

**EFEKTIVITAS DESINFEKSI K-FILE TERKONTAMINASI
STAPHYLOCOCCUS AUREUS DENGAN METODE PERENDAMAN
SODIUM HIPOKLORIT DALAM BERBAGAI KONSENTRASI DAN
WAKTU**



**KHAERUNNISA HASAN
J011211118**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**



**EFEKTIVITAS DESINFEKSI K-FILE TERKONTAMINASI
STAPHYLOCOCCUS AUREUS DENGAN METODE PERENDAMAN
SODIUM HIPOKLORIT DALAM BERBAGAI KONSENTRASI DAN
WAKTU**

KHAERUNNISA HASAN

J011211118



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**EFEKTIVITAS DESINFEKSI K-FILE TERKONTAMINASI
STAPHYLOCOCCUS AUREUS DENGAN METODE PERENDAMAN
SODIUM HIPOKLORIT DALAM BERBAGAI KONSENTRASI DAN
WAKTU**

**KHAERUNNISA HASAN
J011211118**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

Pada

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
DEPARTEMEN KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

EFEKTIVITAS DESINFEKSI K-FILE TERKONTAMINASI
STAPHYLOCOCCUS AUREUS DENGAN METODE PERENDAMAN
SODIUM HIPOKLORIT DALAM BERBAGAI KONSENTRASI DAN
WAKTU

KHAERUNNISA HASAN

J011211118

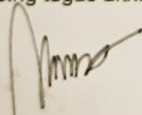
Skripsi,

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Pendidikan Dokter Gigi
pada 27 Juni 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
DEPARTEMEN KONSEVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

Mengesahkan:
Pembimbing tugas akhir,



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

Mengetahui:
Ketua Program Studi,



Muhammad Ikbal, drg., Ph.D., Sp.Pro.
NIP. 196010212 000912 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "**Efektivitas Desinfeksi K-file Terkontaminasi *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Perendaman Sodium Hipoklorit Dalam Berbagai Konsentrasi Dan Waktu**" adalah 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 kutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila dikemudian 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, 21 November 2024

 
Khaerunnisa Hasan
J011211118

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah Subhanahu wa Ta'ala, yang telah melimpahkan Rahmat, Hidayat, dan Taufik-Nya, dan dengan izin-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Efektivitas Desinfeksi K-File Terkontaminasi *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Perendaman Sodium Hipoklorit Dalam Berbagai Konsentrasi Dan Waktu”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat penyelesaian pendidikan Program Strata 1 di Jurusan Pendidikan Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari dalam penyusunan proposal skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih 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. Prof. Dr. Ardo, drg., M.Kes dan Noor Hikmah, drg., M.KG., Sp.KG., Subsp KR(K). selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penyusunan skripsi ini.
4. Kedua orang tua tercinta penulis, Bapak Hasan Umar dan Ibu Nikmatia Latief, yang selalu memberi atas doa, pengorbanan, motivasi, dan dukungan yang luar biasa tak ternilai untuk penulis selama menempuh pendidikan hingga dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
5. Saudara terkasih, Kak Fajri, Kak Michiko, Kak Faisal, Kak Farid, dan Adek Hikmah serta seluruh keluarga besar Umar Dg. Sali & Hj. Indo Sakka. yang selalu mendoakan serta memberikan dukungan kepada penulis selama menempuh pendidikan.
6. Segenap keluarga besar seperjuangan Inkremental 2021.
7. Teman seperbimbingan Sartika, dan Muh. Ibra Ikhza yang telah berjuang sama-sama dalam menyelesaikan skripsi.
8. Teman-teman terdekat saya, Citra Dewi Arifana, dan St. Nabilah Kaltsum. yang selalu memberikan dukungan dan semangat, serta selalu menemani penulis disaat suka dan duka hingga saat ini.
9. Teman posko KKN-PK Desa Tadangpalie, Khususnya Anastasya, Suci, Innah, Christin, dan Meisya. Yang selalu memberi dukungan dan bantuan kepada penulis selama menempuh pendidikan.
10. Teman alumni SMA Plus Al-Ashri Global Mandiri, Khususnya JULIDANDA. yang selalu memberi dukungan dan bantuan kepada penulis selama menempuh pendidikan.

