

**HUNIAN *Streptococcus sp* PADA SALURAN AKAR GIGI
DENGAN DIAGNOSA NEKROSIS PULPA SEBAGIAN
(Penelitian laboratoris)**

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi
Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Oleh :

ANDI NUGROHO

011610101091

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2005

Asal:	Hadiah Pembelian	Klass
Terima Tgl :	10 SEP 2006	67.6342
No. Induk :		NUG
KLASIR / PENYALIN:		4 h

HUNIAN *Streptococcus sp* PADA SALURAN AKAR GIGI
DENGAN DIAGNOSA NEKROSIS PULPA SEBAGIAN

KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Meraih Gelar Sarjana Kedokteran Gigi
Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Oleh:
ANDI NUGROHO
NIM. 011610101091

DOSEN PEMBIMBING UTAMA

DOSEN PEMBIMBING ANGGOTA



Drg. Sri Lestari, M.Kes
NIP. 132 148 476



drg. Sri Erliani, Sp. KG
NIP. 132 206 023

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005

Diterima oleh :

Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

Sebagai Karya Tulis Ilmiah (SKRIPSI)

Dipertabankan pada:

Hari : Senin

Tanggal : 27 Juni 2005

Tempat : Ruang Ujian Skripsi

Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

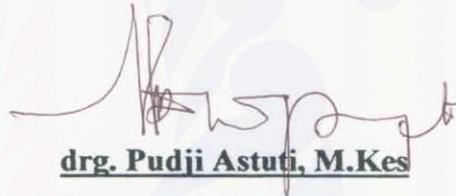
Ketua



Drg. Sri Lestari, M.Kes

NIP. 132 148 476

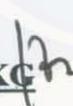
Sekretaris



drg. Pudji Astuti, M.Kes

NIP. 132 148 482

Anggota

drg. Sri Erliani, Sp KC 

NIP. 132 206 023

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember



drg. Zahreni Hamzah, M.S 

NIP. 131 558 576

MOTTO

RENE DESCARTES

*“ AKU BERFIKIR BERARTI AKU ADA
AKU ADA BERARTI TUHAN ADA*

*MASALAH
TERKADANG MENJADI JALAN
UNTUK PENYELESAIAN SESUATU HAL SULIT DIPECAHKAN
DAN MEMBAWA PERUBAHAN PENTING*



KATA PERSEMBAHAN

Allah SWT atas kemudahan yang tiada habisnya sepanjang umurku, memberi kekuatan dan penerangan dalam setiap langkahku. Atas ridhlo dan restu-Mu yang selalu menyertaiku dan atas limpahan rahmat yang telah Engkau berikan.

Ayah **Dasuki** dan ibu **Mukhsini**, terima kasih atas rangkaian doa yang tulus yang tah terhingga, bimbingan disetiap langkahku dan semua pengorbanan yang tiada pernah dapat kubalas hingga ananda seperti ini dan semoga ananda bisa memenuhi harapan kalian. Mohon Doa dan Restu agar ilmu yang ananda dapat selama ini bisa bermanfaat bagi pribadi, keluarga, bangsa dan agama.

Kakak- kakakku **Titing Mulyani** dan **Heti Nurbaeti**, yang selalu memberikan bimbingan dan memberikan dorongan bagiku, dan adikku **Yogi Sumartono** yang selalu menemaniku saat-saat sedih senang, tawa dan sedih

Keluarga dan saudara- saudaraku yang tidak dapat saya sebut satu persatu atas dukungan dan dorongan yang telah kalian berikan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (SKRIPSI) yang berjudul “HUNIAN *Streptococcus sp* PADA SALURAN AKAR GIGI DENGAN DIAGNOSA NEKROSIS PULPA SEBAGIAN”.

Karya tulis ini tersusun berkat bantuan dari beberapa pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

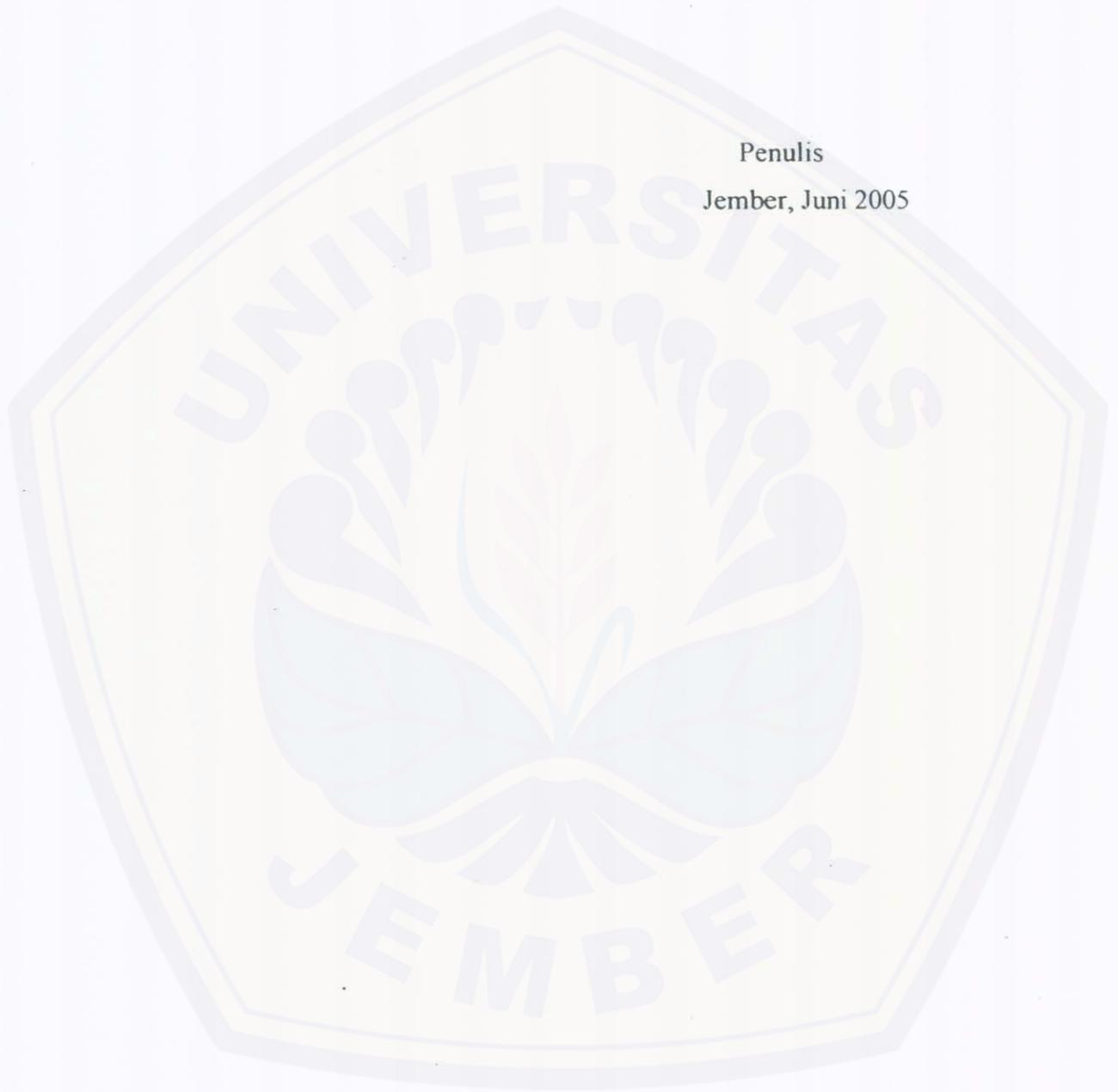
1. **Drg. Zahreni Hamzah.M.S.** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. **Drg. Sri Lestari, M.Kes** selaku Dosen Pembimbing Utama dan **Drg. Sri Erliani, Sp.KG** selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan dan motivasi sehingga Karya tulis Ilmiah ini dapat diselesaikan.
3. **Drg. Pudji Astuti, M.Kes** selaku sekertaris yang telah memberikan masukan dan bimbingan guna kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. **Semua staf pengajar dan karyawan** di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,atas semua dukungan dan bimbingannya selama ini.
5. **Bapak Pinardi** yang telah menyediakan tempat dan bantuan tenaga dan pikiranselama kami melakukan penelitian.
6. **Bapak, ibu, dan kakek, nenek, keluarga besar di Cilacap**, terima kasih atas nasihat dan motivasi yang diberikan kepadaku.
7. **Teman senasib, Adil dan Ardan** terima kasih *boys*, kapan kita ngapel lagi ?
8. **Teman-teman seperjuanganku PK bersaudara Andi W, Alfin, Diko** terima kasih atas kerjasama dan kebersamaannya.
9. **Teman-temanku Nona, Kiki, Navela,**” tetap semangat dan kompak”.
Semoga kita sukses selalu.
10. **Angkatan 2001 is the best,**”semoga tetap *exist forever*.

Penulis sadar masih banyak ketidaksempurnaan dan kekurangan dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah.untuk itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penulisan selanjutnya.

Akhirnya penulis berharap agar Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat yang berguna bagi kita semua. Amin

Penulis

Jember, Juni 2005



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
RINGKASAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Perawatan Endodontik	4
2.2 Nekrosis Pulpa.....	5
A. Definisi.....	5
B. Jenis.....	5
C. Penyebab dan Gejala-gejala.....	5
D. Diagnosis.....	6
E. Bakteriologi dan Histopatologi.....	6
F. Pemeriksaan dan Perawatan.....	7
2.3 Flora Bakterial Saluran Akar	7
2.4 <i>Streptococcus sp.</i>	8
2.4.1 Morfologi dan Identifikasi.....	9
A Ciri-Ciri khas Organisme.....	9
B. Biakan.....	9
C. Sifat Sifat Khas Pertumbuhan.....	9
D. Variasi.....	10
2.4.2 Klasifikasi <i>Streptococcus sp.</i>	10
2.5 Pembiakan Bakteriologi.....	11
2.5.1 Persyaratan Untuk Pertumbuhan.....	11
2.5.2 Media Biakan Bakteri.....	11

