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* **Metode:** Identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram dan dilakukan proses kontaminasi bakteri terhadap K-file. Kemudian, dipindahkan ke dalam 3 kelompok masing-masing 0,5%, 1%, dan 2%. dan dilakukan pengulangan. **Hasil:** Jumlah CFU setelah perendaman *chlorhexidine gluconate* 0,5%, 1%, dan 2% selama 5 menit dan 10 menit adalah 0 CFU. Kesimpulan: *chlorhexidine gluconate* berbagai konsentrasi efektif mengeliminasi bakteri *Staphylococcus aureus* baik pada perendaman 5 menit maupun pada perendaman 10 menit.

Kata Kunci: *chlorhexidine gluconate*, K-File, disinfeksi, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

MUH. IBRA IKHZA GUNAWAN. ***Effectiveness Of Disinfection Of K-Files Contaminated With Staphylococcus Aureus By Immersion Methods As Different Concentrations And Times*** (supervised by Prof. Dr. Maria Tanumihardja drg., Md.Sc)

Background: Endodontic procedures follow the principle of the endodontic triad. Several studies have shown that the use of K-Files in root canal preparation carries a risk of bacterial contamination. Chlorhexidine gluconate is a disinfectant often used to kill bacteria on K-Files because it has antibactericidal properties. The concentration often used is 0.2% to 5% but data on the concentration of chlorhexidine used varies.

Objective: To determine the effectiveness of chlorhexidine gluconate soak on the growth of *Staphylococcus aureus* using 0.5%, 1% and 2% chlorhexidine gluconate.

Method: Identification of bacteria by Gram staining and bacterial contamination of the K files produced. Then all concentrations divided into several groups and repeated. For chlorhexidine gluconate, it was moved to 3 groups of 0.5%, 1% and 2% respectively. **Results:** The CFU count after soaking in 0.5%, 1%, and 2% chlorhexidine gluconate for 5 minutes and 10 minutes was 0 CFU. **Conclusion:** Chlorhexidine gluconate in various concentrations is effective in eliminate *Staphylococcus aureus* bacteria both in 5 minute and 10 minute soaking.

Keywords: chlorhexidine gluconate, K-Files, Disinfection, *Staphylococcus aureus*

DAFTAR ISI

SKRIPSI	Kesalahan! Bookmark tidak ditentukan.
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.3.1 Tujuan Umum	2
1.3.2 Tujuan Khusus.....	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.4.1 Manfaat Umum	2
1.4.2 Manfaat Khusus.....	3
BAB II METODE PENELITIAN	4
2.1 Jenis Penelitian	4
2.2 Rancangan Penelitian	4
2.3 Tempat Penelitian	4
2.4 Waktu Penelitian	4
2.5 Variabel Penelitian	4
2.6 Definisi Operasional Variabel.....	4
2.7 Sampel Penelitian	5
2.8 Alat dan Bahan.....	5
2.8.1 Alat	5
2.8.2 Bahan	5

2. 9	Prosedur Kerja	6
2.9.1	Prosedur Identifikasi Bakteri Biakan <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.9.2	Prosedur Kontaminasi K-file dengan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan Pembuatan Sampel Kontrol Negatif	6
2.9.3	Prosedur Disinfeksi dalam perendaman <i>Chlorhexidine Gluconate</i> 0,5%, 1%, dan 2%	6
2.9.4	Prosedur Inkubasi dan Perhitungan Bakteri	7
2. 10	Alur Penelitian	8
BAB III	HASIL PENELITIAN	9
3.1	Uji Deskriptif	11
BAB IV	PEMBAHASAN	12
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	14
5.1	Kesimpulan	14
5.2	Saran	14
DAFTAR PUSTAKA	15
LAMPIRAN	18

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.9 Prosedur Kerja.....	6
Gambar 2.10 Alur Penelitian.....	8
Gambar 3.1 Hasil Inkubasi 48 Jam.....	9

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (cfu) yang terbentuk pada permukaan BAP setelah inkubasi 48 jam.....	10
Tabel 3.2 Hasil uji deskriptif perbandingan efektifitas waktu perendaman <i>chlorhexidine gluconate</i> selama 5 menit dan 10 menit.....	11