Penulis,

Khaerunnisa Hasan

ABSTRAK

KHAERUNNISA HASAN. **Efektivitas Desinfeksi K-file Terkontaminasi *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Perendaman Sodium Hipoklorit Dalam Berbagai Konsentrasi Dan Waktu** (Dibimbing oleh Prof. Dr. Maria Tanumihardja, drg., Md.Sc.).

Latar Belakang : Penggunaan ulang instrumen endodontik seperti K-file memiliki risiko tinggi terkait kontaminasi dan potensi penularan infeksi oleh *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Oleh karena itu proses disinfeksi dan sterilisasi sangat penting. Terdapat berbagai metode pra-sterilisasi atau disinfeksi yang dikenal, antara lain metode mekanik, kimia, ultrasonik, dan pembilasan terakhir sebelum proses sterilisasi. Penggunaan agen kimia untuk disinfeksi dianggap sangat krusial untuk menjamin keberhasilan perawatan endodontik. Agen disinfektan yang umum digunakan dalam perawatan endodontik adalah sodium hipoklorit (NaOCl). **Tujuan :** Untuk mengetahui efektivitas disinfeksi perendaman sodium hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1% pada K-file yang terkontaminasi bakteri *S. aureus* dalam berbagai durasi waktu. **Metode :** Identifikasi bakteri dilakukan dengan proses pengenceran sehingga didapatkan jumlah *Colony forming unit* (CFU) awal sebanyak 300 CFU. Setelah itu, dilakukan proses kontaminasi bakteri terhadap K-file, dialokasikan dalam 3 kelompok dan dilakukan pengulangan beberapa kali dengan konsentrasi masing-masing 0,25%, 0,5% serta 1% selama 5 menit dan 10 menit. **Hasil:** Terdapat 3 CFU setelah perendaman 5 menit dengan sodium hipoklorit 0,25% dan 1 CFU setelah perendaman 10 menit. Tidak terdapat CFU setelah perendaman dengan sodium hipoklorit 0,5% dan sodium hipoklorit 1% selama 5 menit maupun 10 menit. **Kesimpulan:** Perendaman K-file dengan sodium hipoklorit konsentrasi 0,5% selama 5 menit sudah efektif membunuh semua bakteri *S. aureus*.

Kata Kunci : K-file, disinfeksi, sodium hipoklorit, *S. aureus*.

ABSTRACT

KHAERUNNISA HASAN. ***Effectiveness of Disinfection of K-files Contaminated with Staphylococcus Aureus by Sodium Hypochlorite Immersion Method in Various Concentrations and Times*** (Supervised by Prof. Dr. Maria Tanumihardja, drg., Md.Sc.).

Background: Reuse of endodontic instruments such as K-files carries a high risk of contamination and potential transmission of infection by *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Therefore, the process of disinfection and sterilization is very important. There are various pre-sterilisation or disinfection methods known, including mechanical, chemical, ultrasonic and final rinsing before sterilization. The use of chemical agents for disinfection is considered crucial to ensure the success of endodontic treatment. A commonly used disinfectant agent in endodontic treatment is sodium hypochlorite (NaOCl). **Purpose:** To determine the effectiveness of 0.25%, 0.5% and 1% sodium hypochlorite immersion disinfection on K-files contaminated with *S. aureus* bacteria in various time durations. **Method:** Bacterial identification was carried out with a dilution process to obtain an initial Colony forming unit (CFU) count of 300 CFU. After that, the process of bacterial contamination of K-files was carried out, allocated in 3 groups and repeated several times with concentrations of 0.25%, 0.5% and 1% for 5 minutes and 10 minutes, respectively. **Results:** There were 3 CFU after 5 minutes immersion with 0.25% sodium hypochlorite and 1 CFU after 10 minutes immersion. There was no CFU after soaking with 0.5% sodium hypochlorite and 1% sodium hypochlorite for 5 minutes or 10 minutes. **Conclusion:** Soaking the K-file with sodium hypochlorite at a concentration of 0.5% for 5 minutes is effective in killing all *S. aureus* bacteria.