BAB III METODE PENELITIAN	
3.1	Macam, Tempat, Waktu Penelitian..... 13
3.1.1	Macam Penelitian..... 13
3.1.2	Tempat Penelitian..... 13
3.1.3	Waktu Penelitian..... 13
3.2	Variabel Penelitian..... 13
3.2.1	Variabel Bebas..... 13
3.2.2	Variabel Terikat..... 13
3.2.3	Variabel Terkendali..... 13
3.3	Sampel..... 13
3.3.1	Kriteria Sampel..... 13
3.3.2	Jumlah Sampel..... 14
3.4	Alat dan Bahan..... 14
3.4.1	Alat..... 14
3.4.2	Bahan..... 15
3.5	Pelaksanaan Penelitian..... 15
3.5.1	Pembuatan Media Cair Thioglikolat..... 15
3.5.2	Cara Pengambilan Sampel Bakteri..... 15
3.5.3	Cara Pembuatan Media Agar <i>Streptococcus</i> 16
3.5.4	Pembiakan <i>Streptococcus sp</i> 16
3.5.5	Cara Menghitung Koloni <i>Streptococcus sp</i> 17
3.6	Identifikasi Bakteri <i>Streptococcus sp</i> 18
3.6.1	Cara Membuat Sediaan Hapusan..... 18
3.6.2	Pewarnaan Hapusan Media..... 18
3.7	Analisa Data..... 19
3.8	Skema Penelitian..... 20
BAB IV HASIL DAN ANALISA DATA	
4.1	Hasil..... 21
BAB V PEMBAHASAN..... 23	
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1	Kesimpulan..... 27
6.2	Saran..... 27
DAFTAR PUSTAKA..... 28	
DAFTAR LAMPIRAN..... 30	

DAFTAR TABEL

Nomer	Halaman
1 Besar Hunian <i>Streptococcus sp</i> CFU/100 μ l).....	21



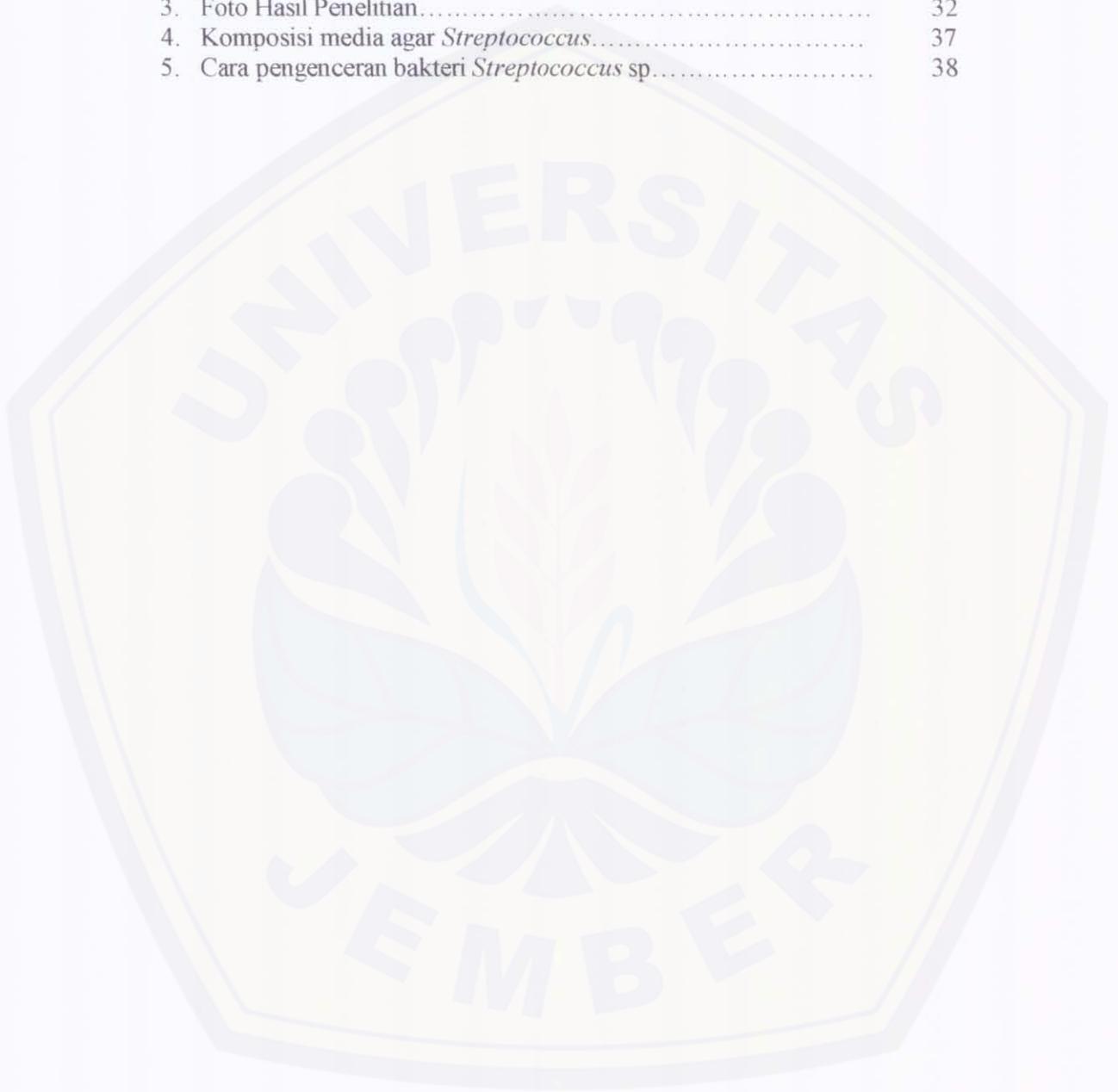
DAFTAR GAMBAR

Nomer	Halaman
1. Cara perhitungan dengan <i>colony counter</i>	17
2. Skema Penelitian.....	20
2. Diagram Batang Rata-rata Hunian bakteri <i>Streptococcus sp</i> Pada Saluran Akar Gigi Dengan Diagnosa Nekrosis Pulpa sebagian.....	22



DAFTAR LAMPIRAN

Nomer	Halaman
1. Foto Alat Penelitian.....	30
2. Foto Bahan Penelitian.....	31
3. Foto Hasil Penelitian.....	32
4. Komposisi media agar <i>Streptococcus</i>	37
5. Cara pengenceran bakteri <i>Streptococcus</i> sp.....	38



RINGKASAN

Andi Nugroho, NIM 011610101091, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, HUNIAN *Streptococcus sp* PADA SALURAN AKAR GIGI DENGAN DIAGNOSA NEKROSIS PULPA SEBAGIAN, 39 Halaman, dibawah bimbingan drg. Sri Lestari M.Kes (DPU) dan drg. Sri Erliani Sp.KG (DPA).

Penyakit pulpa dan jaringan sekitar akar gigi secara langsung atau tidak langsung berhubungan dengan mikroorganisme. Salah satu penyakit pulpa adalah nekrosis pulpa partialis yaitu mati pulpa sebagian, jadi gigi masih dalam keadaan vital. Nekrosis pulpa sering sensitif terhadap perkusi dan palpasi. Penyakit pulpa pada awalnya disebabkan oleh karena karies yang tidak dilakukan perawatan gigi (tumpat) sehingga karies tersebut menjadi tambah besar dan akhirnya menembus pulpa (pulpitis) dan lama-kelamaan akan menyebabkan nekrosis pulpa.

Bakteri saluran akar terdiri dari organisme yang dapat hidup pada jaringan pulpa mati, yang dapat tumbuh pada lingkungan dengan O_2 rendah dan tumbuh dengan makanan terbatas. *Streptococcus sp* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat (*coccus*) dan kadang berbentuk batang berderet seperti rantai. *Streptococcus sp* sering menyebabkan nanah. *Streptococcus sp* merupakan penyebab infeksi pulpa dan infeksi jaringan periapikal. Bakteri ini merupakan bakteri fakultatif anaerob karena dapat hidup pada kondisi sedikit O_2 .

Tujuan dari penelitian ini adalah ingin mengetahui adanya hunian bakteri *Streptococcus sp* pada saluran akar gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian, dan mengetahui besar hunian koloni *Streptococcus sp* pada saluran akar gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian.

Metode penelitian ini menggunakan 7 sampel gigi akar tunggal dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian. Media agar yang digunakan adalah media agar *streptococcus*. Perhitungan jumlah koloni dilakukan pada hari pertama, kedua, ketiga, dan keempat. Sedangkan untuk identifikasi bakteri dilakukan pada hari keempat dengan melakukan pengecatan gram dan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x

Hasil penelitian menunjukkan adanya pertumbuhan koloni *Streptococcus sp* dari media agar *streptococcus* dari gigi yang didiagnosa nekrosis pulpa sebagian.. Jumlah koloni *Streptococcus sp* pada 24 jam adalah belum ada pertumbuhan, 48 jam 79 CFU/100 μ l, 72 jam 131 CFU/100 μ l, dan 96 jam 143 CFU/100 μ l. Pada pemeriksaan mikroskopis didapatkan *Streptococcus sp* berbentuk bola kecil dan kadang berbentuk batang berderet seperti rantai berwarna ungu yang menunjukkan bakteri gram positif

Pada pemeriksaan koloni terdapat perbedaan besar hunian bakteri *Streptococcus sp* pada 24 jam, 48 jam, 72 jam, dan 96 jam, semakin lama waktu biakan, semakin banyak pertumbuhan bakteri.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit pulpa dan jaringan periradikuler gigi secara langsung maupun tidak langsung, berhubungan dengan mikroorganisme. Iritasi mikroba, mekanis atau kimia terhadap jaringan pulpa dan jaringan periradikuler akan mengakibatkan inflamasi (Walton dan Torabinejad,1998:41). Jaringan pulpa akan bereaksi bila ada suatu rangsangan atau iritasi terhadap gigi yang berupa respon inflamasi dan bila tidak dinetralisir akan berkelanjutan menjadi nekrosis pulpa (Ingle dan Taintor,1985).

Pada manusia, bila bakteri mencapai pulpa, inflamasi dapat terjadi walaupun pulpa tetap vital sampai jangka waktu tertentu, atau dapat juga menjadi nekrosis. Mikroorganisme juga akan menginvasi pulpa nekrosis, mengadakan koloni, membelah diri, dan menginfeksi sistim saluran akar termasuk tubuli dentin. Begitu pula pulpa mengalami nekrosis, daerah tersebut merupakan sumber mikroorganisme dengan produk-produknya. Infeksi endodonsia merupakan infeksi yang terjadi pada ruang pulpa dan jaringan periradikuler (Walton dan Torabinejad, 1998:362-367).

Nekrosis pulpa adalah kematian pulpa yang merupakan proses lanjutan dari inflamasi pulpa yang akut atau kronis atau terhentinya sirkulasi darah secara tiba-tiba akibat adanya suatu trauma (Tarigan,1995:28). Kematian pulpa tersebut dapat sebagian atau seluruhnya, tergantung penjalaran inflamasi (Grosman dkk,1995:82).

Tujuan dari perawatan endodontik adalah untuk mempertahankan gigi vital, gigi non vital dalam keadaan berfungsi dilengkung gigi (Harty,1992:1). Selain itu juga bertujuan untuk mempertahankan dan mengembalikan keadaan gigi tersebut agar dapat diterima secara biologi oleh jaringan sekitarnya (Bence,1990:1).

