

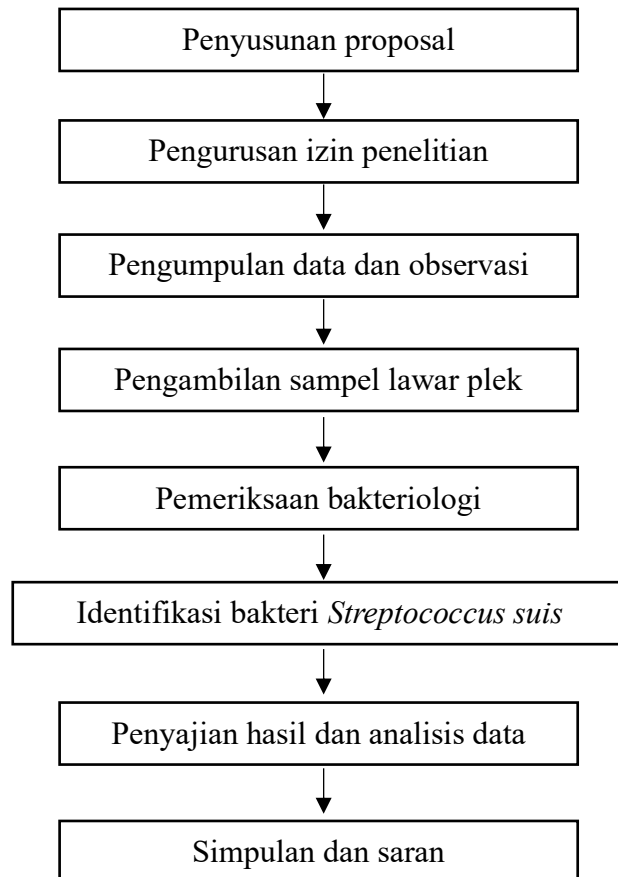
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif merupakan salah satu jenis penelitian yang dilakukan dengan menggambarkan dan menginterpretasikan suatu kejadian pada objek yang terjadi di dalam suatu populasi masyarakat secara apa adanya (Zellatifanny dan Mudjiyanto, 2018). Dalam penelitian ini, peneliti mengidentifikasi ada atau tidaknya keberadaan bakteri *Streptococcus suis* pada lawar plek di Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar.

B. Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel lawar plek dilakukan di beberapa pedagang yang berlokasi di wilayah Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar dan pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Poltekkes Kemenkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari - April 2024. Waktu penelitian dilaksanakan mulai dari pengurusan izin, persiapan alat dan bahan, pengumpulan sampel, pemeriksaan laboratorium, analisis data hasil, dan dilanjutkan dengan penyusunan laporan penelitian.

D. Populasi dan Sampel

1. Unit analisis

Unit analisis merupakan suatu bagian yang menjadi fokus penelitian. Unit analisis dalam penelitian ini adalah bakteri *Streptococcus suis* yang diidentifikasi dari sampel lawar plek di Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar.

2. Populasi

Menurut Sahir (2021), populasi merupakan seluruh subjek atau objek yang diteliti dan memiliki karakteristik tertentu yang menjadi target dalam penelitian. Adapun populasi dalam penelitian ini, yaitu lawar plek yang terdapat di wilayah Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar.

3. Sampel

Sampel merupakan suatu objek yang dapat mewakili keseluruhan populasi dengan karakteristik yang sesuai dengan penelitian (Hardani, dkk., 2020). Sampel

dalam penelitian ini adalah lawar plek yang terdapat di wilayah Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar berdasarkan kriteria yang telah ditentukan.

4. Jumlah dan besar sampel

Pemilihan sampel ditetapkan berdasarkan hasil observasi yang dilakukan oleh peneliti di Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar. Dalam penelitian ini, digunakan pedagang yang menjual lawar plek sejumlah 10 pedagang. Sampel lawar plek dari masing-masing pedagang dilakukan dua kali pengambilan sampel dan pengujian di hari yang berbeda. Pengujian I dan II bertujuan untuk meningkatkan keakuratan dan ketepatan uji sehingga memperoleh hasil yang sesuai dengan tujuan penelitian. Adapun besar sampel lawar plek yang digunakan dari setiap pedagang adalah 25 gram yang dilakukan penimbangan menggunakan neraca analitik. Pengambilan jumlah dan besar sampel lawar plek dilakukan sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi.

a. Kriteria Inklusi

- 1) Lawar plek terbuat dari olahan daging babi, darah segar, dan bumbu khas bali “basa genep”.
- 2) Sampel lawar plek dalam keadaan baru dan beraroma khas.
- 3) Proses produksi lawar plek ≤ 4 jam sebelum pengambilan sampel dilakukan.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Lawar plek dalam keadaan basi atau mengalami pengasaman.

5. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *purposive sampling*, yakni dengan menggunakan 20 sampel lawar plek dari 10 pedagang yang sama di wilayah Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar

berdasarkan kriteria yang telah ditentukan. Proses pengambilan dan pengujian sampel dilakukan dua kali pengulangan di hari yang berbeda. *Purposive sampling* merupakan metode sampel *non random* yang memilih sampel berdasarkan kriteria tertentu dan sesuai dengan tujuan penelitian. Metode ini efektif digunakan pada populasi yang memenuhi kriteria peneliti dan memiliki jumlah sampel yang terbatas (Lenaini, 2021).

a. Bahan dan cara

1) Bahan

Beberapa bahan yang diperlukan dalam penelitian adalah alkohol 70%, Natrium Klorida 0,9% (NaCl 0,9%) (10 buah), bubuk media *Blood Agar Base (Oxoid)* (16 gram), darah kambing segar dengan antikoagulan EDTA (20 ml), pereaksi katalase *hidrogen peroksida* (H_2O_2), media uji Gram (*carbol gentian violet, lugol*, alkohol 96%, *solution fuchsin/safranin*), media uji biokimia (bubuk media glukosa, laktosa, sukrosa, dan maltosa) (1 gram), *Buffered Peptone Water* (BPW) (16 gram), *Bromothymol Blue* (BTB) (8 ml), aquadest steril (1.200 ml), kapas lemak, kertas buram, aluminium foil, tisu, benang, *object glass*, minyak imersi, kertas label, dan korek api.

2) Alat

Beberapa alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah spatula (1 buah), erlenmeyer 500 ml (*Iwaki-Pyrex®*) (16 buah), neraca analitik (*Wagtech PW 124 Series, Max Capacity: 120g and Readbility: 0,0001g*) (2 buah), lemari steril (1 buah), autoklaf (*Tomy Sx-50, Heat source: 1,5k Welectric fire, Weight: 50kg*) (1 buah), inkubator (Esco) (1 buah), cawan petri (20 buah), tabung reaksi (80 buah), tabung durham (80 buah), ose bulat (1 buah), api bunsen (1 buah), *beaker glass*

(Iwaki-Pyrex®) 500 ml (1 buah), gelas ukur (*Iwaki- Pyrex®*) 500 ml (1 buah), spidol (1 buah), *hotplate* (1 buah), oven (1 buah), *cool box* (1 buah), batang pengaduk (2 buah), *syringe* 3cc (7 buah), sendok (1 buah), gunting (1 buah), dan *magnetic stirrer* (1 pasang).

3) Cara penentuan sampel

Sampel lawar plek ditentukan berdasarkan hasil observasi yang dilakukan oleh peneliti di Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar. Dalam penelitian ini, sampel lawar plek yang dilakukan pengambilan sampel pada 10 pedagang yang sama di wilayah Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar. Proses pengambilan sampel dan pengujian laboratorium dilakukan sebanyak dua kali pengulangan di hari yang berbeda sehingga diperoleh 20 cawan petri yang berisi biakan bakteri *Streptococcus* yang selanjutnya dilakukan identifikasi bakteri *Streptococcus suis*.

4) Prosedur kerja

a) Sterilisasi alat

- (1) Siapkan alat-yang yang digunakan.
- (2) Cawan petri dan tabung reaksi berisi tabung durham yang disterilisasi ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Lalu, dibungkus menggunakan kertas buram.
- (3) Selanjutnya, masukkan ke dalam oven dan atur sterilisasi pada suhu 180°C selama 1 jam.
- (4) Apabila sterilisasi telah selesai, keluarkan dari oven dan biarkan pada suhu ruang.

