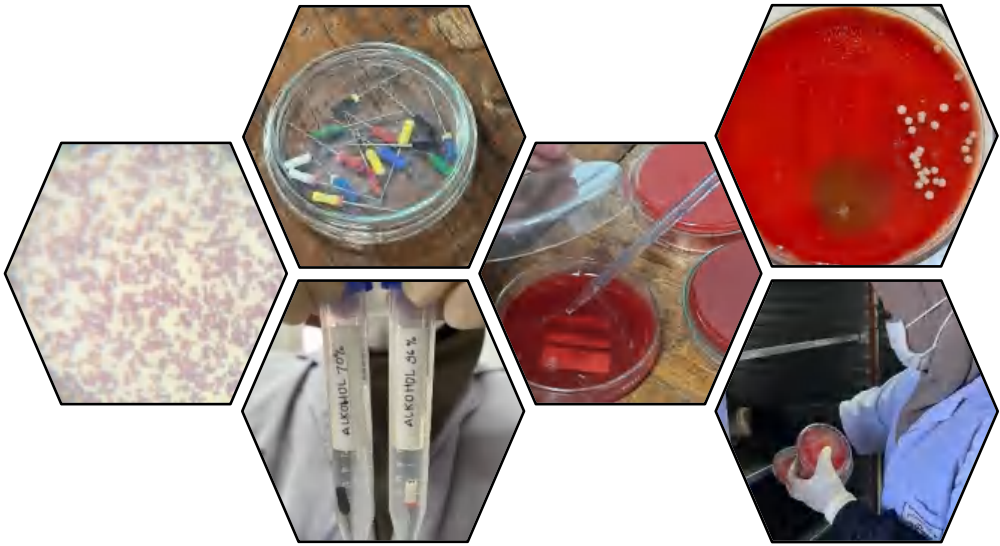


**EFEKTIVITAS DISINFEKSI K-FILE TERKONTAMINASI  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DENGAN METODE PERENDAMAN  
DALAM ALKOHOL 70% DAN 96% DALAM BERBAGAI WAKTU**



**SARTIKA**

**J011211128**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**EFEKTIVITAS DISINFEKSI K-FILE TERKONTAMINASI  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DENGAN METODE PERENDAMAN  
DALAM ALKOHOL 70% DAN 96% DALAM BERBAGAI WAKTU**

**SARTIKA  
J011211128**



**ROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**EFEKTIVITAS DISINFEKSI K-FILE TERKONTAMINASI  
STAPHYLOCOCCUS AUREUS DENGAN METODE PERENDAMAN  
DALAM ALKOHOL 70% DAN 96% DALAM BERBAGAI WAKTU**

SARTIKA

J011211128

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 ALKOHOL 70% DAN 96% DALAM BERBAGAI WAKTU**

**SARTIKA**

**J011211128**

Skripsi

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Pendidikan Dokter Gigi  
pada 26 Juni 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,



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

.. Md.Sc.  
8702 2 001

Mengetahui:  
Ketua Program Studi,



Muhammad Iqbal, drg., Ph.D, Sp.Pro (K)  
NIP. 198010212 000912 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 Alkohol 70% Dan 96% Dalam Berbagai 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, 26 Juni 2024