Pada nekrosis pulpa dan pulpitis irreversibel mengingat pulpa tidak dapat disembuhkan lagi, maka perawatan yang paling tepat adalah dengan pembuangan seluruh jaringan pulpa (pulpektomi), sedangkan pada pulpitis reversibel penyebab

secara umum adalah dentin terbuka karena karies yang tidak parah, sehingga jika karies dihilangkan dan ditambal biasanya nyeri akan hilang, dan tidak perlu dilakukan perawatan pulpa (Ford,1993:45-46).

Dalam usaha melakukan sampling mikroorganisme anaerob obligat dan anaerob fakultatif pada saluran akar, beberapa peneliti memeriksa flora gigi utuh dengan pulpa nekrotik. Pada pulpa yang mengalami nekrosis, pulpa terkurung dalam ruang yang dilingkupi oleh dinding yang kaku, tidak memiliki sirkulasi darah kolateral, dan vena serta sistm limfena akan lumpuh jika tekanan intrapulpanya meningkat. Karena tidak adanya sirkulasi darah pada pulpa nekrotik mekanisme pertahanan normal jaringan dan transfer oksigen tidak ada atau terganggu. Ruang pulpa menjadi media bakteri yang akan berinvasi. Cairan jaringan dan sel yang mengalami disintegrasi dari jaringan nekrotik membentuk substrat yang penting bagi mikroorganisme. Substrat-substrat makanan ini, tekanan oksigen yang rendah, dan interaksi bakteri merupakan ekologi yang penting bagi macam bakteri yang akan berkembang paling dominan, baik mikroorganisme aerob, anaerob, dan juga mikroorganisme fakultatif dapat ditemukan dalam saluran akar. Sebagian besar mikroorganisme yang disolasi dari gigi utuh nonvital adalah anaerob (Grossman dkk,1995 : 248).

Menurut Podbielski (2000), infeksi saluran akar seringkali disebabkan oleh bakteri fakultatif anaerob dan obligat anaerob. Henrici dan Hartzell (Dalam Grossman,1995) menemukan dominasi *Streptococcus viridans* (63%), diikuti oleh *Stapylococcus albus* (17%), *Diphthroid bacilli* (6,5%) dan aerob pembawa spora, di dalam pulpa bernanah. Sommer dkk. melaporkan bahwa organisme yang paling sering diisolasi dari saluran akar adalah *Streptococcus alfa-hemolitik*, dan *Streptococcus anhemolitik* (Grossman dkk, 1995:256).

Streptococcus sp tergolong bakteri yang bersifat fakultatif anaerob yang dapat hidup pada jaringan pulpa mati (saprofit), dapat tumbuh pada suatu lingkungan dengan tekanan oksigen rendah, dan tumbuh pada lingkungan dengan makanan yang terbatas. Sifat-sifat tersebut sesuai dengan kondisi nekrosis pulpa sebagian, pulpanya mengalami kematian tetapi masih memiliki vaskularisasi darah sehingga mekanisme transfer oksigen masih berfungsi walaupun terbatas.

Semua jenis mikroorganisme mempunyai kesempatan yang sama untuk masuk jaringan pulpa, tetapi hanya yang paling cocok dengan lingkungan yang dapat bertahan hidup (Grosman dkk,1995:255).

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti ingin mengetahui hunian *Streptococcus sp* pada saluran akar gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang diatas, penulis dapat merumuskan permasalahan sebagai berikut.

1. Apakah dalam saluran akar gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian terdapat bakteri *Streptococcus sp*.
2. Berapa besar hunian *Streptococcus sp* pada saluran akar gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian.

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini yaitu.

1. Untuk mengetahui adanya *Streptococcus sp* pada saluran akar gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian.
2. Untuk mengetahui besar hunian koloni *Streptococcus sp* pada saluran akar gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian.

1.4 Manfaat penelitian

Manfaat dapat diambil dari penelitian ini yaitu.

Dengan mengetahui adanya *Streptococcus sp* pada saluran akar gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian, maka dapat menentukan jenis antibakteri atau bahan sterilisasi yang tepat untuk perawatan saluran akar.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Perawatan Endodontik

Perawatan endodontik adalah perawatan saluran akar untuk mempertahankan gigi vital, gigi non vital dalam keadaan berfungsi dilengkung gigi (Harty, 1992:1). Selain itu, juga bertujuan untuk mempertahankan dan mengembalikan keadaan gigi tersebut agar dapat diterima secara biologi oleh jaringan sekitarnya (Bence,1990:1).

Perawatan endodontik merupakan usaha untuk mempertahankan gigi tetap berfungsi dalam mulut. Perawatan tersebut dilakukan melalui beberapa tahap yaitu preparasi ruang pulpa, sterilisasi saluran akar, dan pengisian saluran akar yang antara tahap satu dengan lainnya saling menunjang (Bence,1990:34).

Perawatan endodontik dapat dibagi dalam tiga fase: preparasi biomekanis saluran akar (pembersihan dan pembentukan), disinfeksi dan obturasi. Langkah pertama untuk pembersihan dan pembentukan saluran akar adalah jalan masuk yang benar ke kamar pulpa yang menghasilkan penetrasi garis lurus ke orifais saluran akar. Langkah selanjutnya adalah eksplorasi saluran akar, ekstirpasi jaringan pulpa yang masih tertinggal dan debrideman jaringan nekrotik. Langkah ini diikuti oleh instrumentasi, irigasi dan debridemen yang benar, serta sterilisasi saluran akar. Obturasi biasanya melengkapi prosedur (Grossman dkk, 1995:198).

Pembersihan dan pembentukan saluran akar yang memadai, tidak dapat mengandalkan antiseptik. Pemeriksaan histologik gigi tanpa pulpa, yang terapi saluran akarnya telah gagal sering menunjukkan bahwa akar hanya dibersihkan secara superfisial, bahkan jaringan pulpa tidak dikeluarkan. Pembersihan dan pembentukan saluran akar merupakan salah satu fase perawatan endodontik yang paling penting. Meskipun demikian, aspek lain dari perawatan tidak dapat diabaikan, karena semua saling berhubungan dan menunjang keberhasilan terapi endodontik (Grossman dkk, 1995:198).

Maksud pembersihan dan pembentukan saluran akar ada dua hal, yaitu: (1) membersihkan dan mendisinfeksi sistem saluran akar; (2) membentuk dinding saluran akar dan ujung apikal, dengan tujuan penutupan seluruh sistem saluran

saluran akar dan ujung apikal, dengan tujuan penutupan seluruh sistem saluran akar dengan bahan padat. Untuk membantu mencapai tujuan ini, saluran akar harus diperiksa secara radiografis dan dieksplorasi dengan alat-alat endodontik. Pemeriksaan termasuk penaksiran panjang saluran, bentuk, ukuran, kurvatur, jalan masuk orifais, lokasi foramina, bifurkasi, dan adanya kalsifikasi atau obstruksi. (Grossman, 1995 : 198).

2.2 Nekrosis Pulpa

A. Definisi

Nekrosis pulpa adalah matinya pulpa dapat sebagian atau seluruhnya, tergantung pada apakah sebagian atau seluruh pulpa terlibat. Meskipun nekrosis akibat suatu inflamasi, dapat juga terjadi setelah injuri traumatik yang pulpanya rusak sebelum terjadi inflamasi. Sebagai hasilnya, suatu infarksi iskemik dapat berkembang dan dapat menyebabkan suatu pulpa nekrotik dengan gangren kering (Grossman dkk, 1995 : 82).

B. Jenis.

Nekrosis pulpa terbagi menjadi dua tipe, yaitu: tipe koagulasi dan *liquefaction*. Pada nekrosis koagulasi, bagian jaringan yang dapat larut mengendap atau diubah menjadi bahan solid. Pengajuan (*caseation*) adalah suatu bentuk nekrosis koagulasi yang jaringannya berubah menjadi massa seperti keju terdiri terutama atas protein yang mengental, lemak, dan air. Nekrosis *liquefaktion* terjadi bila enzim proteolitik mengubah jaringan menjadi massa yang lunak, suatu cairan, atau depris amorfus (Grossman dkk, 1995 : 82).

C. Penyebab dan Gejala-gejala.

Nekrosis pulpa dapat disebabkan oleh injuri yang membahayakan pulpa seperti bakteri, trauma, dan iritasi kimiawi. Gigi yang kelihatan normal dengan pulpa nekrotik tidak menyebabkan gejala rasa sakit. Diskolorasi gigi adalah indikasi pertama bahwa pulpa mati. Penampilan mahkota yang buram atau opak hanya yang disebabkan karena translusensi normal yang jelek, tetapi kadang-kadang gigi mengalami perubahan warna keabu-abuan atau kecoklat-coklatan yang nyata dan dapat kehilangan kecemerlangan dan kilauan yang biasa dipunyai.

Adanya pulpa nekrotik mungkin ditemukan hanya secara kebetulan, karena gigi macam itu adalah asimtomatik, dan radiograf adalah nondiagnostik. Gigi dengan nekrosis sebagian dapat bereaksi terhadap perubahan termal, karena adanya serabut saraf vital yang melalui jaringan inflamasi didekatnya (Grosman dkk, 1995 : 82).

D. Diagnosis.

Radiograf umumnya menunjukkan suatu kavitas atau tumpatan besar, suatu jalan terbuka ke saluran akar, dan suatu penebalan ligamen periodental. Beberapa gigi tidak mempunyai kavitas ataupun tumpatan, dan pulpanya mati sebagai akibat trauma. Sedikit pasien mempunyai riwayat rasa sakit parah yang berlangsung beberapa menit sampai beberapa jam, diikuti oleh penghentian seluruh rasa sakit yang terjadi spontan. Pada kasus lain, pasien tidak sadar bahwa pulpa telah mati secara perlahan-lahan dan diam-diam, tanpa gejala. Gigi dengan pulpa nekrotik tidak bereaksi terhadap dingin, tes pulpa listrik, atau tes kavitas. Namun demikian, pada kasus yang jarang terjadi, timbul suatu reaksi minimal terhadap arus maksimum tester pulpa listrik bila arus listrik dikonduksi melalui uap lembab yang terdapat pada saluran akar setelah pencairan nekrosis ke jaringan vital tetangganya. Pada pasien lain, beberapa serabut saraf apikal terus bertahan dan bereaksi dengan cara yang sama. Serabut saraf tahan terhadap perubahan inflamasi. Suatu korelasi tes dingin dan tes listrik dan suatu riwayat rasa sakit, bersama dengan pemeriksaan klinis yang cermat, harus menentukan suatu diagnosis yang tepat (Grossman dkk, 1995 : 83).