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian.....	19
Lampiran 2. Rekomendasi Etik Penelitian.....	20
Lampiran 3. Etik Penelitian.....	21
Lampiran 4. Undangan Seminar Hasil.....	23
Lampiran 5. Kartu Kontrol Skripsi.....	25
Lampiran 6. Data Hasil SPSS.....	26
Lampiran 7. Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	27
Lampiran 8. Daftar Riwayat Hidup.....	28
Lampiran 9. Rincian Biaya Penelitian.....	29

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit gigi dan mulut menjadi salah satu masalah kesehatan yang paling banyak terjadi di dunia, khususnya Indonesia. Karies merupakan masalah yang sering menyerang masyarakat, yang ketika tidak dilakukan pencegahan maka akan menjadi penyakit pulpa. Penyakit pulpa dan periapikal hanya bisa ditangani dengan perawatan kuratif yaitu prosedur endodontik yang bertujuan merawat seluruh sistem saluran akar, menghilangkan mikroorganisme, serta mencegah terjadinya infeksi sekunder. Perawatan saluran akar (PSA) memiliki prinsip triad endodontic, yaitu cleaning, shaping, dan filling.

Kegagalan perawatan saluran akar (PSA) dapat terjadi karena bakteri menginfeksi kembali saluran akar akibat obturasi tidak hermetis, perforasi akar, resorpsi akar eksternal, overfilling dari PSA atau kontaminasi bakteri pada instrument K-File yang digunakan. Indikator lain yang menjadi kegagalan perawatan saluran akar juga bergantung pada sterilisasi dari instrument yang digunakan.

Berdasarkan penelusuran pustaka melaporkan bakteri *Staphylococcus aureus* menjadi salah satu bakteri yang paling banyak mengkontaminasi instrument dan material kedokteran gigi, khususnya pada prosedur perawatan saluran akar gigi. Hal ini didukung oleh penelitian Merdad yang melaporkan 9 dari 25 sampel K-file baru telah terkontaminasi bakteri. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kambaya PP et al (2021), didapatkan bahwa bakteri yang banyak berinfiltrasi di saluran akar yaitu *Staphylococcus Aureus* (15%),⁶ yang menjadi salah satu kelompok bakteri gram positif yang bersifat oportunistis, yang dapat menyebabkan peradangan, infeksi, dan bahkan nekrosis pada jaringan tubuh manusia.

Berdasarkan Guideline for Environmental Infection Control in Health- Care Facilities, proses pembersihan terbagi menjadi tiga kategori, yaitu Critical item, Semicritical item dan Non critical item. Instrumen yang masuk ke jaringan tubuh yang berisiko terjadi infeksi jika terkontaminasi mikroorganisme merupakan Critical items, salah satu contoh K-File. Oleh karena itu, disinfeksi alat khususnya pada saat prosedur endodontik perlu diperhatikan.

Disinfeksi merupakan tindakan yang dilakukan untuk mengurangi organisme patogen dengan metode fisik atau kimia yang dilakukan terhadap benda mati, sedangkan disinfektan merupakan zat yang digunakan untuk mengeliminasi mikroorganisme. Bahan yang digunakan untuk disinfeksi instrument endodontik sebelum disterilkan yang biasanya digunakan, yaitu chlorhexidine, alcohol, dan povidone-iodine.¹⁰ Chlorhexidine sering digunakan karena memiliki sifat bakterisida yang mampu mengeliminasi mikroorganisme. Konsentrasi yang sering digunakan untuk disinfektan yaitu 2% hingga 5%. Penelitian yang dilakukan oleh Indrawan K et al (2015) menunjukkan bahwa chlorhexidine 2% memiliki exposure yang lebih pendek, dan dapat digunakan untuk situasi yang lebih darurat terhadap *staphylococcus*.¹² Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Hakimian FA et al (2021) bahwa chlorhexidine mampu mengeliminasi mikroorganisme patogen yang ada.

Disinfeksi perendaman yang dilakukan sebelum proses sterilisasi sudah diterapkan di klinik gigi. Berdasarkan hasil konsultasi dengan dokter gigi, waktu yang sering digunakan untuk perendaman instrument K-file dengan bahan disinfektan

adalah 10-20 menit. Hal ini didukung oleh penelitian Alqarni et al (2022) menunjukkan bahwa chlorhexidine gluconate efektif untuk mendisinfeksi mikroorganisme gram positif dan gram negative dengan metode perendaman 10 menit. Variasi waktu perendaman yang dilaporkan membuat penulis tertarik untuk meneliti durasi waktu terbaik untuk mengeliminasi bakteri staphylococcus.

