

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan bulan September tahun 2014 di Laboratorium Instalasi Mikrobiologi Klinik RSUP Haji Adam Malik Medan.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan yaitu tabung reaksi, tabung inokulum, transpot swab, objek gelas, ose cincin, cawan petri, inkubator, oven, vortek, biospetik, rak tabung, tip steril, lampu bunsen, hot plate, micropipet 145µl, tissue, densi check, mikroskop dan Vitek 2 compact untuk identifikasi bakteri dan jamur.

Bahan yang digunakan yaitu swab oral, media Blood Agar, media Mac-Conkey Agar, media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), media *Mantol Salt Agar* (MSA), media *Eousin Methilen Blue* (EMB), cassette gram negatif (GN), cassette gram positif (GP), cassette *Yeast Cell*, reagensia pewarnaan gram (gentian violet, lugol, aceton alkohol, fuchsin air), emersi oli dan reagensia NaCl 0.45%.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian yang dilakukan secara deskriptif yaitu mengidentifikasi menentukan jenis-jenis mikroba pada swab oral pasien HIV/AIDS yang mengalami infeksi bagian oral di ruang rawat inap RSUP Haji Adam Malik Medan, dengan total sampel 50 pasien. Parameter yang diamati adalah jenis bakteri dan jamur yang tumbuh selama inkubasi.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Preparasi Alat Dan Bahan

Media penumbuhan mikroba dan alat yang akan digunakan terlebih dahulu disterilisasi agar tidak terkontaminasi. Media disterilisasi menggunakan autoclave dengan suhu 121⁰C selama 20 menit. Alat penelitian disterilisasi kering menggunakan oven pada suhu 170⁰C selama satu jam. Media dan semua alat yang telah steril siap untuk digunakan dalam proses penanaman mikroba dari swab oral pasien HIV/AIDS.

3.4.2 Pengambilan Swab Oral Pasien HIV/AIDS

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah swab oral yang diambil dari pasien yang mengalami infeksi pada bagian oral yang dirawat di RSUP Haji Adam Malik Medan. Sampel yang mengalami infeksi dan ditandai dengan luka pada gusi, lidah, bibir dan tumbuhnya mikroba seperti kandidiasis. Memberikan penjelasan kepada pasien bahwa petugas akan mengambil sampel pus untuk diperiksa di laboratorium mikrobiologi. Kemudian pinggiran luka yang mengalami infeksi dibersihkan dengan kapas steril yang telah dibasahi dengan NaCl 0.5%. Setelah itu pembungkus transport swab dibuka dan diusapkan bagian oral. Selanjutnya dimasukkan kapas tersebut ke dalam agar transport swab dan tutup dengan erat. Kemudian diberi label nama pasien dan dibawa ke laboratorium Instalasi Mikrobiologi Klinik.

3.4.3 Penanaman dan Pewarnaan Mikroba

Transport swab oral pada setiap pasien ditanam pada media *Blood Agar* sebagai media defferensial dan media *Mac-Conkey Agar* sebagai media selektif. Media yang telah ditanam spesimen, kemudian diinkubasi dalam inkubator suhu

37°C selama 1 x 24 jam. Adanya pertumbuhan mikroba ditandai dengan Jika pertumbuhan koloni mikroba pada permukaan media. Jika terdapat pertumbuhan koloni maka dilanjutkan dengan pewarnaan gram.

Pewarnaan gram dilakukan dengan mengambil 1 koloni murni dan dibuat sediaan diatas objek gelas, kemudian difiksasi diatas api bunsen. Sediaan diletakkan diatas rak pewarnaan, sediaan ditetesi larutan Gentian Violet selama 1-5 menit. Kemudian sediaan dicuci pada air mengalir dan ditetesi dengan larutan lugol selama 30 detik, laurtan tersebut kemudian dibuan dan dilunturkan dengan aceton alkohol. Sediaan dicuci dengan air mengalir dan ditetesi dan ditetesi fuchsin air selama 30 detik. Sediaan dibilas dengan air dan dikeringkan. Sediaan ditetesi dengan emersi oil dan diamati dibawah mikroskop dengan lensa pembesaran 100x.

3.4.4 Identifikasi Mikroba

Identifikasi mikroba dilakukan dengan mengambil koloni murni pada media *Blood Agar* dan *Mc-Conkey Agar*, kemudian koloni dimasukkan kedalam tabung inokulum berisi larutan NaCl 0.45%. Suspensi diukur dengan kekeruhan 0,5 *Mac Farland* dengan menggunakan alat *Densi Check* dengan cara memasukkan tabung inokulum ke lubang penguku. Angka hasil pengukuran akan muncul dalam satuan *Mac Farland*. Jika kekeruhan kurang maka tambahkan koloni mikroba dan jika kekeruhan berlebih maka ambil sejumlah volume dan diencerkan dengan menambahkan larutan NaCl 0,45% dan kemudian dilakukan identifikasi dengan memakai kartu *Casette GN*, *Casette GP* dan *Casette Yeast*. Kemudian di *bard kode* dan dimasukkan kedalam ruang alat *Vitek 2 Compac*. Secara otomatis hasil akan mengidetifikasi jenis mikroba selama 1 x 24 jam.

Setiap jenis mikroba disubkultur pada masing-masing media spesifik dan diamati secara makroskopis yaitu bentuk koloni, warna koloni dan permukaan koloni.

3.5 Penyajian Data

Data yang diperoleh dari penelitian adalah jenis bakteri dan jamur yang menginfeksi bagian oral pasien HIV/AIDS. Berdasarkan hasil identifikasi, kemudian data disajikan dalam bentuk tabel pengamatan secara makroskopis dan persentase jenis spesies yang menginfeksi bagian oral pasien HIV/AIDS.