E. Bakteriologi dan Histopatologi.

Banyak bakteri yang telah diisolasi dari gigi dengan pulpa nekrotik. Pada persentase tinggi kasus-kasus ini, saluran akar berisi suatu campuran flora mikrobial, aerobik. Jaringan pulpa nekrotik, debris selular, dan mikroorganisme mungkin terlihat didalam kavitas pulpa. Jaringan periapikal mungkin normal, atau menunjukkan sedikit inflamasi yang dijumpai pada ligamen periodontal (Grossman dkk, 1995 : 83).

F. Pemeriksaan dan Perawatan

Derajat respons inflamasi pulpa yang berkisar antara pulpitis reversibel sampai ke nekrosis pada gigi dengan akar banyak mungkin saja terjadi dan adakalanya menyebabkan kebingungan selama pengetesan reaksi pulpa. Lagi pula, efek nekrosis jarang terbatas hanya pada saluran akar saja. Dengan demikian, karena menyebarnya reaksi inflamasi ke jaringan sekitar akar, gigi dengan pulpa nekrosis sering sensitif terhadap perkusi dan palpasi. Sensitivitas terhadap palpasi adalah indikasi tambahan dari terkenanya jaringan sekitar akar. Perawatan saluran akar atau pencabutan biasanya merupakan indikasi bagi gigi-gigi seperti ini (Grossman dkk, 1995 : 84).

2.3 Flora Bakterial Saluran Akar

Flora mikrobial saluran akar terdiri dari organisme yang dapat hidup pada jaringan pulpa yang dapat tumbuh pada satu lingkungan dengan tekanan oksigen rendah, dan yang dapat bertahan dalam lingkungan dengan makanan terbatas. Organisme yang mencapai saluran akar jelas berasal dari mulut. Meskipun semua macam mikroorganisme mungkin mempunyai kesempatan sama untuk menyerbu jaringan pulpa atau saluran akar, hanya yang paling cocok dengan lingkungan yang dapat bertahan. Suatu sensus mikroorganisme yang ditemukan didalam jaringan pulpa atau saluran akar menunjukkan bahwa organisme mulut yang paling umum, *Streptococcus* yang paling sering ditemukan didalam saluran akar. Salah satu masalah endodontik adalah menghilangkan organisme gram positif, karena organisme ini adalah yang paling berlimpah, terdiri terutama dari *Streptococcus* dan *Staphylococcus*. Diantara *Streptococcus* terdapat kelompok *Enterococcus* yang kecil tetapi resisten. Selain itu, sejumlah kecil organisme gram-negatif dan jamur dapat diisolasi dari ludah dan saluran akar (Grossman dkk, 1995 : 248).

Henrici dan Hartzell menemukan dominasi *Streptococcus viridans* (63%), diikuti oleh *staphylococcus albus* (17%), *Diphtheroid bacili* (6,5%) dan aerob pembawa-spora, *staphylococcus aerus*, *Bacillus proteus*, *streptococcus haemolyticus*, dan *B. coli*, didalam pulpa bermanah. Sommer dkk. melaporkan

bahwa organisme yang paling sering diisolasi dari saluran akar adalah *Streptococcus alfa-hemolitik*, seperti misalnya *Streptococcus viridans*. Delapan puluh dua persen dari 357 biakan mengandung *Streptococcus*, 53% pada biakan murni. *Streptococcus beta-hemolitik* ditemukan pada kurang dari 2% biakan, dan *Streptococcus anhemolitik* (kelompok gamma), terutama *Enterococcus* (Lancefield kelompok D), terdiri dari sekitar 9% jumlah yang diisolasi. Mikroorganisme lain yang terdapat pada 357 biakan semula antara lain adalah *Staphylococcus*, *Laktobasilus*, jamur, aktinomises, *Basilus gram-negatif*, dan *coccus gram-positif* (Grossman dkk, 1995 : 256).

2.4 *Streptococcus*

Streptococcus adalah bakteri gram positif berbentuk bulat yang secara khas membentuk pasangan atau rantai selama pertumbuhannya. Bakteri ini tersebar luas di alam. Beberapa diantaranya adalah anggota flora normal pada manusia; yang lainnya dihubungkan dengan penyakit-penyakit penting pada manusia yang sebagian disebabkan oleh infeksi *Streptococcus*, dan sebagian lagi sensitif terhadap bakteri ini (Jawetz dkk, 1996 : 218).

Sifat-sifat umum coccus gram positif tersusun dalam bentuk rantai tidak bergerak dan tidak berspora. Memerlukan perbenihan diperkaya dengan darah, serum atau cairan ascites. *Streptococcus* merupakan kuman patogen penting penyebab infeksi bernanah dengan sifat khasnya adalah kecenderungan untuk menyebar. Juga dapat menyebabkan lesi nonsupuratif seperti demam penyakit akut dan glomerulonefritis (Gupte, 1990 : 65).

Streptococcus adalah golongan bakteri yang heterogen untuk mengklasifikasikannya berdasarkan kombinasi sifatnya; sifat pertumbuhan koloni, pola hemolisis pada agar darah (hemolisis α , hemolisis β , atau tanpa hemolisis), susunan antigen pada zat dinding sel yang spesifik untuk golongan tertentu, dan reaksi-reaksi biokimia (Jawetz dkk, 1996:218).

2.4.1 Morfologi dan Identifikasi

A. Ciri-Ciri Khas Organisme

Coccus tunggal berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam bentuk rantai. Coccus membelah pada bidang yang tegak lurus sumbu panjang rantai. Anggota-anggota rantai sering tampak sebagai diplokokus, dan bentuknya kadang-kadang menyerupai batang, panjang rantai sangat bervariasi dan sebagian besar ditentukan oleh faktor lingkungan. *Streptococcus* bersifat gram positif. Namun, pada biakan tua dan bakteri yang mati bakteri ini menjadi gram-negatif, keadaan ini dapat terjadi jika bakteri dieramkan semalam. (Jawetz dkk, 1996:218).

Beberapa *Streptococcus* mengeluarkan polisakarida simpai seperti yang ada pada *Phemumococcus*. Sebagian besar strain golongan A, B, dan C membentuk simpai yang tersusun atas asam hialuronat. Simpai tampak jelas pada biakan yang amat muda. Simpai ini menghalangi fagositosis. Dinding sel *Streptococcus* mengandung protein (antigen M,T,R), karbohidrat (spesifik untuk golongan), dan peptidoglikan. Pili seperti rambut menonjol keluar menembus simpai *Streptococcus* golongan A. Pili tersebut sebagian terdiri atas protein M dan ditutupi oleh asam lipoteikoat. Asam lipoteikoat sangat penting untuk perlekatan *Streptococcus* pada sel epitel. (Jawetz dkk, 1996 : 218).

B. Biakan

Kebanyakan *Streptococcus* tumbuh dalam perbenihan padat sebagai koloni diskoid dengan diameter 1-2 mm. Strain yang menghasilkan bahan simpai sering membentuk koloni mukoid. Koloni-koloni strain golongan A yang suram dan yang mengkilat (Jawetz dkk 1996 : 218).

C. Sifat-Sifat Khas Pertumbuhan

Energi terutama diperoleh dari penggunaan gula. Pertumbuhan *Streptococcus* cenderung menjadi kurang subur pada perbenihan padat atau dalam kaldu, kecuali yang diperkaya dengan darah atau cairan jaringan. Kebutuhan makanan bervariasi untuk setiap spesies. Kuman yang patogen bagi manusia paling banyak memerlukan faktor-faktor pertumbuhan. Pertumbuhan dan hemolisis dibantu oleh pengeraman dalam CO₂ 10% (Jawetz dkk, 1996 : 220).

Streptococcus hemolitik patogen tumbuh paling baik pada suhu 37°C, *Enterokokus* golongan D tumbuh baik pada suhu antara 15°C dan 45°C. *Enterokokus* juga tumbuh pada agar dengan natrium klorida konsentrasi tinggi (6,5%), dalam metilen biru 0,1% dan dalam empedu-eskulin. Kebanyakan *Streptococcus* bersifat fakultatif anaerob (Jawetz dkk, 1996 : 220).

Bakteri semi *Streptococcus* tumbuh baik antara 15° dan 45°C. *Streptococcus* tumbuh juga dalam konsentrasi natrium klorida tinggi tinggi (6,5%) dan pada metil biru 0,1% dan dalam agar-agar empedu eskulin dan agar darah atau agar yang di per kaya. *Streptococcus* juga tumbuh dalam Nacl 6,5% atau empedu 49% (Jawetz dkk, 1992 : 220).

D. Variasi

Variasi strain *Streptococcus* yang sama dapat menunjukkan bentuk koloni yang berbeda. Hal ini amat nyata diantara strain golongan A, yang membentuk koloni suram atau mengkilat. Koloni yang suram terdiri atas organisme yang menghasilkan banyak protein M. organisme ini cenderung virulen dan relatif kebal terhadap fagositosis oleh leukosit manusia. Koloni yang mengkilat cenderung menghasilkan sedikit protein M dan sering tidak virulen (Jawetz dkk, 1996 : 220).

2.4.2 Klasifikasi *Streptococcus*

Selama bertahun-tahun, klasifikasi *Streptococcus* dikelompokkan menjadi beberapa kategori utama berdasarkan suatu seri berikut ini : (1) morfologi koloni dan reaksi hemolitik pada agar darah; (2) spesifisitas serologik dari unsur dinding sel golongan-spesifik (klasifikasi Lancefield) dan dinding sel lain atau antigen simpai ; (3) reaksi biokimia dan resistensi terhadap faktor-faktor fisik dan kimia ; dan (4) sifat ekologiknya. Pada tahun 1980-an, dilakukan juga tes-tes biokimia dan genetik molekuler untuk mempelajari hubungan antara spesies *Streptococcus* yang satu dengan yang lain. penggabungan cara-cara diatas memungkinkan suatu klasifikasi *Streptococcus* dengan tujuan klinik dan epidemiologi, tetapi telah diperkenalkan cara-cara baru seperti klasifikasi yang telah tersusun, dengan hasil bahwa beberapa klasifikasi yang telah dijelaskan. Pada beberapa kasus nama spesies yang berbeda digunakan untuk menerangkan organisme yang sama; dan

ditempat lain, beberapa anggota dari spesies yang sama juga meliputi spesies lain atau yang diklasifikasikan secara terpisah (Jawetz dkk, 1996 : 222).