Sartika

J011211128



## 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 kemampuan 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. Dr. Juni Jekti Nugroho, drg., Sp.KG., Subsp.KE(K). dan Wahyuni Suci Dwiandhany, drg., ph.D., Sp.KG., Subsp.KR(K). selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penyusunan skripsi ini.
4. Pak Markus, M.Si atas kebaikan dan dukungannya kepada penulis dalam menjalankan penelitiannya.
5. Kedua orang tua tercinta penulis, Bapak Abd. Fatta dan Ibu Murni, atas doa, pengorbanan, motivasi, dan dukungan yang luar biasa tak ternilai untuk penulis selama menempuh pendidikan hingga dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
6. Saudara terkasih, Kak Satriadi, Kak Sundari, Kak Serkawi, Kak Fitria dan Kak Serlinda yang selalu mendoakan serta memberikan dukungan kepada penulis selama menempuh pendidikan.
7. Segenap keluarga besar seperjuangan Inkremental 2021.
8. Teman seperbimbingan Muh. Ibra Ikhza Gunawan dan Khaerunisa Hasan yang telah berjuang sama-sama dalam menyelesaikan skripsi.
9. Teman seperjuangan ikatan cinta Nabila, Azizah dan Baiq Putri yang selalu memberikan motivasi, dukungan, serta membantu penulis selama menempuh pendidikan.
10. Teman alumni SMAN 5 Parepare, khususnya Marugame Club Umma dan Rani yang selalu memberi dukungan dan bantuan kepada penulis selama menempuh pendidikan.
11. Teman alumni UPT SMP Negeri 3 Pitu Riase, khususnya teman DBS Putry, ..., Upi, Appi dan Pika yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis selama menempuh pendidikan.



Penulis,

Sartika

## ABSTRAK

SARTIKA. Efektivitas Disinfeksi K-File Terkontaminasi *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Perendaman Dalam Alkohol 70% Dan 96% Dalam Berbagai Waktu (dibimbing oleh Prof. Dr. Maria Tanumihardja, drg., Md.Sc.).

**Latar Belakang:** Perawatan endodontik meliputi tiga tahapan penting, yaitu *cleaning*, *shaping* dan *filling*. Keberhasilan dari perawatan endodontik bergantung pada aspek selama dan setelah perawatan. Selama proses perawatan, penggunaan instrumen dapat berisiko terkontaminasi bakteri. Untuk menghindari potensi kegagalan perawatan, instrumen yang digunakan harus bebas dari mikroba sebelum dimasukkan ke dalam saluran akar dengan cara disinfeksi. **Tujuan:** Mengevaluasi efektivitas perendaman K-File dalam alkohol yang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus*. **Metode:** Identifikasi bakteri dengan pewarnaan gram dan dilakukan proses pengenceran sehingga didapatkan jumlah CFU awal sebanyak 300 CFU. Setelah itu, dilakukan proses kontaminasi bakteri terhadap K-File. Selanjutnya, dialokasikan dalam beberapa kelompok dan dilakukan pengulangan beberapa kali. Untuk alkohol, dialokasikan 2 kelompok masing-masing 70% dan 96%. **Hasil:** Jumlah CFU setelah perendaman alkohol 70% selama 5 menit, 10 menit dan 15 menit adalah 28 CFU, 5 CFU dan 0 CFU; alkohol 96% selama 5 menit, 10 menit dan 15 menit adalah 5 CFU, 1 CFU dan 0 CFU. **Kesimpulan:** Alkohol 70% dan 96% efektif mengeliminasi 100% CFU bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengkontaminasi K-file dengan lama perendaman 15 menit.

**Kata Kunci:** K-file, disinfeksi, alkohol, *Staphylococcus aureus*



## ABSTRACT

SARTIKA. Effectiveness of Disinfection of Staphylococcus Aureus Contaminated K-Files by Soaking Method in 70% and 96% Alcohol at Various Times (supervised by Prof. Dr. Maria Tanumihardja, drg., Md.Sc.).

**Background:** Endodontic treatment includes three important stages, namely cleaning & shaping, disinfection and filling. During the treatment process, the use of instruments can be at risk of bacterial contamination. To avoid the potential for breaking the aseptic chain and treatment failure, the instruments used must be free from microbes before being inserted into the root canal by disinfection. **Objective:** To evaluate the effectiveness of soaking K-Files in 70% And 96% alcohol through the number of CFU of Staphylococcus aureus bacteria. **Method:** Bacteria were identified using gram staining and a dilution process was carried out to obtain an initial CFU count of 300 CFU. Next, bacterial contamination process was carried out on the K-File, allocated into several groups and repeated several times. For alcohol, 2 groups were allocated, 70% and 96% respectively. **Result:** The number of CFU after immersion in 70% alcohol for 5 minutes, 10 minutes and 15 minutes was 28 CFU, 5 CFU and 0 CFU; 96% alcohol for 5 minutes, 10 minutes and 15 minutes is 5 CFU, 1 CFU and 0 CFU. **Conclusion:** Alcohol 70% and 96% effectively eliminates 100% CFU of K-file contaminated Staphylococcus aureus bacteria with a soaking time of 15 minutes.