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai variasi waktu yang paling efektif untuk disinfeksi K-file dengan metode perendaman chlorhexidine 0,5%, 1%, dan 2%.

1.2 Rumusan Masalah

Berapa lama waktu perendaman dengan chlorhexidine gluconate dengan konsentrasi untuk mensterilkan instrument K-file yang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menghitung efektifitas konsentrasi waktu perendaman dengan chlorhexidine gluconate terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam *chlorhexidine gluconate* 0,5% selama 5 menit
- b. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam *chlorhexidine gluconate* 0,5% selama 10 menit
- c. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam *chlorhexidine gluconate* 1% selama 5 menit
- d. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam *chlorhexidine gluconate* 1% selama 10 menit
- e. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam *chlorhexidine gluconate* 2% selama 5 menit
- f. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam *chlorhexidine gluconate* 2% selama 10 menit
- g. Membandingkan jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam *chlorhexidine gluconate* dengan durasi waktu berbeda.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Umum

Manfaat teoritis dari penelitian ini adalah sebagai kontribusi teori ilmiah dalam menjelaskan efektifitas waktu perendaman *chlorhexidine gluconate* terhadap jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus*

1.4.2 Manfaat Khusus

- a. Memberikan informasi pengetahuan di bidang konservasi gigi mengenai keefektifan zat non-pengoksidasi berupa chlorhexidine gluconate 0,5%, 1%, dan 2% dalam mendisinfeksi instrument file endodontik.
- b. Memberikan kontribusi ilmiah untuk penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan metode disinfeksi yang lebih efektif dalam mendisinfeksi instrument K-file endodontik.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan eksperimental laboratoris.

2.2 Rancangan Penelitian

Desain penelitian ini menggunakan pre-test dan post-test with time series design.

2.3 Tempat Penelitian

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

2.4 Waktu Penelitian

Bulan Februari 2024.

2.5 Variabel Penelitian

- a. Variabel independent : chlorhexidine gluconate 0,5%, 1%, dan 2%
- b. Variabel dependen : jumlah CFU (colony forming unit) bakteri *Staphylococcus aureus*

2.6 Definisi Operasional Variabel

- a. K-File merupakan instrument endodontik sekali pakai, dibeli secara online yang dikontaminasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- b. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang didapatkan (dibiakkan) dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- c. Chlorhexidine gluconate 0,5% merupakan cairan disinfeksi yang diperoleh dari merk One Med Health Care PT. Jayamas Medica Industri Indonesia melalui pengenceran ($M1V1=M2V2$) chlorhexidine gluconate dengan konsentrasi diambil sebanyak 1 cc dilarutkan dengan akuades sebanyak 4 cc dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- d. Chlorhexidine gluconate 1% merupakan cairan disinfeksi yang diperoleh dari Chlorhexidine gluconate 2% merk One Med Health Care PT. Jayamas Medica Industri Indonesia melalui pengenceran ($M1V1=M2V2$) chlorhexidine gluconate dengan konsentrasi diambil sebanyak 1 cc dilarutkan dengan akuades sebanyak 2 cc dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- e. Chlorhexidine gluconate 2% merupakan cairan disinfeksi merk One Med Health Care dibeli dari PT. Jayamas Medica Industri Indonesia.
- f. CFU adalah satuan jumlah koloni unit sel bakteri yang dihitung langsung dari yang terbentuk pada permukaan BAP.
- g. Kriteria objektif disinfektan menurut Krisnawati, Isnawati & Darmiah (2018) disinfektan dikatakan efektif jika dapat menurunkan total bakteri sebesar $\geq 89\%$. Sangat efektif jika dapat menurunkan total bakteri sebesar $\geq 99\%$.

2.7 Sampel Penelitian

Uji disinfeksi instrument K-file yang terkontaminasi bakteri *Staphlococcus aureus* ini akan dibagi menjadi 9 kelompok, sebagai berikut:

- a. Kelompok 0: K-file terkontaminasi bakteri *Staphlococcus aureus* yang tidak dilakukan perendaman chlorhexidine gluconate (kontrol negatif)
- b. Kelompok 1: Disinfeksi K-file terkontaminasi bakteri *Staphlococcus aureus* dengan perendaman chlorhexidine gluconate 0,5%
- c. Kelompok 2: Disinfeksi K-file terkontaminasi bakteri *Staphlococcus aureus* dengan perendaman chlorhexidine gluconate 1%
- d. Kelompok 3: Disinfeksi K-file terkontaminasi bakteri *Staphlococcus aureus* dengan perendaman chlorhexidine gluconate 2%