2.5 Pembiakan Bakteriologi

Pembiakan adalah proses memperbanyak organisme dengan menyediakan keadaan lingkungan yang tepat. Mikroorganisme yang sedang tumbuh membuat tiruan dirinya sendiri; untuk ini dibutuhkan unsur-unsur yang ada dalam komposisi kimia organisme itu. Zat makanan harus mengandung berbagai unsur ini dalam bentuk yang dapat diolah lewat metabolisme. Selain itu, organisme membutuhkan energi metabolik untuk mensintesis makro molekul dan mempertahankan gradien kimia utama lintas selaputnya. Berbagai faktor yang harus dikendalikan selama pertumbuhan adalah zat makanan, pH, suhu, udara, kadar garam, serta kuat ion dari pembenihan (Jawetz dkk, 1996 : 59).

2.5.1 Persyaratan Untuk Pertumbuhan

Sebagian besar bobot kering mikroorganisme adalah bahan organik yang mengandung karbon, hidrogen, nitrogen, oksigen, fosfor, dan belerang. Selain itu, ion anaeroborganik misalnya kalium, natrium, besi, magnesium, kalsium dan klorida dibutuhkan untuk mempermudah katalisis enzimatik dan untuk mempertahankan gradien kimia lintas selaput sel (Jawetz dkk, 1996 : 59).

Untuk tumbuh, organisme membutuhkan semua unsur dalam bahan organiknya dan semua ion yang dibutuhkan untuk pengolahan energi dan katalisis. Selain itu, harus ada sumber energi untuk membuat gaya gerak proton dan untuk memungkinkan sintesis makro molekul. Kebutuhan gizi dan sumber-sumber energi metabolik pada berbagai mikroorganisme sangat beragam (Jawetz dkk 1996 : 59).

2.5.2 Media Biakan Bakteri

Meskipun tidak semua mikroorganisme yang terdapat didalam saluran akar tumbuh pada media biakan yang tersedia, terutama anaerob obligat, tetapi bila terbuka terhadap udara selama perawatan endodontik atau terhadap bahan kimiawi yang digunakan dalam saluran akar, seperti misalnya sodium hipoklorit,

akan memusnakan anaerob obligat. Pada suatu studi in vitro (Grossman, 1995 : 258-259).

Beberapa media cocok untuk membiakan bahan dari saluran akar, seperti *brain heart infusion broth* dengan agar 0,1% *trypticase soy broth* dengan agar 0,1% (TSA), *thiolglycollate* dan *glucose ascites broth*. Leavitt dkk, menganjurkan penambahan 0,1% agar dalam TSA untuk memudahkan pertumbuhan anaerob. Peneliti-peneliti lain menganjurkan penambahan zat cair ascitic 5% atau serum kuda 10% untuk memungkinkan organisme fastidus bertumbuh. Selain itu lebih baik menggunakan tabung tinggi yang diisi sampai hampir penuh untuk pembiakan daripada tabung pendek, guna mendapatkan tingkat tegangan oksigen yang berbeda pada berbagai permukaan dalam medium biakan (Grossman, 1995 : 259).

Moller mengembangkan suatu medium biakan dasar berisi daging anak lembu, jantung anak lembu, produk pepton dalam gel agar, dan suplemen tertentu. Diperoleh pertumbuhan lebih baik daripada dengan media kering komersial. Pada sampling pada saluran akar 5000 gigi manusia, 90 sampai 95% sempel positif menunjukkan pertumbuhan setelah 4 hari, tetapi inkubasi dilanjutkan selama 2 minggu untuk memberi waktu bagi organisme yang tumbuhnya lambat untuk memberi hasil positif. Organisme yang dominan adalah *Streptococcus* alfa-hemolitik, *Laktobasilus*, dan anaerob termasuk kokus gram-positif, seperti *Peptococcus* dan *Streptococcus* serta rod gram-positif, seperti *Eubakteria*, dan *Korinebakteria* (Grossman, 1995 : 259)

Bakteri semi *Streptococcus* tumbuh baik antara 15°C dan 45°C. *Streptococcus* tumbuh juga dalam konsentrasi natrium klorida tinggi (6,5%) dan pada metill biru 0,1% dan dalam agar-agar empedu eskulin dan agar darah atau agar yang diperkaya *Streptococcus* juga tumbuh dalam NaCl 6,5% atau empedu 49% (Jawetz dkk, 1992 : 220).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Macam, Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Macam penelitian

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif laboratoris.

3.1.2 Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di klinik Konservasi Gigi RSGM FKG Universitas Jember dan Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik FKG Universitas Jember.

3.1.3 Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2005 sampai Maret 2005.

3.2 Variabel

3.2.2 Variabel bebas

Gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian.

3.2.3 Variabel terikat

Hunian *Streptococcus sp.*

3.2.4 Variabel terkontrol

1. Lama pengambilan sampel dalam saluran akar 60 detik.
2. Lama pertumbuhan pada media cair Thyoglikolat 72 jam.
3. Lama inkubasi 24jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dengan suhu 37°C.
4. Kriteria sampel.

3.3 Sampel

3.3.1 Kriteria sampel

Kriteria sampel yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Usia antara 17 – 40 tahun.
2. Gigi akar tunggal dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian oleh karena karies.

3.3.2 Jumlah sampel

Jumlah sampel untuk tiap perlakuan pada *Streptococcus sp* adalah 7 pasien. Dengan rumus :

$$N = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 Sc^2}{\delta^2}$$

Dimana nilai Sc^2 dan δ^2 sama, sedangkan $Z\alpha = 1,165$ ($\alpha = 0,05$ satu arah) dan $Z\beta = 0,84$ ($\beta = 0,20$). Dengan demikian besar sampel adalah $n = 4,2$ maka besar sampel minimum pada penelitian ini adalah 5 (Higgins, 1985:24).

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

- a. Tabung reaksi
- b. Rak tabung reaksi
- c. Erlenmeyer dan pengaduknya
- d. Petridish steril
- e. Lampu bunsen
- f. Pinset
- g. *Inkubator* (Binder, U.S.A)
- h. *Autoclave* (Hanshin Medical Co. L.T.D, Cina)
- i. *Deck glass*
- j. *Slide glass*
- k. Ose
- l. Mikroskop cahaya (Leica, USA)
- m. *Colony counter* (Nakamura, Jepang)
- n. *Dessicator* (Schott, Jerman)
- o. *Thermolyne* (Maxi mix II, USA)
- p. *Neraca* (Ohaus, Jerman)
- q. *Laminar Flow* (Super clean bench, Korea)
- r. Mikropipet dan *penotip* (Eppendorf research, jerman)
- s. Kaca mulut
- t. Sonde

- u. *High speed* dan mata burnya
- v. *Dappen glass*
- w. *Syringe*

3.4.2 Bahan

- a. Media padat streptococcus
- b. PZ (0,9% Nacl)
- c. Gram A (*Initial stain*)
- d. Gram B (*Mordant*)
- e. Gram C (*Selective decolorizer*)
- f. Gram D (*Counter stain*)
- g. Aquades steril
- h. *Paper point* steril
- i. Alkohol 90%
- j. Minyak emersi
- k. Thyoglikolat (OXOID,USA)

3.5 Pelaksanaa Penelitian

3.5.1 Cara Pembuatan Media Cair Thyoglikolat

Campurkan 29,4 gr bubuk thiyoglikolat (produksi pabrik) dengan 1 liter aquades steril didalam tabung erlenmeyer. Lalu aduk sampai terbentuk larutan, pastikan tidak ada bahan yang mengendap. Didihkan sampai tercapai keadaan larutan yang sempurna dan homogen. Sterilisasikan pada *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit, lalu biarkan sampai dingin pada suhu 25°C (OXOID,USA)

3.5.2 Cara Pengambilan Sampel

Sampel bakteri diambil dari saluran akar gigi yang didiagnosa nekrosis pulpa sebagian di bagian Konservasi RSGM FKG Unej sebanyak 7 pasien yang telah dilakukan *cavity entrance* sebelum dilakukan *ekstirpasi*. Langkah-langkah pengambilan sampel bakteri adalah sebagai berikut:

- a. Anestesi

- b. Asepsis dengan alkohol pada gigi yang bersangkutan dan jaringan sekitarnya
- c. Pembuatan *cavity entrance* dengan *fissure bur*
- d. Irigasi dengan aquades steril.
- e. Memasukan *paperpoint* steril sampai ujung *paperpoint* tidak dapat masuk dalam saluran akar, dibiarkan selama 60 detik
- f. *Paperpoint* dikeluarkan dari saluran akar
- g. Kemudian dimasukan dalam tabung reaksi yang berisi media cair *thyoglikolat*, tutup dengan kapas steril
- h. Memasukan dalam *inkubator* selama 72 jam pada suhu 37°C untuk membiakan bakteri (Grossman1995:260)

3.5.3 Cara Pembuatan Media Agar *Streptococcus*

Suspensikan 76,4 gr bubuk agar *streptococcus* dalam 1 liter air destilasi atau air deionisasi, biarkan sampai mendidih dan homogen dilanjutkan pemanasan selama 5 menit, hindari pemanasan berlebihan yang dapat mempengaruhi produktivitas medium. Jangan *diautoclave*, letakkan pada suhu 50°C.

Tambahkan 1 ml larutan bacto TCC 1 % tiap 100 ml media campurkan sampai diperoleh keadaan homogen, dinginkan pada suhu 45 - 50°C kemudian dituangkan ke dalam petridish masing-masing 25 ml (DIFCO, Germany)

3.5.4 Pemiakan *Streptococcus sp*

Ambil 1 cc bakteri dari media *thyoglicolat* lalu lakukan pengenceran 10⁻³ dengan aquades steril. Ambil 100 mikroliter bakteri dari hasil pengenceran dengan menggunakan pipet mikroliter dan teteskan di dasar petridish yang telah disterilkan. Lalu tuangkan media agar *Streptococcus* sebanyak 25 ml ke dalam petridish. Lalu lakukan gerakan memutar (*poured plate*) agar media dan bakteri tercampur dan bakteri dapat tercampur sehingga pertumbuhan bakteri dapat merata keseluruh media agar tersebut (semuanya dilakukan dalam *laminar flow*). Tunggu sampai media mendingin lalu letakkan dalam *dessicator* dalam posisi terbalik. Masukkan ke dalam inkubator selama 1 x 24 jam, 2 x 24 jam dan 3 x 24 jam. Kemudian dihitung jumlah koloninya dengan *colony counter* setiap 24 jam (Sunaryo, 2001:26)