**Keywords:** K-File, disinfection, alcohol, Staphylococcus aureus





## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN PENGAJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH .....	v
ABSTRAK .....	vi
<i>ABSTRACT</i> .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
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
<b>BAB II METODE PENELITIAN.....</b>	<b>4</b>
.....	4
.....	4
.....	4
.....	4
.....	4



2.6	Variabel Penelitian .....	4
2.7	Definisi Operasional Variabel .....	4
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.....	6
2.9.2	Prosedur Kontaminasi K-file Dengan Bakteri.....	6
2.9.3	Prosedur Disinfeksi Dengan Perendaman Alkohol.....	6
2.9.4	Prosedur Inkubasi dan Perhitungan Bakteri .....	7
2.10	Alur Penelitian .....	8
BAB III HASIL PENELITIAN.....		9
3.1	Uji Statistik Deskriptif .....	11
3.2	Uji Normalitas Data .....	11
3.3	Uji Homogenitas.....	12
3.4	Uji Hipotesis .....	12
BAB IV PEMBAHASAN.....		14
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....		16
5.1	Kesimpulan .....	16
5.2	Saran.....	16
DAFTAR PUSTAKA .....		17
LAMPIRAN.....		19



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 9 Prosedur kerja .....	6
Gambar 2. 10 Bagan alur penelitian .....	88
Gambar 3. 1 Hasil inkubasi 48 jam; a.kontrol negatif (-); b. alkohol 70% perendaman 5 menit; c. alkohol 70% perendaman 10 menit; d. alkohol 70% perendaman 15 menit; e. alkohol 96% perendaman 5 menit; f. alkohol 96% perendaman 10 menit; g. alkohol 96% perendaman 15 menit.....	100



## DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Hasil perhitungan jumlah CFU bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> yang terbentuk pada permukaan BAP setelah inkubasi 48 jam.....	100
Tabel 3. 2 Jumlah persentase penurunan CFU bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> setelah perendaman alkohol 70%.....	100
Tabel 3. 3 Jumlah persentase penurunan CFU bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> setelah perendaman alkohol 96%.....	100
Tabel 3. 4 Jumlah CFU <i>Staphylococcus aureus</i> yang terbentuk pada BAP setelah perendaman dalam alkohol 70% dan 96% .....	111
Tabel 3. 5 Hasil uji normalitas data jumlah CFU <i>Staphylococcus aureus</i> yang terbentuk pada BAP setelah perendaman dalam alkohol 70% dan 96%..	122
Tabel 3. 6 Hasil uji homogenitas jumlah CFU <i>Staphylococcus aureus</i> yang terbentuk pada BAP setelah perendaman dalam alkohol 70% dan 96%..	122
Tabel 3. 7 Hasil uji normalitas data jumlah CFU <i>Staphylococcus aureus</i> yang terbentuk pada BAP setelah perendaman dalam alkohol 70% dan 96%..	133



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian .....	20
Lampiran 2. Rekomendasi Etik Penelitian .....	21
Lampiran 3. Etik Penelitian.....	22
Lampiran 4. Undangan Seminar Hasil .....	24
Lampiran 5. Kartu Kontrol Skripsi .....	26
Lampiran 6. Data Hasil SPSS .....	27
Lampiran 7. Dokumentasi Kegiatan Penelitian .....	28
Lampiran 8. Daftar Riwayat Hidup .....	29
Lampiran 9. Rincian Biaya Penelitian .....	30



## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penanganan penyakit pulpa dan periapikal dapat dilakukan dengan perawatan kuratif yaitu perawatan endodontik untuk menghilangkan mikroorganisme yang terdapat di saluran akar. Perawatan endodontik meliputi tiga tahapan penting, yaitu *cleaning*, *shaping* dan *filling* (Widy and Muryani, 2020). Keberhasilan perawatan endodontik bergantung pada aspek selama dan setelah perawatan. Selama proses perawatan, penggunaan instrumen dapat berisiko terkontaminasi bakteri. Penelitian tahun 2022 menunjukkan 9 dari 25 sampel K-File baru dari produsen telah terkontaminasi oleh bakteri (Merdad and Alghamdi, 2022). Penelitian tahun 2021 melaporkan beberapa jenis bakteri yang biasanya mengkontaminasi instrumen dental di klinik gigi adalah *Bacillus subtilis*, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* (Tonello *et al.*, 2022).

Berdasarkan penelusuran pustaka, bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu jenis bakteri yang ditemukan mengkontaminasi instrumen dan material kedokteran gigi. *Staphylococcus aureus* menjadi salah satu kelompok bakteri gram positif yang bersifat oportunistik yang dapat menyebabkan peradangan, infeksi, dan bahkan nekrosis pada jaringan tubuh manusia (Nur Khairunnisa *et al.*, 2023). Pada perawatan saluran akar, bakteri *Staphylococcus aureus* berperan besar dalam etiologi infeksi endodontik primer dan infeksi persisten (Zan *et al.*, 2015). Oleh karena itu, sangat penting untuk membangun dan mempertahankan rantai aseptik selama perawatan endodontik untuk menghindari potensi kegagalan perawatan, dan instrumen yang digunakan harus bebas dari mikroba sebelum dimasukkan ke dalam saluran akar dengan cara disinfeksi (Merdad and Alghamdi, 2022).

Berbagai bahan digunakan untuk mendisinfeksi instrumen endodontik sebelum disterilkan antara lain *chlorhexidine*, alkohol, dan *povidone-iodine* (Yoo, 2018). Alkohol sering digunakan karena memiliki sifat yang stabil, diindikasikan untuk permukaan yang kecil, tidak merusak material, dan dapat dibiodegradasi. Alkohol efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, dan konsentrasi yang umum digunakan sebagai disinfektan adalah alkohol 70% dan alkohol 96% (Adji, Zuliyanti and Larashanty, 2007). Penelitian yang dilakukan pada tahun 2021, menyatakan disinfektan yang mengandung alkohol efektif dalam menghambat pertumbuhan patogen yang resisten seperti *Staphylococcus aureus* (Nurjannah *et al.*, 2021). Sebaliknya, penelitian tahun 2020



urang efektif bila dilakukan dengan teknik penyemprotan dalam ruangan yang terkontaminasi bakteri sehingga dianjurkan dengan teknik perendapan untuk hasil yang lebih efektif (Al Shikh and Milosevic, 2020). Penelitian tahun 2021 melaporkan instrumen yang digunakan untuk perawatan saluran akar yang terkontaminasi dengan bakteri dalam alkohol selama 10 menit untuk disinfeksi (Chakraborty,

Berdasarkan uraian diatas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai efektivitas alkohol 70% dan 96% dalam mendisinfeksi K-file dengan metode perendaman selama 5 menit, 10 menit dan 15 menit.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan, maka dirumuskan masalah sebagai berikut:

Bagaimana efektivitas alkohol 70% dan alkohol 96% dalam mendisinfeksi K-file yang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus*, menggunakan metode perendaman 5 menit, 10 menit dan 15 menit.