Keywords: K-file, disinfection, sodium hypochlorite, *S. aureus*.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERYATAAN PENGAJUAN	ii
ALAMAT PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
1.4.1. Manfaat Umum	3
1.4.2. Manfaat Khusus	3
BAB II	4
2.1. Jenis Penelitian	4
2.2. Desain Penelitian	4
2.3. Lokasi Penelitian	4
2.4. Waktu Penelitian	4
2.5. Sampel Penelitian	4
2.6. Variabel Penelitian	4
2.6.1. Variabel Bebas	4
2.6.2. Variabel Terikat	4
2.6.3. Variabel Terkendali	5
2.7. Definisi Operasional Variabel	5
2.8. Alat dan Bahan	5
2.8.1. Alat	5
2.8.2. Bahan	5
2.9. Prosedur Pelaksanaan Penelitian	6
2.9.1. Prosedur Kontaminasi K-file dengan Bakteri <i>S. aureus</i> dan Pembuatan Sampel Kontrol Negatif	6

2.9.2. Prosedur Disinfeksi K-file dengan Perendaman Sodium Hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1%.....	6
2.9.3. Prosedur Inkubasi dan Perhitungan CFU.....	7
2.10. Alur Penelitian.....	8
BAB III.....	9
3.1. Uji Statistik Deskriptif	10
3.2. Uji Kruskal Wallis	11
BAB IV	13
BAB V	15
5.1. Kesimpulan	15
5.2. Saran	15
DAFTAR PUSTAKA.....	16
LAMPIRAN.....	19

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.9. Prosedur kerja	6
Gambar 2.10. Bagan alur penelitian	8
Gambar 3.1. Hasil Inkubasi 48 jam; a. Kontrol Negatif (-); b. Sodium hipoklorit 0,25% perendaman 5 menit; c. Sodium hipoklorit 0,25% perendaman 10 menit; d. Sodium hipoklorit 0,5% perendaman 5 menit; e. Sodium hipoklorit 0,5% perendaman 10 menit; f. Sodium hipoklorit 1% perendaman 5 menit; g. Sodium hipoklorit 1% perendaman 10 menit. (Sumber: Dokumentasi penelitian)	12

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri <i>S. aureus</i> (CFU) yang terbentuk pada permukaan BAP setelah inkubasi 48 jam.	9
Tabel 3.2. Jumlah persentase penurunan jumlah koloni bakteri <i>S. aureus</i> (CFU) setelah perendaman sodium hipoklorit 0,25%.	10
Tabel 3.3. Jumlah persentase penurunan jumlah koloni bakteri <i>S. aureus</i> (CFU) setelah perendaman sodium hipoklorit 0,5%.	10
Tabel 3.4. Jumlah persentase penurunan jumlah koloni bakteri <i>S. aureus</i> (CFU) setelah perendaman sodium hipoklorit 1%.	10
Tabel 3.5. Hasil uji deskriptif disinfeksi perendaman sodium hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1% pada K-file terkontaminasi <i>Staphylococcus aureus</i> .	11
Tabel 3.6. Hasil uji kruskal wallis disinfeksi perendaman sodium hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1% pada K-file terkontaminasi <i>Staphylococcus aureus</i> .	11

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian	20
Lampiran 2. Surat Rekomendasi Etik	21
Lampiran 3. Surat 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

Karies gigi merupakan penyakit gigi dan mulut yang paling banyak menyerang manusia (Bjørndal et al., 2019). Saat ini, prevalensi karies masih tinggi di seluruh dunia. Pada tahun 2010, penyakit pulpa dan periapikal menduduki peringkat ke 7 dari sepuluh penyakit terbanyak pada pasien rawat jalan rumah sakit di Indonesia (Utami et al., 2019). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar Indonesia (Riskesdas) tahun 2018, prevalensi karies gigi mencapai angka sebesar 88,8%. Jika tidak ditangani, karies akan berkembang menjadi penyakit pulpa seperti pulpitis yang akhirnya akan menyebabkan infeksi dan nekrosis pulpa (Theresia et al., 2023).

Gigi dengan penyakit pulpa dan penyakit periapikal merupakan salah satu indikasi perawatan endodontik, dengan cara pengambilan pulpa yang masih vital ataupun nekrotik dari saluran akar dan menggantinya dengan bahan pengisi (Kartinawanti dan Asy'ari, 2021). Keberhasilan terapi endodontik terutama bergantung pada eliminasi bakteri dari saluran akar serta pencegahan terjadinya infeksi ulang. Karies dianggap sebagai jalur utama masuknya bakteri ke saluran akar (Elhalabi H et al., 2022). Oleh karena itu, sangat penting untuk mempertahankan keadaan aseptik selama terapi endodontik. K-file adalah alat penting untuk melengkapi perawatan sistem saluran akar. Untuk menghindari potensi putusnya rantai aseptik dan kegagalan perawatan, alat-alat tersebut harus bebas dari mikroba sebelum dimasukkan ke dalam saluran akar (Merdad dan Alghamdi, 2022).