3.5.5 Cara menghitung koloni *Streptococcus sp*

Penghitungan koloni pada penelitian ini menggunakan *colony counter*. Cara penggunaan *colony counter* adalah pertama media cawan petri yang sudah ada pertumbuhan koloninya diletakkan didalam alat tersebut dengan posisi bagian yang banyak koloninya diletakkan di bagian atas. Lalu ditekan tombol lampu untuk menerangi petridish dengan kecepatan transmisi cahaya dan digunakan kaca pembesar supaya koloni dapat dihitung secara tepat. Pada alat tersebut terdapat 48 kotak yang dibatasi kotak cross, tetapi kita hanya mengambil 30 kotak secara random, tiap kuadran diambil 7-8 kotak secara random. Pada setiap kotak yang bernomer dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri secara valid dengan batasan 30-300 koloni bakteri setiap petridish. Jumlah koloni ditunjukkan tombol pada sisi kiri dan sisi kanan untuk pengukuran operator sehingga operator dapat secara tepat meneliti sejumlah besar pertumbuhan koloni dalam waktu pendek dan kesalahan dapat ditekan lebih kecil. Penghitungan dilakukan oleh tiga pengamat (Alcarno, 1983:59.176)

			7	8			
		3	4	5	6		
	3		1	2		3	
7	4	1			1	4	7
	5	2			2	5	
	6		1	2		6	
		3	4	5	6		
			7	8			

Gambar 1 Cara penghitungan dengan *colony counter*

3.6 Identifikasi bakteri *Streptococcus sp*

3.6.1 Cara Membuat Sediaan Hapusan

1. Ambil biakan bakteri *Streptococcus* dari petridish yang telah diinkubasi selama 3 x 24 jam.
2. Tetesi Gelas obyek dengan PZ kemudian ambil kuman dengan ose dari petridish kemudian diratakan.
3. Kuman yang diambil diletakkan pada gelas objek ditengah-tengah tetesan PZ
4. Gelas objek yang sudah dibubuhi dengan kuman dikeringkan dengan udara atau jauh di atas api.
5. Bila sediaan sudah dingin baru dilakukan pengecatan (Sunaryo,2001:16).

3.6.2 Pewarnaan Hapusan Media

Setelah sediaan hapusan telah selesai dibuat maka dilakukan pengecatan gram. Cara melakukan pengecatan gram adalah sebagai berikut:

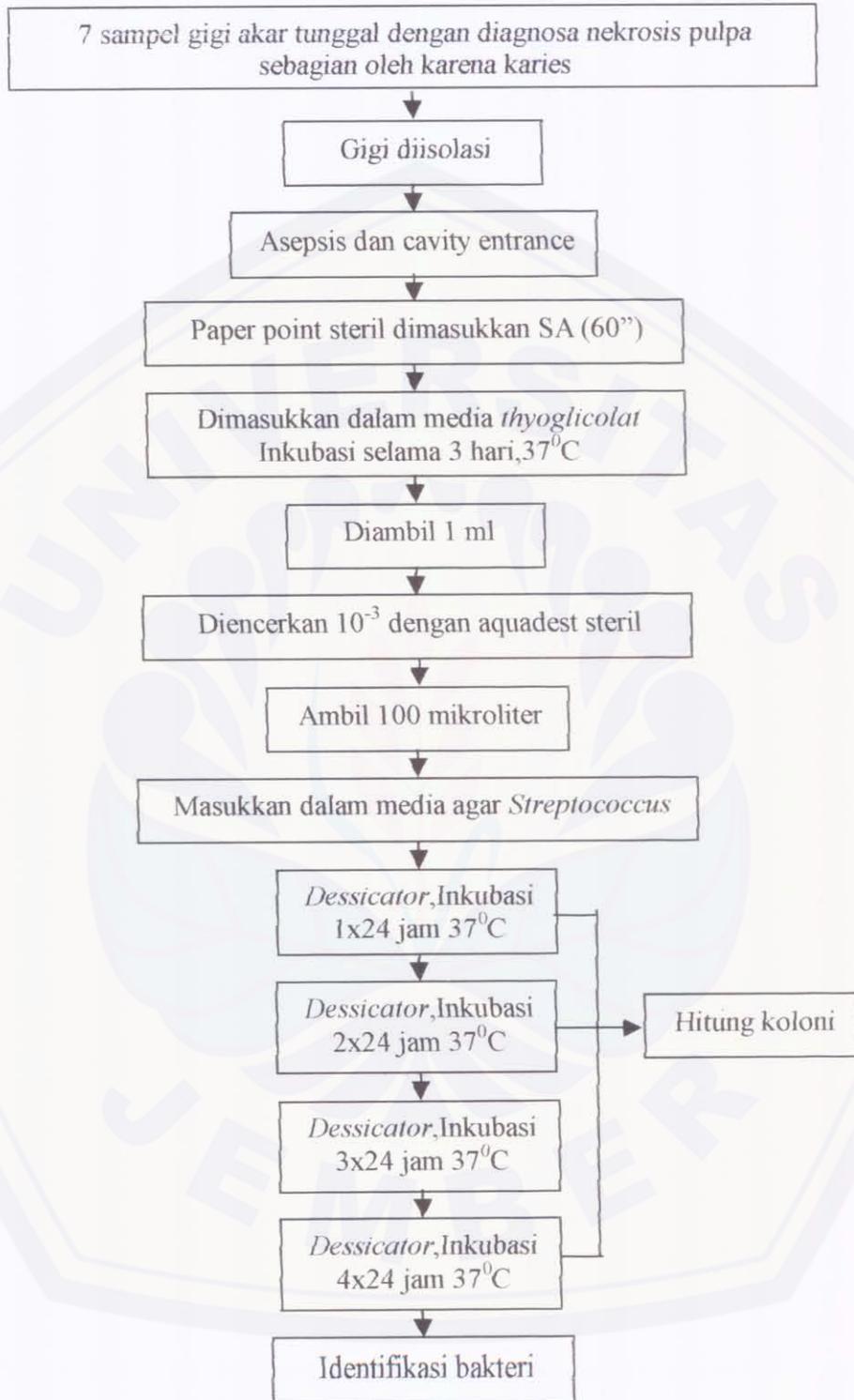
- a. Gelas obyek yang sudah bersih dan sudah dioles kuman-kuman yang akan diperiksa sudah siap untuk dicat.
- b. Sediaan ditetesi zat warna carbol gentian violet (I) selama 3 menit
- c. Carbol gentian violet dibuang dan dituangi larutan lugol (mordant) selama 1 menit
- d. Lugol dibuang dan sediaan dilunturkan dengan alkohol 96% selama 1 menit.
- e. Sediaan dialiri dengan air selama 1 menit untuk menghilangkan sisa bahan peluntur yang mungkin masih tertinggal pada sediaan
- f. Kemudian sediaan dicat dengan air fuchsin (II) selama 2 menit
- g. Sediaan disiram dengan air selama waktu yang diperlukan untuk menghilangkan sisa-sisa zat warna, lalu dikeringkan dan siap dilihat dibawah mikroskop dengan cara sebagai berikut: teteskan minyak emersi pada sediaan hapusan yang baik untuk diperiksa dan ditutup dengan kaca. Kemudian dilihat dengan pembesaran objektif yang sesuai (pembesaran 100x) (Sunaryo, 2001:11-12)

3.7 Analisa Data

Data disajikan dalam bentuk tabel, diagram batang dan foto hasil penelitian.



3.8 Skema Penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian

IV. HASIL DAN ANALISA DATA

4.1 Hasil

Penelitian untuk mengidentifikasi *Streptococcus sp.* Pada saluran akar gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian di Laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember pada bulan Januari-Maret dengan jumlah sampel 7 orang. Hasil perhitungan besar hunian *Streptococcus sp* pada *colony counter* dapat dilihat pada Tabel 1.

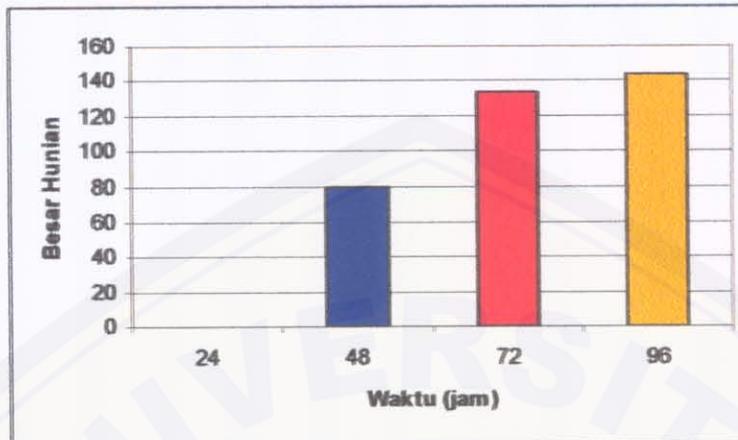
Tabel 1. Tabel besar hunian *Streptococcus sp* (CFU/100 μ l)

	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam
1	-	67	121	142
2	-	72	135	148
3	-	89	137	143
4	-	90	134	145
5	-	81	129	139
6	-	70	126	138
7	-	83	133	148
$\sum n$	-	552	915	1003
x	-	79	131	143

Keterangan : x = rata-rata

Tabel 1 menunjukkan rata-rata besar hunian *Streptococcus sp* pada waktu 24 jam belum tampak adanya pertumbuhan bakteri, pada 48 jam 79 CFU/100 μ l, pada 72 jam 131 CFU/100 μ l, dan pada 96 jam 143 CFU/100 μ l .

Koloni Streptococcus



Gambar 3. Diagram batang besar hunian *Streptococcus sp*

Keterangan :

Diagram batang menunjukkan besar hunian *Streptococcus sp* pada 24 jam belum ada pertumbuhan, pada 48 jam 79 CFU/100 μ l, pada 72 jam 131 CFU/100 μ l dan pada 96 jam 143 CFU/100 μ l.



V. PEMBAHASAN

Jaringan pulpa merupakan suatu jaringan yang terdiri dari jaringan ikat dengan vaskularisasi tinggi. Jaringan inilah yang bereaksi bila ada suatu rangsangan atau iritasi terhadap gigi yang berupa respon inflamasi dan bila tidak dinetralisir akan berkelanjutan menjadi nekrosis pulpa atau kematian pulpa (Ingle dan Taintor, 1985 : 618-625).

Penyakit pulpa dan jaringan periradikuler gigi secara langsung atau tidak berhubungan dengan mikroorganisme. Iritasi mikroba, mekanis atau kimia terhadap jaringan pulpa dan jaringan periradikuler akan mengakibatkan inflamasi. Karies dan mikroorganisme didalam saluran akar merupakan sumber utama iritan mikroba (Walton dan Torabinejad, 1998 : 41).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya hunian bakteri *Streptococcus sp* pada pasien dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian di klinik Konservasi RSGM FKG Universitas Jember. Pemeriksaan mikrobiologi dengan cara melakukan pembiakan *Streptococcus sp* pada media agar khusus yaitu *Streptococcus* agar.