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengevaluasi efektivitas disinfeksi instrumen endodontik K-file yang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan alkohol.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam alkohol 70% selama 5 menit.
- b. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam alkohol 70% selama 10 menit.
- c. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam alkohol 70% selama 15 menit.
- d. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam alkohol 96% selama 5 menit.
- e. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam alkohol 96% selama 10 menit.
- f. Menghitung jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam alkohol 96% selama 15 menit.
- g. Membandingkan jumlah CFU bakteri *Staphylococcus aureus* pada K-file setelah perendaman dalam alkohol 70% dan alkohol 96%.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Umum

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan data dan informasi waktu yang paling efektif dalam mendisinfeksi instrumen kontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode 70% dan alkohol 96%.



#### 1.4.2 Manfaat Khusus

- a. Memberikan informasi pengetahuan di bidang konservasi gigi mengenai keefektifan disinfeksi zat non-pengoksidasi berupa alkohol 70% dan alkohol 96% dalam mendisinfeksi instrumen file endodontik.
- b. Memberikan dasar ilmiah untuk penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan metode disinfeksi yang lebih efektif dalam mendisinfeksi instrumen file endodontik.





## BAB II METODE PENELITIAN

### 2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium.

### 2.2 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan *pre-test* dan *post-test with time series design*.

### 2.3 Lokasi Penelitian

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

### 2.4 Waktu Penelitian

Februari 2024

### 2.5 Sampel Penelitian

Uji disinfeksi instrumen K-file yang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* ini akan dibagi menjadi 3 kelompok, sebagai berikut:

- a. Kelompok I: K-file terkontaminasi yang tidak dilakukan perendaman alkohol (kontrol negatif)
- b. Kelompok II: K-file terkontaminasi yang dilakukan perendaman dengan alkohol 70%
- c. Kelompok III: K-file terkontaminasi yang dilakukan perendaman dengan alkohol 96%

### 2.6 Variabel Penelitian

- a. Variabel independen : alkohol 70% dan 96%.
- b. Variabel dependen : jumlah CFU (colony forming unit) bakteri *Staphylococcus aureus*.

### 2.7 Definisi Operasional Variabel

- a. K-file adalah instrumen endodontik sekali pakai, dibeli dari toko online kemudian dikontaminasikan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode perendaman.

- b. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri biakan yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.



adalah cairan disinfeksi berwarna bening merk *One Med Health layamas Medica Industri Indonesia*, yang diperoleh dari Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. adalah cairan disinfeksi berwarna bening merk *One Med Health layamas Medica Industri Indonesia*, yang diperoleh dari Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

- e. CFU adalah satuan jumlah koloni sel bakteri yang dihitung langsung dari yang terbentuk pada permukaan BAP.

Kriteria Objektif:

- a) Keputusan Menteri Kesehatan RI No:1204/MENKES/SK/X/2004 tentang persyaratan kesehatan lingkungan rumah sakit, nilai ambang batas maksimum dari jumlah kuman total pada alat medis  $\leq 10$  CFU (Sulistiyo and Dharminto, 2017).
- b) Pada penelitian tahun 2018 menganalisis bahwa disinfektan efektif jika dapat menghambat bakteri sebesar  $\geq 89\%$  (Krisnawati *et al.*, 2018).
- c) Pada penelitian tahun 2013 menganalisis bahwa disinfeksi sangat efektif jika dapat mengeliminasi bakteri sebesar  $\geq 99,9\%$  (Sari, Widjiastuti and Setyabudi, 2013).

## 2.8 Alat dan Bahan

### 2.8.1 Alat

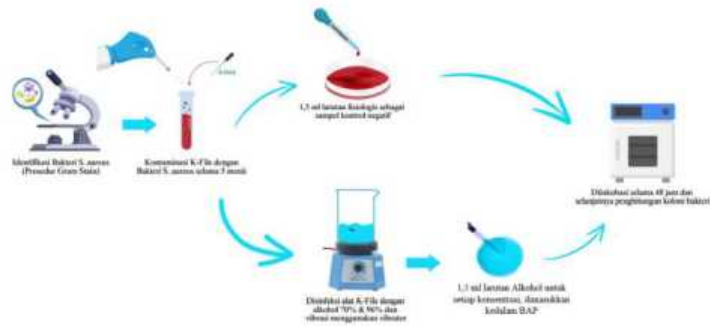
- a. K-file
- b. Jarum ose
- c. Kaca preparat
- d. Tabung reaksi
- e. Pipet tetes
- f. Inkubator
- g. *Vortex mixer*
- h. Pinset
- i. *Stirring rod triangle*
- j. Bunsen