Rumah Sakit Gigi dan Mulut (RSGM) merupakan salah satu tempat yang tidak dapat terhindarkan dari kontaminasi bakteri. Dokter gigi, staf, dan pasien yang setiap hari berada di dalam lingkungan RSGM mengalami peningkatan resiko infeksi silang melalui berbagai patogen yang ditularkan oleh polutan maupun partikel yang dihasilkan dari berbagai prosedur perawatan gigi. Bakteri dapat menyebar selama prosedur perawatan gigi melalui penyebaran aerosol dan percikan, dan patogen dapat ditularkan melalui darah maupun saliva yang kemudian dapat ditularkan di lingkungan RSGM (Abusalim, 2022). Bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada lingkungan RSGM yang sering ditemui adalah *Bacillus* sp, *Pasteurella testudinis*, *Staphylococcus*, *Saprophyticus*, *Pseudomonas stutzeri* (Rasul dan Jifary, 2018).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan salah satu bakteri pada rongga mulut (angular cheilitis, sariawan, kegagalan implan, stomatitis prostetik, abses wajah, xerostomia, osteomielitis rahang), kulit, saluran pernafasan, saluran pencernaan makanan pada manusia, serta di udara dan lingkungan sekitar. Pada rongga mulut, *S. aureus* merupakan patogen yang menyebabkan berbagai infeksi sekunder seperti infeksi pada kulit dan jaringan lunak di rongga

mulut. Selain itu juga berperan menginfeksi dalam perawatan saluran akar gigi dan dapat berkolonisasi pada mukosa pengguna gigi tiruan (Nanggita et al., 2023) (Gonçalves et al., 2020).

Instrumen endodontik seperti K-file sering kali digunakan berulang kali selama proses preparasi saluran akar. Penggunaan ulang ini membawa risiko tinggi terkait kontaminasi dan potensi penularan infeksi, terutama jika protokol pembersihan, disinfeksi, dan sterilisasi tidak diikuti dengan ketat. Untuk meminimalkan risiko kegagalan perawatan endodontik akibat kontaminasi oleh *S. aureus*, sangat penting untuk menjalankan proses disinfeksi dan sterilisasi pada K-file (Teves et al., 2019). Terdapat berbagai metode pra-sterilisasi atau disinfeksi yang dikenal, antara lain metode mekanik, kimia, ultrasonik, dan pembilasan terakhir sebelum proses sterilisasi. Penggunaan agen kimia untuk disinfeksi dianggap sangat krusial untuk menjamin keberhasilan perawatan endodontik. Beberapa agen disinfektan yang umum digunakan dalam bidang endodontik meliputi sodium hipoklorit (NaOCl), klorheksidin (CHX), dan nanopartikel perak. Sodium hipoklorit khususnya banyak digunakan karena kemampuannya dalam melarutkan jaringan dan efektivitas mekanisme antimikroba yang dimilikinya (Filho et al., 2023).

Effendi et al (2021) membandingkan efektifitas kepekatan larutan sodium hipoklorit terhadap biakan kuman *Staphylococcus aureus* dengan inkubasi 24 jam dan 48 jam dan menemukan konsentrasi 0,025% memberikan efek disinfeksi yang cukup baik dengan daya hambat sedang, konsentrasi 0,050% memberikan efek disinfeksi dengan daya hambat kuat, sedangkan kepekatan 0,0125% tidak memberikan efek disinfeksi (Effendi et al., 2021).

Rainanda DA (2021) melakukan evaluasi *in vitro* kontaminasi bakteri dan efek sodium hipoklorit 0,5% pada *buccal tube* ortodontik dan menemukan sodium hipoklorit 0,5% memiliki efek mengurangi kontaminasi bakteri dalam waktu 5 menit (Rainanda, 2021). Sementara Tiwari et al (2018) membandingkan aktivitas beberapa biosida terhadap biofilm *S. aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan mengamati penurunan yang signifikan dalam viabilitas biofilm *S. aureus* ketika diuji dengan sodium hipoklorit 1%, yang menunjukkan keberhasilannya mengurangi masa hidup bakteri tetapi juga efektif pada matriks organisme (Tiwari et al., 2018).