Flora mikrobial saluran akar terdiri dari organisme yang dapat hidup pada jaringan pulpa mati yaitu saprofit, yang dapat tumbuh pada suatu lingkungan dengan tekanan oksigen rendah, dan tumbuh pada lingkungan dengan makanan yang terbatas. Meskipun semua jenis mikroorganisme mempunyai kesempatan yang sama untuk masuk ke jaringan pulpa atau saluran akar hanya yang paling cocok dengan lingkungan yang dapat bertahan hidup (Grosman dkk, 1995:255). Berdasarkan karakteristik kondisi lingkungan saluran akar tersebut, terdapat kemungkinan bahwa *Streptococcus* dapat tumbuh dalam saluran akar dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian. Hal itu disebabkan bahwa sifat-sifat pertumbuhan *Streptococcus sp* sesuai dengan kondisi lingkungan pulpa atau saluran akar.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat pertumbuhan *Streptococcus sp*. Hal ini sesuai dengan pendapat Skuster (dalam Wulandari, 1994:14) bahwa sebagian besar bakteri penyebab infeksi pulpa dan infeksi

jaringan periapikal adalah bakteri fakultatif anaerob yaitu *Streptococcus* dan *Staphylococcus*. Grosman (1995 : 289) menyatakan bahwa *Streptococcus* dan *Staphylococcus* merupakan penyebab infeksi pulpa dan infeksi jaringan perapikal. Penelitian lain menyatakan ditemukan bakteri *Streptococcus sp* sebesar 28% pada saluran akar (Mazzarella dalam Grosman dkk, 1995:256-257).

Untuk mengidentifikasi apakah terdapat *Streptococcus* pada saluran akar gigi dan bagaimana pertumbuhan koloni dapat dilakukan dengan menggunakan media agar. Pada penelitian ini menggunakan media Streptococcus agar. Streptococcus agar adalah media spesifik untuk bakteri *Streptococcus sp*, bakteri lain tidak dapat tumbuh pada media tersebut. Oleh karena itu, dapat dipastikan bahwa koloni bakteri yang tumbuh pada lempeng agar adalah *Streptococcus sp*.

Streptococcus sp tumbuh dalam perbenihan padat sebagai koloni diskoid dengan diameter 1-2 mm. *Streptococcus sp* tumbuh paling baik pada suhu 37⁰C. untuk golongan *Enterococcus* tumbuh pada agar dengan natrium klorida konsentrasi tinggi (6,5%), pada suhu 15⁰C dan 45⁰C, dalam mettilen biru 0,1% dan dalam empedu eskulin. Sebagian besar *Streptococcus sp* bersifat fakultatif anaerob. Energi terutama diperoleh dari penggunaan gula (Jawetz dkk, 1996:220).

Streptococcus sp adalah gram positif berbentuk bulat secara khas membentuk pasangan atau rantai selama masa pertumbuhannya dan *Streptococcus sp* merupakan gram positif, yang tidak bergerak dan tidak berspora. Anggota rantai sering tampak sebagai diplokokus dan bentuknya kadang-kadang menyerupai batang, panjang rantai sangat bervariasi dan sebagian besar ditentukan oleh faktor lingkungan (Jawetz dkk, 1996:218). Hasil pengecatan gram tampak berwarna ungu artinya *Streptococcus sp* adalah gram positif. Bentuk bakteri *Streptococcus sp* pada pengecatan adalah coccus dengan rangkaian berbentuk rantai dan tidak bergerak. Di bawah mikroskop terlihat gram positif berwarna ungu sedangkan gram negatif berwarna merah (Sunaryo, 2001:12). Hal ini, karena kuman gram positif tahan terhadap pelunturan sehingga tampak berwarna ungu. *Streptococcus sp* dapat menyerap bahan tersebut dan waktu diberi bahan peluntur (*selective decolorizer*), pewarnaan tidak luntur sehingga hasil pengecatan berwarna ungu.

Hunian bakteri pada hari pertama tidak bisa dihitung karena belum ada pertumbuhan koloni, pada hari kedua adalah 79 CFU/100 μ l; hari ketiga adalah 131 CFU/100 μ l dan hari keempat adalah 143 CFU/100 μ l. Pada 24 jam belum ada pertumbuhan bakteri disebabkan 24 jam pertama setelah inokulasi bakteri mengalami proses pengenalan lingkungan. Pada hari kedua (48 jam) dan ketiga (72 jam) terjadi pertumbuhan yang sangat besar, pada saat ini bakteri berada pada kondisi paling baik untuk berkembang didukung cukup tersedianya sumber nutrisi bakteri. Pada hari keempat peningkatan pertumbuhannya berkurang ini disebabkan persediaan makanan yang ada pada media semakin berkurang sedangkan jumlah bakteri semakin banyak, kondisi media yang semakin memburuk, perubahan pH, dan tertimbunnya sisa metabolisme

Hasil penelitian menunjukkan adanya penambahan jumlah hunian pada hari pertama sampai hari keempat. Penambahan jumlah hunian bakteri akan meningkat pada hari-hari selanjutnya sampai pertumbuhan bakteri sampai pada fase mati. Pertumbuhan bakteri sesuai dengan hukum logaritma. Pada 24 jam pertama belum ada pertumbuhan bakteri karena baru memasuki fase pertama yaitu 1 sampai 24 jam setelah pemindahan, bakteri mengalami proses pengenalan lingkungan sehingga fase ini disebut fase adaptasi. Fase kedua dimulai setelah 48 jam, dimana jumlah bakteri mulai bertambah sedikit demi sedikit. Pada fase kedua merupakan fase pembiakan cepat. Pada fase ini pembiakan bakteri berlangsung paling cepat. Pada fase ini sangat baik untuk melakukan inokulasi. Fase berikutnya disebut fase diperlambat. Pada fase ini kecepatan berkembang biak menjadi sangat berkurang. Hal ini, kemungkinan karena terjadi perubahan pada kondisi medium. Misalnya, keadaan medium memburuk, perubahan pH, tertimbunnya zat-zat kotoran. Kemudian pada fase selanjutnya dimana jumlah bakteri yang berkembang biak sama dengan jumlah bakteri yang mati. Kurva pertumbuhan menunjukkan garis yang horisontal. Sehingga fase ini disebut fase konstan. Fase ini disusul fase kematian dimana jumlah bakteri yang mati semakin banyak. Bakteri yang berkembang lebih sedikit dibanding dengan bakteri yang mati.

Lempeng agar mengalami perubahan warna dari yang semula berwarna keunguan secara perlahan mengalami perubahan warna menjadi kekuningan. Perubahan ini dimulai di sekeliling koloni yang semakin meluas dengan bertambahnya jumlah koloni bakteri. Hal ini disebabkan karena beberapa *Streptococcus sp* membentuk simpai yang tersusun atas asam hialuronat, enzim hialuronidase, dan tiomolislin khususnya streptolislin S. Asam hialuronat berfungsi menghalangi fagositosis. Enzim hialuronidase berfungsi untuk mengaktifkan enzim hialuronat streptolislin S adalah zat penyebab timbulnya zone hemolisis yang menimbulkan perubahan warna lempeng agar.

Penelitian ini hanya melakukan pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus sp* yang dikembangkan pada media buatan. Penelitian ini bertujuan mengetahui pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus sp* sampai hari ketiga, dihitung mulai pertama kali tampak adanya koloni. Pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan koloni *Streptococcus sp* apabila diamati dengan mikroskop.



VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan:

1. Terdapat hunian *Streptococcus sp* pada gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa sebagian terbukti dari identifikasi pengecatan.
2. Terdapat perbedaan besar hunian *Streptococcus sp* dari hari pertama sampai hari keempat yaitu semakin lama waktu biakan semakin banyak pertumbuhan bakteri

6.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan penulis dapat memberikan saran sebagai berikut:

1. Peneliti ingin mengidentifikasi sampai tingkat jenis. Tetapi keterbatasan alat dan bahan hanya sampai pada tingkat genus. Semoga kekurangan tersebut dapat dipenuhi sehingga penelitian ini bisa dilanjutkan.
2. Dengan ditemukannya *Streptococcus sp* pada saluran akar, diharapkan ada penelitian lebih lanjut untuk menguji bahan atau obat saluran akar yang sesuai.
3. Perlu penelitian lebih lanjut dengan waktu pengamatan yang lebih lama terhadap *Streptococcus sp* untuk mengetahui kurva pertumbuhan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alcamo, Edward,I. 1983. *Laboratory Fundamentals of Microbiology*, Addison-Wesley Publishing company : USA.
- Bence, R. 1990. "Endodontik Klinik" . Alih Bahasa E.H Sundoro dari *Handbook of Clinical endodontics*. Jakarta: UI.
- Ford. T.R.P. 1993. *Restorasi Gigi Eddisi 2*. Alih bahasa N Sumawinata, judul asli : The restoration of Teeth, Jakarta : EGC.
- Grossman, L.I, S. Oliet and C.E Del Rio. 1995. "Ilmu Endodontik dalam Praktik". Terjemahan Rafiah Abyono dari *Endodontic Practice*. Edisi ke-11. Jakarta: EGC.
- Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi 3. Jakarta: EGC.
- Hart T, Shears P.1997. *Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran*.Alih bahasa Poppy Kumala, Ferdian Endrawan Pratama dari *Colour Atlas of Medical Mikrobiologi*. Jakarta : HIPOKRATES
- Harty, F.J.1992. *Endodontik Klinik*. Terjemahan Lilian Yuwono dari *Endodontics in Clinical Practice*. Edisi ke-3. Jakarta: HIPOKRATES.
- Harty, F.J dan R. Ogstan. 1995. *Kamus Kedokteran Gigi*. Alih bahasa Narlan Sumawinata dari *Consise Illustrated Dental Dictionary*. Jakarta: EGC.
- Hadioetomo, R.S. 1995. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta: PT Gramedia.
- Hinggins JE,klimbau A.D. 1985. *Determining Sample Size In Introdruction to Randomized Clinical Triad*, USA, Family Healht Internasional.
- Ingle, J.L. and J.F. Taintor, 1985. *Endodontics*. Third edition. Philadelphia: Lea dan Febiger.
- Jawetz, E.Melnicck, J.L dan Adelberg, E.A.1992. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Jakarta : EGC
- Jawetz, E, Joseph L.M, E.A Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC..
- Pelczar, M.J.E.C.S.Chan and Merna Foss Pelezar. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Terjemahan Ratna Siri Hadioetomo. Lestari Angka. Jakarta: UI.
- Podbielski, A. 2000. Growth Inhibitory Activy of Gutta Percha Points Containing Root Canal Medications on Common Endodontics Bacterial Pathogens

- as Determined by An Optimized Quantitative In Vitro Assay. *Dalam journal of Endodontics*. Vol 26. No 7. America : AAE.
- Purnawan j, Atieks SW, Husna A. 1982. *Kapita Selekt Kedokteran*. Edisi ke-2. Jakarta: Media Aesculapius Fak. Kedokteran UI.
- Ristiati, N.P 2000. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Jakarta: Dirjen Pendidikan Tinggi, Depdiknas.
- Schlegel H.G. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Alih bahasa Tedjo B. Edisi VI dari *Allgemeine Mikrobiologie*. 1976. Yogyakarta : Gajah Mada University Press.
- Soenaryo dkk. 2001. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Unej.
- Suriawiria, U. 1985. *Mikrobiologi Materi Pokok III*. Jakarta: Universitas Terbuka.
- Tarigan R. 1995. *Kesehatan Gigi dan Mulut*. Editor Lilian Yuwono. Jakarta: EGC.
- Walton, R.E dan M. Torabinejad. 1998. *Prinsip dan praktik Ilmu Endodonsi*. Terjemahan Narlan Sumawinata, Winarti Sidharta, Bambang Nursasongko dari *Principle and Practice of Endodontic*. Jakarta: EGC.
- Wulandari, E. 2001. Khasiat Antibakteri Irigasi Asam Sitrat 6 persen dan klorheksidin Glukonat 0.2 persen terhadap *Sterptococcus viridans*, *Dalam Majalah Kedokteran Gigi*, (Januari.XXXIV) No. 1 Surabaya: FKG UNAIR.