### 2.8.2 Bahan

- a. Alkohol 70% dan 96%
- b. *Blood agar plate*
- c. Bakteri biakan *Staphylococcus aureus*
- d. Larutan KOH 3%
- e. Laruta fisiologis
- f. Cairan kristal violet
- g. Cairan mordant
- h. Spiritus



## 2.9 Prosedur Kerja



Gambar 2. 9 Prosedur kerja (Sumber: data primer, 2024)

### 2.9.1 Prosedur Identifikasi Bakteri Biakan *Staphylococcus aureus*

Prosedur identifikasi bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan gram. Larutan KOH 3% sebanyak 1 tetes diletakkan di atas kaca preparat menggunakan jarum ose dekat dengan bunsen agar tetap steril, kemudian bakteri biakan *Staphylococcus aureus* diletakkan pada larutan KOH 3% dan ditunggu hingga mengering. Setelah kering, preparat ditetesi dengan cairan pewarna kristal violet secara merata dan tunggu hingga 1 menit kemudian miringkan preparat dan bilas dengan sedikit air mengalir. Tuangkan cairan mordant pada preparat ditunggu hingga 1 menit lalu preparat dimiringkan dan dibilas dengan sedikit air mengalir. Preparat bakteri siap dilakukan proses identifikasi pada mikroskop dengan pembesaran 40X.

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

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah teridentifikasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan fisiologis menggunakan jarum ose, kemudian dilakukan pengenceran sehingga didapatkan jumlah CFU awal sebanyak 300 CFU. Setelah itu, masukkan K-File kedalam tabung reaksi yang berisi larutan fisiologis dan bakteri biakan *Staphylococcus aureus* menggunakan pinset dan didiamkan selama 5 menit untuk proses kontaminasi bakteri terhadap K-File. Larutan fisiologis dari tabung reaksi yang berisi K-File dan bakteri biakan *Staphylococcus aureus* dipindahkan ke dalam BAP menggunakan pipet tetes sebanyak 1,5 ml untuk sampel kontrol negatif. BAP yang berisi larutan tersebut dilakukan *stirring rod triangle* dan disimpan untuk dilakukan proses inkubasi dilakukan di dekat bunsen agar tetap steril.



#### Identifikasi dan Pembuatan Sampel Kontrol Negatif dengan Perendaman Alkohol 70% dan 96%

Bakteri yang telah terkontaminasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dimasukkan ke dalam tabung yang telah diberi label penanda berisi larutan alkohol