Penelitian mengenai sterilisasi K-file telah banyak dilakukan, namun belum ada penelitian yang meneliti mengenai konsentrasi dan waktu yang efektif untuk disinfeksi K-file dengan metode perendaman dalam sodium hipoklorit yang terkontaminasi *S. aureus*. Oleh sebab itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian bagaimana efektivitas disinfeksi K-file dengan perendaman dalam sodium hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1% yang terkontaminasi *S. aureus* dengan lama waktu perendaman yang berbeda.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah sodium hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1% sebagai agen disinfeksi efektif untuk mensterilkan instrumen K-file yang terkontaminasi bakteri *S. aureus*?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas disinfeksi perendaman sodium hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1% pada K-file yang terkontaminasi bakteri *S. aureus*.

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Untuk menghitung jumlah CFU bakteri *S. aureus* pada K-file setelah direndam dalam larutan sodium hipoklorit 0,25% selama 5 menit.
- b. Untuk menghitung jumlah CFU bakteri *S. aureus* pada K-file setelah direndam dalam larutan sodium hipoklorit 0,25% selama 10 menit.
- c. Untuk menghitung jumlah CFU bakteri *S. aureus* pada K-file setelah direndam dalam larutan sodium hipoklorit 0,5% selama 5 menit.
- d. Untuk menghitung jumlah CFU bakteri *S. aureus* pada K-file setelah direndam dalam larutan sodium hipoklorit 0,5% selama 10 menit.
- e. Untuk menghitung jumlah CFU bakteri *S. aureus* pada K-file setelah direndam dalam larutan sodium hipoklorit 1% selama 5 menit.
- f. Untuk menghitung jumlah CFU bakteri *S. aureus* pada K-file setelah direndam dalam larutan sodium hipoklorit 1% selama 10 menit.
- g. Untuk membandingkan jumlah CFU bakteri *S. aureus* pada K-file setelah direndam dalam sodium hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1%.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Umum

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efektivitas sodium hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1% sebagai agen disinfeksi untuk mensterilkan instrumen K-file yang terkontaminasi bakteri *S. aureus*.

1.4.2. Manfaat Khusus

- a. Memberikan informasi pengetahuan di bidang konservasi gigi mengenai efektivitas sodium hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1% sebagai agen disinfeksi untuk mensterilkan instrumen K-file yang terkontaminasi bakteri *S. aureus*.
- b. Memberikan landasan pengetahuan untuk penelitian lebih lanjut terkait penggunaan sodium hipoklorit sebagai disinfektan yang efektif dalam disinfeksi instrumen endodontik.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris *in vitro*.

2.2. Desain Penelitian

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

2.3. Lokasi Penelitian

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

2.4. Waktu Penelitian

Februari 2024.

2.5. Sampel Penelitian

Uji sterilisasi instrumen K-file yang terkontaminasi bakteri *S. aureus* ini akan dibagi menjadi 4 kelompok, sebagai berikut:

- a. Kelompok 1: K-file terkontaminasi yang tidak dilakukan perendaman sodium hipoklorit (kontrol negatif)
- b. Kelompok 2: K-file terkontaminasi yang dilakukan perendaman dengan sodium hipoklorit 0,25%.
- c. Kelompok 3: K-file terkontaminasi yang dilakukan perendaman sodium hipoklorit 0,5%.
- d. Kelompok 4: K-file terkontaminasi yang dilakukan perendaman sodium hipoklorit 1%.

2.6. Variabel Penelitian

2.6.1. Variabel Bebas

Sodium hipoklorit konsentrasi 0,25%, 0,5% dan 1%.

2.6.2. Variabel Terikat

Jumlah *Colony-Forming Unit* (CFU) bakteri *S. aureus*.

2.6.3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini, sebagai berikut:

- a. Lama perendaman K-file pada larutan sodium hipoklorit 5 menit dan 10 menit
- b. Durasi inkubasi pada inkubator selama 48 jam
- c. Temperatur inkubasi 37°C
- d. Konsentrasi sodium hipoklorit 0,25%, 0,5%, dan 1%.

2.7. Definisi Operasional Variabel

- a. K-file merupakan instrumen endodontik sekali pakai merk *Densply* dengan panjang K-file 25 mm yang dilakukan kontaminasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- b. *S. aureus* adalah bakteri yang dijadikan kontaminan untuk K-file yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
- c. Sodium hipoklorit merupakan cairan disinfeksi berwarna bening merk *One Med Health Care PT. Jayamas Medica Industri Indonesia*.
- d. *Colony-Forming Unit* (CFU) merupakan jumlah koloni bakteri yang dihitung langsung pada permukaan BAP.