Lampiran 1. Foto Alat Penelitian



Keterangan:

- A. Pengaduk erlenmeyer
- B. Ose
- C. Kaca mulut
- D. Sonde
- E. Pinset
- F. Jarum ekstripasi
- G. Miller
- H. File
- I. Mikropipet dan penotip
- J. Syringe
- K. Petridish steril
- L. Erlenmeyer
- M. Gelas ukur
- N. Bunsen
- O. Nierbeken
- P. Rak dan tabung reaksi
- Q. Colony counter
- R. Thermolyne
- S. Mikroskop
- T. Dessicator
- U. Neraca

Lampiran 2. Foto Bahan Penelitian



Keterangan:

- A. *Paper point* steril
- B. *Paper point* dalam petridish bersekat
- C. PZ (0,9% NaCl)
- D. Minyak emersi
- E. Aquades steril
- F. Gram A
- G. Gram B
- H. Gram C
- I. Gram D
- J. Media padat streptococcus
- K. *Thyoglicolat*
- L. Alkohol 70%

Lampiran 3. Foto Hasil Penelitian



Gambar 1 : *Streptococcus sp* pada 1 x 24 jam

Keterangan: koloni belum teridentifikasi, besar hunian belum bisa dihitung

Lampiran 3. Foto Hasil Penelitian (Lanjutan).



Gambar 2 : Hunian *Streptococcus sp* pada 48 jam, jumlah koloni 79 CFU/100 μ l

Keterangan : Bentuk koloni lonjong berwarna putih, permukaan halus dan dikelilingi simpai berwarna kuning

Lampiran 3. Foto Hasil Penelitian (Lanjutan).



Gambar 3 : Hunian *Streptococcus sp* pada 72 jam jumlah koloni 131 CFU/100 μ l
Keterangan : Bentuk koloni lonjong berwarna putih, permukaan halus dan dikelilingi simpai berwarna kuning.

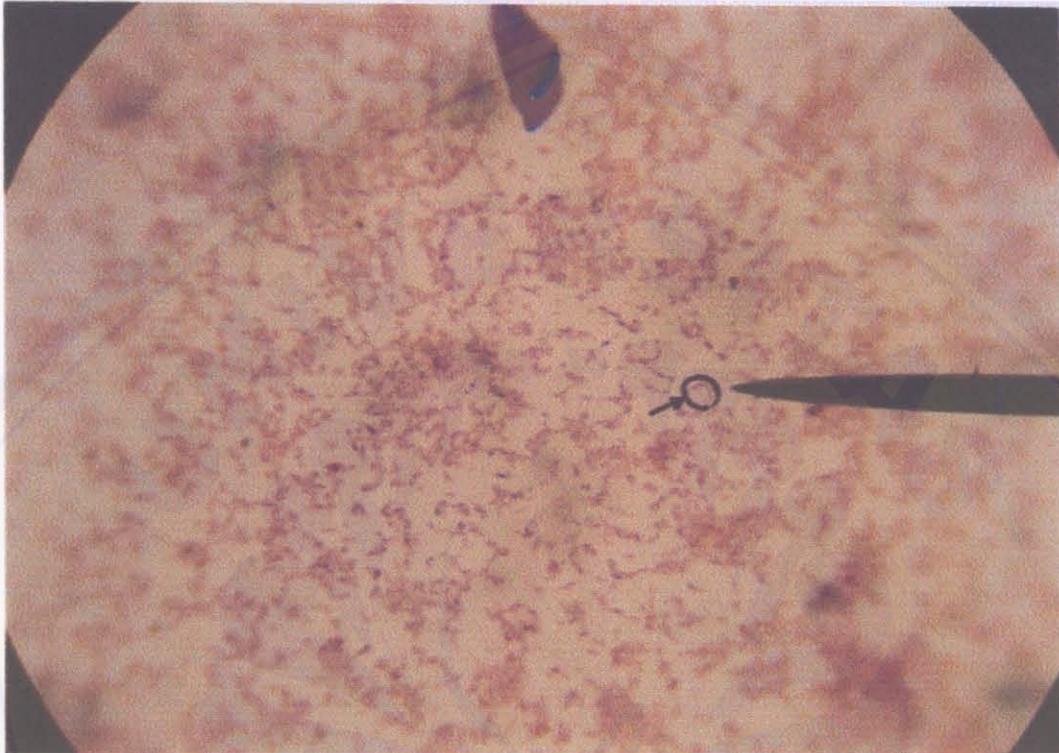
Lampiran 3. Foto Hasil Penelitian (Lanjutan).



Gambar 4 : Hunian *Streptococcus sp* pada 96 jam jumlah koloni 144 CFU/100 μ l

Keterangan : Bentuk koloni lonjong berwarna putih, permukaan halus dan dikelilingi simpai berwarna kuning

Lampiran 3. Foto Hasil Penelitian (Lanjutan).



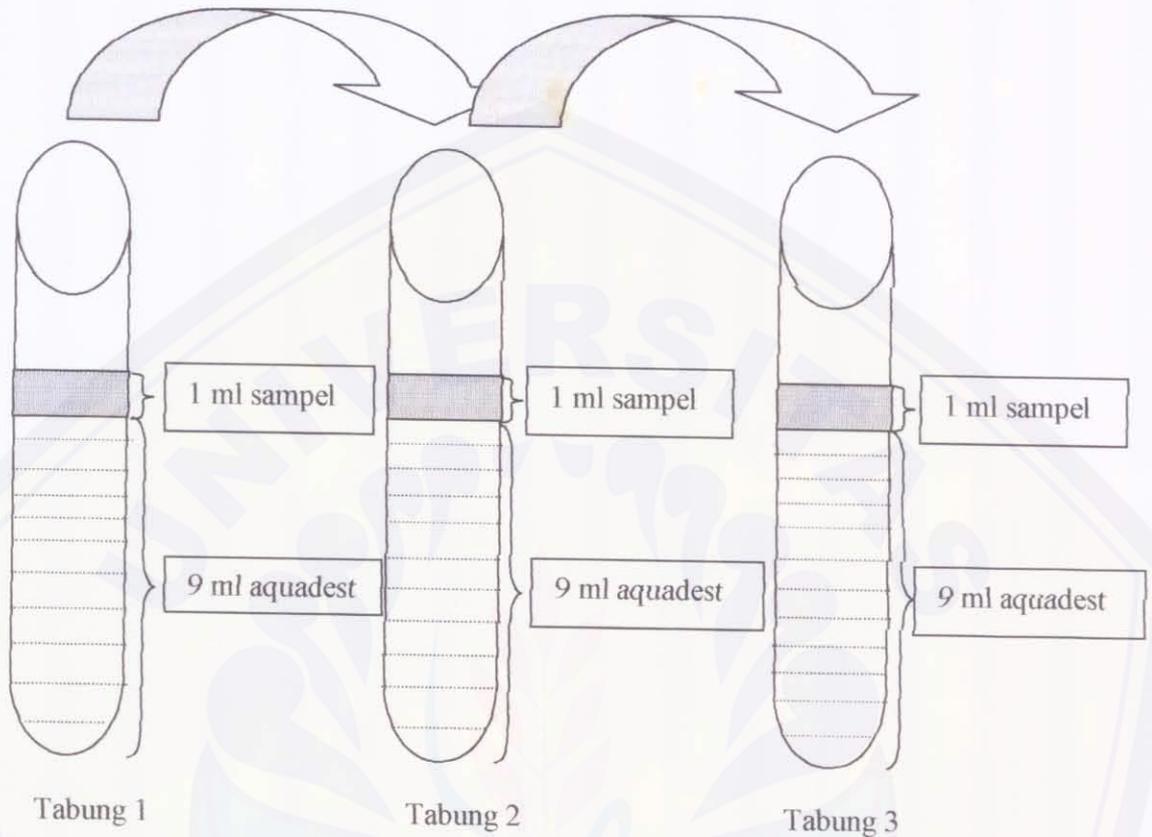
Gambar 5 : Gambaran mikroskopis *Streptococcus sp* dengan pengecatan gram pembesaran 1000X,

Keterangan : Gambaran mikroskopis *Streptococcus sp* tampak sebagai bola-bola kecil dan kadang menyerupai batang membentuk deret seperti rantai berwarna ungu

Lampiran 4. Komposisi Media Agar *Streptococcus*.

Komposisi	Ukuran
Protease peptone no. 3, Difco	10 gr
Bacto yeast extract	10 gr
Sodium chloride	5 gr
Sodium glycerophospate	10 gr
Maltose	20 gr
Laktose	1 gr
Sodium azide	0,4 gr
Bacto brom cresol purple	0,015 gr
Bacto agar	20 gr

Lampiran 5. Cara pengenceran 10^{-3} bakteri *Streptococcus sp*



Keterangan: pengenceran 10^{-3} artinya 1 ml sampel dicampur dengan 9 ml aquadest steril atau pengenceran 1000 kali. Jadi 1 ml sampel bakteri dicampur dengan 9 ml aquadest steril pada tabung pertama, lalu diambil 1 ml dari pengenceran pertama dan dicampur dengan 9 ml aquadest steril dari tabung ke dua, dan diambil 1 ml dari pengenceran kedua dan dicampur dengan aquadest steril dari tabung ke tiga, dan pada tabung ketiga inilah hasil dari pengenceran 10^{-3}