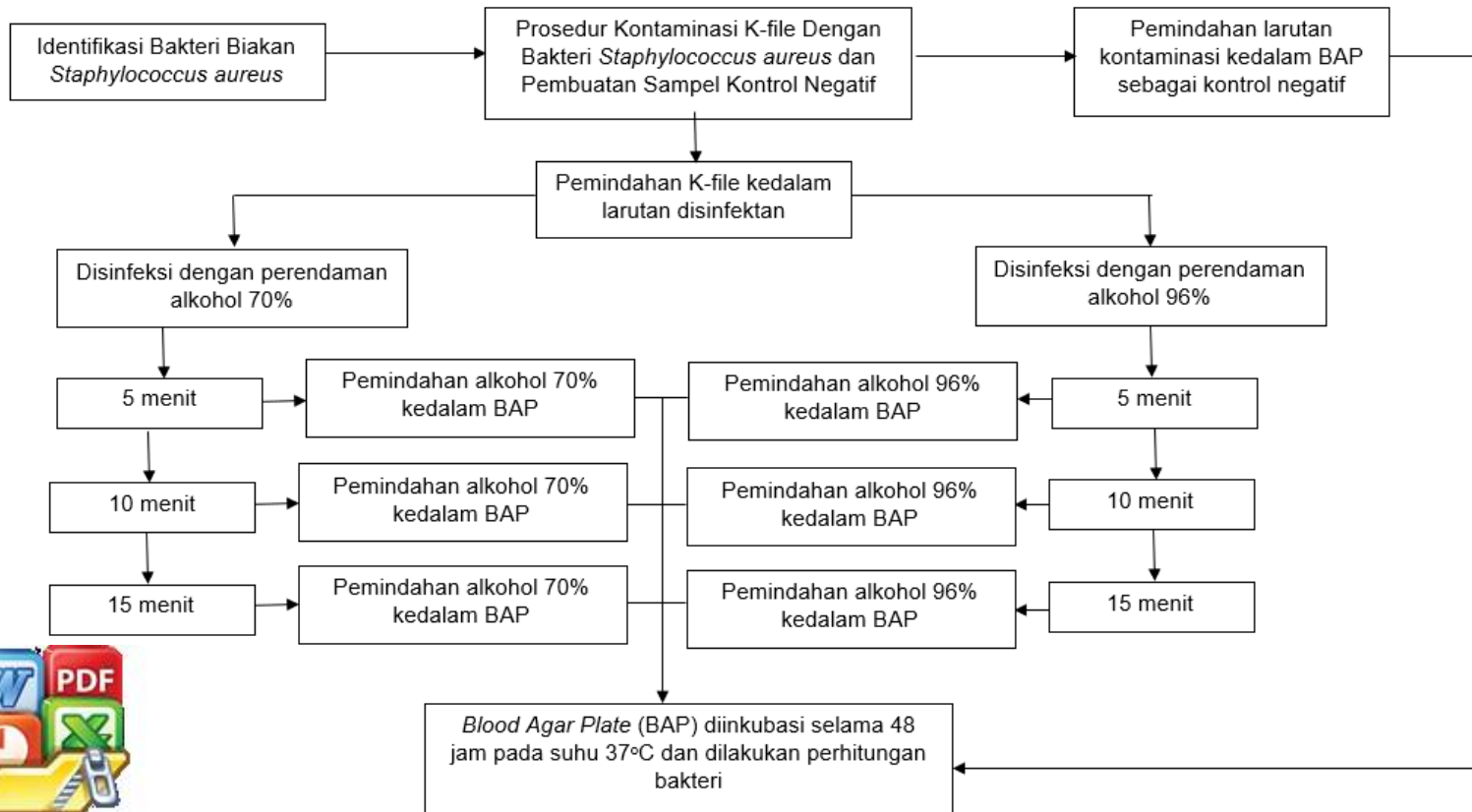
70% dan 96% untuk proses disinfeksi alat K-File. Tabung berisi alkohol dan K-File siap untuk dilakukan vibrasi agar disinfektan alkohol merata di setiap ulir K-File. Proses vibrasi dilakukan dengan *vortex mixer* kemudian tabung berisi alkohol dan K-File didiamkan selama selang waktu yang telah ditentukan yaitu 5 menit, 10 menit dan 15 menit. Setiap selang waktu 5 menit pertama, alkohol dipindahkan dengan pipet tetes sebanyak 1,5 ml ke dalam BAP sesuai label penanda kemudian diratakan dengan *stirring rod triangle*. Hal tersebut dilakukan berulang pada 5 menit kedua (10 menit) dan ketiga (15 menit). Setelah itu, BAP disimpan untuk dilakukan proses inkubasi.

#### **2.9.4 Prosedur Inkubasi dan Perhitungan Bakteri**

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



## 2.10 Alur Penelitian



Gambar 2. 10 Bagan alur penelitian