2.8. Alat dan Bahan

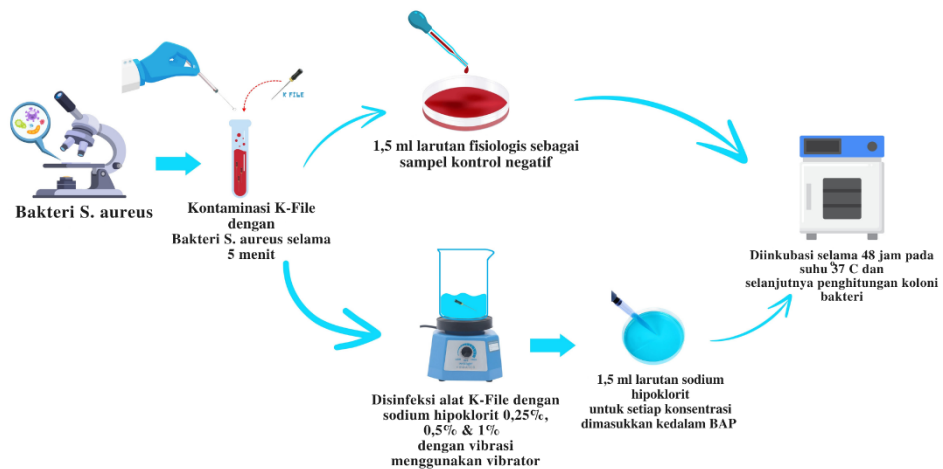
2.8.1. Alat

- | | |
|---------------------|---------------------------------|
| a. K-file (Densply) | f. <i>Vortex mixer</i> |
| b. Inkubator | g. <i>Stirring rod Triangle</i> |
| c. Tabung Reaksi | h. Pinset |
| d. Pipet tetes | i. Bunsen |
| e. Jarum Ose | |

2.8.2. Bahan

- | | |
|----------------------------------|-----------------------------|
| a. <i>Blood Agar Plate</i> (BAP) | d. Sodium hipoklorit 1% |
| b. Sodium hipoklorit 0,25% | e. Larutan fisiologis |
| c. Sodium hipoklorit 0,5% | f. Bakteri <i>S. aureus</i> |

2.9. Prosedur Pelaksanaan Penelitian



Gambar 2.9. Prosedur kerja

2.9.1. Prosedur Kontaminasi K-file dengan Bakteri *S. aureus* dan Pembuatan Sampel Kontrol Negatif

Bakteri *S. 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 kedalam BAP menggunakan pipet tetes sebanyak 1,5 ml untuk sampel kontrol negatif. BAP yang berisi larutan tersebut diratakan menggunakan *stirring rod triangle* dan disimpan untuk dilakukan proses inkubasi. Setiap perlakuan dilakukan di dekat bunsen agar tetap steril.

2.9.2. Prosedur Disinfeksi K-file dengan Perendaman Sodium Hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1%

K-file yang telah terkontaminasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dipindahkan ke dalam tabung yang telah diberi label penanda berisi larutan sodium hipoklorit 0,25%, 0,5% dan 1% yang diperoleh melalui pengenceran dengan akuades menggunakan rumus pengenceran ($V_1M_1 = V_2M_2$) untuk proses disinfeksi alat K-file. Tabung berisi sodium hipoklorit dan K-file siap dilakukan vibrasi agar disinfektan sodium hipoklorit merata di setiap ulir K-file. Proses vibrasi dilakukan dengan *vortex mixer* kemudian tabung berisi sodium hipoklorit dan K-file didiamkan selama selang waktu yang telah ditentukan yaitu 5 menit dan 10 menit. Setiap selang waktu 5 menit pertama, sodium hipoklorit

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). Setelah itu, BAP disimpan untuk dilakukan proses inkubasi.