b) Pembuatan media *Blood Agar Plate*

- (1) Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
- (2) Timbang media *Blood Agar Base (Oxoid)* sebanyak 16 gram dengan menggunakan neraca analitik.
- (3) Tuangkan bubuk media ke dalam erlenmeyer 500 ml dan ditambahkan aquadest 400ml.
- (4) Homogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* dan *hotplate*.
- (5) Setelah media larut sempurna dan homogen, erlenmeyer ditutup dengan kapas berlemak dan aluminium foil.
- (6) Lakukan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dihitung dari tercapainya suhu 121°C.
- (7) Media yang telah disterilisasi, dikeluarkan dari autoklaf dan biarkan pada suhu ruang hingga suhu media turun menjadi $\pm 40-50^{\circ}\text{C}$.
- (8) Selanjutnya, ditambahkan darah kambing segar dengan antikoagulan EDTA sebanyak 5% dari jumlah media yang digunakan, yakni 20 ml darah. Lalu, dimasukkan ke dalam media.
- (9) Homogenkan secara perlahan agar darah dan media bercampur dengan baik.
- (10) Media dituangkan secara aseptis ke dalam cawan petri dengan volume 20 ml, kemudian didiamkan hingga memadat.
- (11) Setelah media memadat, cawan petri diletakkan terbalik dan diberikan identitas. Apabila tidak dilakukan pengujian langsung, media dapat disimpan di dalam kulkas.

c) Pengambilan sampel

- (1) Lawar plek dilakukan pembelian pada 10 pedagang yang terdapat di Kecamatan Sukawati secara bertahap.
- (2) Kemudian, dilakukan penyimpanan di dalam *cool box* selama perjalanan menuju laboratorium untuk menjaga kondisi dari sampel lawar plek.
- (3) Tahapan ini dilakukan dengan 2 kali pengulangan di hari yang berbeda.

d) Pengenceran sampel

- (1) Siapkan alat dan bahan yang diperlukan
- (2) Timbang masing-masing sampel lawar plek dengan berat sebesar 25 gram menggunakan neraca analitik.
- (3) NaCl 0,9% diukur menggunakan gelas ukur sebanyak 225 ml.
- (4) Siapkan 10 erlenmeyer dan tuangkan 225 ml NaCl 0,9% ke masing-masing erlenmeyer.
- (5) Kemudian, berikan identitas pada erlenmeyer dengan menuliskan sampel I, sampel II, sampel III, sampel IV, sampel V, sampel VI, sampel VII, sampel VIII, sampel IX, dan sampel X.
- (6) Masukkan masing-masing sampel lawar plek yang telah ditimbang ke dalam erlenmeyer sesuai dengan identitas.
- (7) Homogenkan hingga sampel dan NaCl 0,9% terlarut dengan baik.

e) Inokulasi sampel pada BAP

- (1) Siapkan alat dan bahan yang diperlukan.
- (2) Keluarkan media BAP yang telah dibuat dan disimpan di dalam kulkas.
- (3) Lakukan desinfektan area kerja dengan alkohol 70%.
- (4) Siapkan api bunsen dan bakar ose besi sebelum digunakan.

- (5) Celupkan ose ke dalam sampel yang telah diencerkan.
- (6) Dilakukan inokulasi pada BAP dengan menggoreskan/*streak* empat kuadran secara aseptis.
- (7) Media yang telah dilakukan inokulasi, diletakkan dengan posisi terbalik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

f) Pemeriksaan morfologi koloni bakteri

- (1) Keluarkan media BAP yang telah ditumbuhi bakteri dari inkubator.
- (2) Lakukan pengamatan pada bakteri yang tumbuh di cawan petri.
- (3) Amati warna, bentuk, ukuran, permukaan, dan tipe zona hemolisisnya.
- (4) Catat hasil pengamatan.

g) Uji Gram

- (1) Bersihkan *object glass* dengan tissue untuk menghilangkan lemak yang ada.
- (2) Fiksasi *object glass* dengan melidah-apikan di atas lampu spiritus lebih kurang 3 kali secara bolak-balik.
- (3) Pada ujung *object glass* diisi nomor/tanda yang ditetapkan dengan pensil glass.
- (4) Ambil ose dan fiksasi di atas lampu spiritus sampai merah, kemudian dinginkan.
- (5) Bila sampel cair, ambil dengan ose tersebut dan langsung dihapuskan pada *object glass* secara merata dengan luas $\pm 1 \text{ cm}_2$.
- (6) Bila sampel koloni, ambil NaCl dengan ose dan teteskan di atas *object glass* secukupnya.
- (7) Ambil koloni bakteri dengan cara menggoreskan ose di dasar koloni tanpa melukai media tumbuhnya.