2.8 Alat dan Bahan

2.8.1 Alat

- a. *Blood Agar Plate* (BAP)
- b. Cawan petri
- c. *Coloni counter*
- d. Mikroskop
- e. K-File
- f. Inkubator
- g. Tabung reaksi
- h. Autoklaf
- i. Wadah *stainless* bulat
- j. Ose
- k. Bunsen
- l. Pinset
- m. Sikat
- n. Alat Tulis
- o. Label
- p. Handuk GM
- q. *Vortex mixer*
- r. *Stirring rod triangle*

2.8.2 Bahan

- a. *Chlorhexidine gluconate* 0,5%, 1%, dan 2%
- b. Bakteri biakan *Staphylococcus aureus*
- c. *Blood agar plate*
- d. Larutan fisiologis
- e. Cairan kristal violet
- f. Cairan mordant
- g. Spiritus

2.9 Prosedur Kerja



Gambar 2. 9 Prosedur kerja (Sumber: ilustrasi peneliti)

2.9.1 Prosedur Identifikasi Bakteri Biakan *Staphylococcus aureus*

Prosedur identifikasi bakteri menggunakan metode pewarnaan gram. Kemudian, larutan KOH 3% ditetaskan di atas kaca preparat sebanyak 1 tetes dengan memakai jarum ose yang dilakukan berdekatan dengan bunsen agar tetap steril, selanjutnya bakteri *Staphylococcus aureus* diletakkan pada larutan KOH 3% dan dibiarkan hingga mengering. Kemudian, preparat ditetesi dengan cairan pewarna kristal violet secara merata dan dibiarkan selama 45 detik hingga 1 menit, selanjutnya preparat dibilas dengan air mengalir dan dimiringkan. Setelah itu, dilakukan proses identifikasi dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 40X.

2.9.2 Prosedur Kontaminasi K-file dengan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Pembuatan Sampel Kontrol Negatif

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diidentifikasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan fisiologis dengan menggunakan jarum ose. Setelah dilakukan pengenceran didapatkan jumlah CFU awal sebanyak 300 CFU. K-file disterilisasi menggunakan bunsen untuk menjaga sterilisasi dan masukkan pada tabung reaksi berisi larutan fisiologis dan bakteri biakan *Staphylococcus aureus* menggunakan pinset dan dидiamkan selama 5 menit untuk proses kontaminasi bakteri, biakan *Staphylococcus aureus* dipindahkan ke dalam BAP dengan menggunakan pipet tetes sebanyak 1,5 ml untuk sampel kontrol negatif. Selanjutnya, BAP diratakan menggunakan *stirring rod triangle* dan disimpan untuk diinkubasikan selama 48 jam dengan suhu 37°C. Setiap perlakuan dilakukan berdekatan dengan bunsen agar tetap steril.

2.9.3 Prosedur Disinfeksi dalam perendaman *Chlorhexidine Gluconate* 0,5%, 1%, dan 2%

Hal pertama yang dilakukan yaitu menyiapkan tabung reaksi steril sebanyak 6 buah yang telah diberikan kode sampel. Selanjutnya K-file yang telah terkontaminasi bakteri biakan *Staphylococcus aureus* yang akan didisinfeksi, dipindahkan pada tabung reaksi berisi *chlorhexidine gluconate* 0,5%, 1%, dan 2%, kemudian divibrasi menggunakan *vortex mixer* agar disinfektan merata disetiap ulir K-file. Setelah itu, tabung reaksi berisi *chlorhexidine gluconate* 0,5%, 1%, dan 2% dидiamkan berdasarkan waktu yang telah ditentukan yaitu 5 menit dan 10 menit. Setelah

memenuhi waktu yang ditentukan, cairan yang berada di tabung reaksi dipindahkan menggunakan pipet tetes sebanyak 1,5 ml ke dalam BAP sesuai label penanda, kemudian BAP diratakan dengan *stirring rod triangle* dan disimpan untuk proses inkubasi.

2.9.4 Prosedur Inkubasi dan Perhitungan Bakteri

BAP yang berisi sampel kontrol negatif dan kontrol positif diinkubasi menggunakan incubator selama 48 jam pada suhu 37°C. Hasil inkubasi BAP dihitung secara langsung dari koloni bakteri yang terbentuk pada BAP tersebut.

2. 10 Alur Penelitian