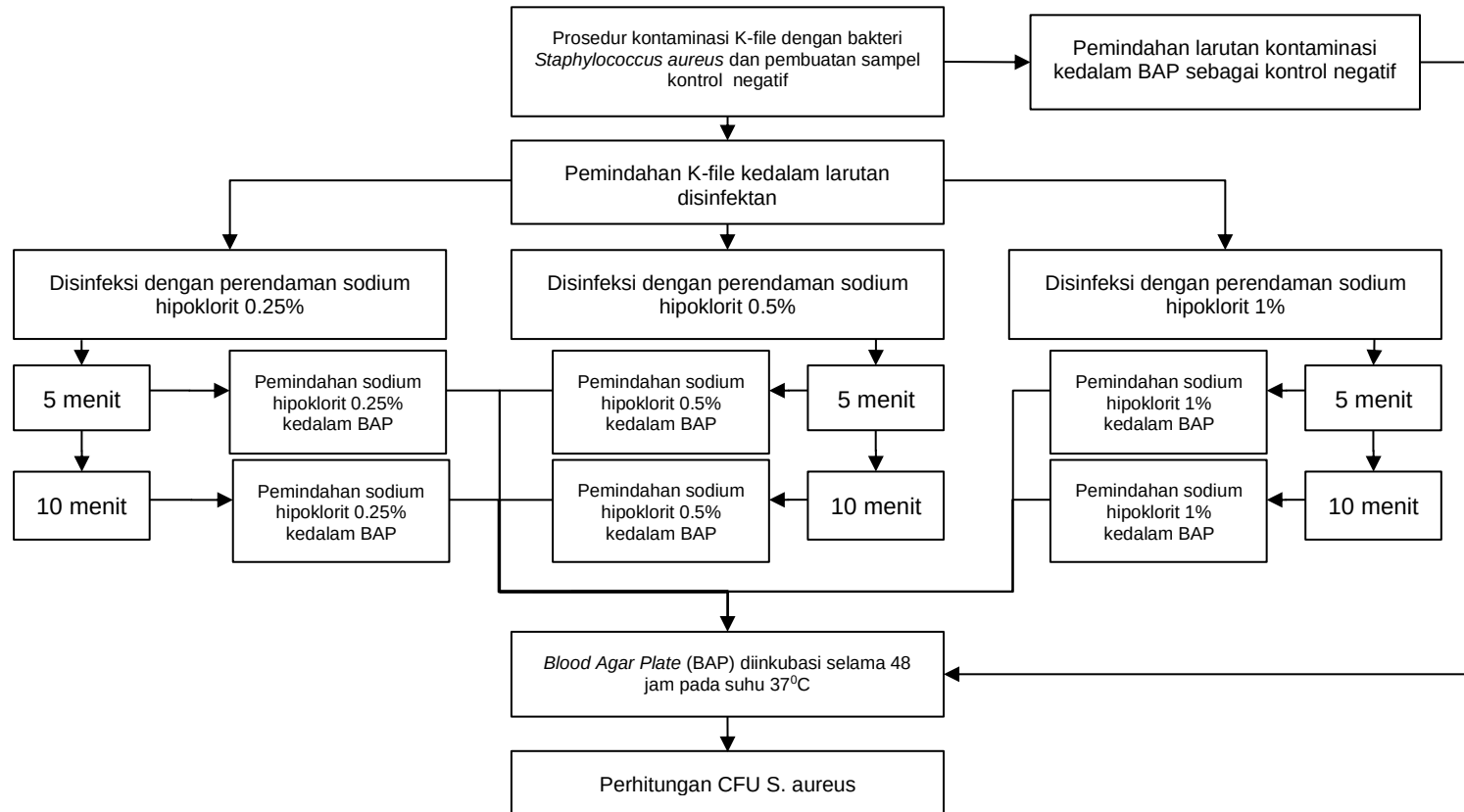
2.9.3. Prosedur Inkubasi dan Perhitungan CFU

Blood Agar Plate (BAP) yang berisi sampel diinkubasi menggunakan inkubator selama 48 jam pada Temperatur 37°C kemudian hasil inkubasi dihitung secara langsung dari koloni bakteri yang terbentuk pada BAP.

Kriteria objektif CFU :

- 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 ≤ 10 CFU (Sulistiyo et al., 2017).
- Krisnawati, Isnawati & Darmiah (2018) menganalisis bahwa disinfektan efektif jika dapat menghambat bakteri sebesar $\geq 89\%$ (Krisnawati et al., 2018).
- Sari, Widjiastuti, Setyabudi (2013) menganalisis bahwa disinfektan sangat efektif jika dapat membunuh bakteri sebesar $\geq 99,9\%$ (Sari et al., 2013).

2.10. Alur Penelitian



Gambar 2.10. Bagan alur penelitian