- (8) Campur koloni tersebut dengan memutar ujung ose tersebut, sehingga koloni bercampur secara merata.
- (9) Fiksasi sebentar di atas lampu spiritus agar lebih cepat keringnya.
- (10) Tempatkan di atas jembatan pengecatan.
- (11) Tuangkan cat carbol gentian violet sampai tertutup semua hapusan
- (12) Tunggu 1 menit selanjutnya dicuci dengan air mengalir.
- (13) Tuangkan cat lugol sampai tertutup semua hapusan.
- (14) Tunggu 1 detik selanjutnya dicuci dengan air mengalir.
- (15) Tuangkan cat alkohol 96% sampai tertutup semua hapusan.
- (16) Tunggu 10 detik, selanjutnya dicuci dengan air mengalir.
- (17) Tuangkan cat safranin sampai tertutup semua hapusan.
- (18) Tunggu 1x menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir.
- (19) Keringkan preparat dengan kertas saring, udara panas atau dibiarkan kering dengan sendirinya.
- (20) Selanjutnya, lakukan pembacaan dengan menempatkan preparat di atas meja benda mikroskop secara benar.
- (21) Atur lensa objektif dari mikroskop secara perlahan 10x, 40x, dan 100x
- (22) Atur okuler agar sejajar dengan kedua mata.
- (23) Cari lapang pandang dengan menaikkan atau menurunkan meja mikroskop hingga menemukan bayangan kasar berwarna sesuai warna cat yang digunakan.
- (24) Teteskan minyak imersi 1-2 tetes pada preparat.
- (25) Apabila lapang pandang telah ditemukan, naikkan kondensor dan pasang pada lensa objektif 100x, lalu perhatikan lapang pandang tersebut.

(26) Catat hasil pengamatannya. Koloni yang diduga *Streptococcus suis* dilakukan uji biokimia dengan media gula-gula.

h) Uji Katalase

- (1) Siapkan alat dan bahan yang digunakan.
- (2) Ditetaskan *hidrogen peroksida* (H_2O_2) secukupnya pada permukaan slide *object glass*.
- (3) Diambil koloni dari biakan, dicampur dengan *hidrogen peroksida* (H_2O_2) hingga homogen.
- (4) Amati reaksi yang terjadi, apabila terbentuk gelembung gas maka menunjukkan katalase positif.

i) Pembuatan media glukosa

- (1) Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
- (2) Timbang bubuk BPW sebanyak 4 gram dengan menggunakan neraca analitik, masukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml.
- (3) Selanjutnya, timbang media glukosa sebanyak 1 gram dengan menggunakan neraca analitik.
- (4) Kemudian, tambahkan aquadest sebanyak 200 ml. Lalu, homogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* dan *hotplate*.
- (5) Tetesi dengan reagen *bromothymol blue* sebanyak 2 ml hingga warna berubah menjadi hijau.
- (6) Selanjutnya, tuangkan pada tabung reaksi yang berisi tabung durham sebanyak 10 ml.

- (7) Tutup tabung dengan kapas dan aluminium foil. Kemudian, lakukan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dihitung dari tercapainya suhu 121°C.
 - (8) Media yang telah disterilisasi, dikeluarkan dari autoklaf dan biarkan pada suhu ruang hingga suhu media turun menjadi $\pm 40-50^{\circ}\text{C}$. Apabila tidak dilakukan pengujian langsung media dapat disimpan di dalam kulkas.
- j) Pembuatan media sukrosa
- (1) Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
 - (2) Timbang bubuk BPW sebanyak 4 gram dengan menggunakan neraca analitik, masukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml.
 - (3) Selanjutnya, timbang media sukrosa sebanyak 1 gram dengan menggunakan neraca analitik.
 - (4) Kemudian, tambahkan aquadest sebanyak 200 ml. Lalu, homogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* dan *hotplate*.
 - (5) Tetesi dengan reagen *bromothymol blue* sebanyak 2 ml hingga warna berubah menjadi hijau.
 - (6) Selanjutnya, tuangkan pada tabung reaksi yang berisi tabung durham sebanyak 10 ml.
 - (7) Tutup tabung dengan kapas dan aluminium foil. Kemudian, lakukan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dihitung dari tercapainya suhu 121°C.
 - (8) Media yang telah disterilisasi, dikeluarkan dari autoklaf dan biarkan pada suhu ruang hingga suhu media turun menjadi $\pm 40-50^{\circ}\text{C}$. Apabila tidak dilakukan pengujian langsung media dapat disimpan di dalam kulkas.

k) Pembuatan media laktosa

- (1) Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
- (2) Timbang bubuk BPW sebanyak 4 gram dengan menggunakan neraca analitik, masukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml.
- (3) Selanjutnya, timbang media laktosa sebanyak 1 gram dengan menggunakan neraca analitik.
- (4) Kemudian, tambahkan aquadest sebanyak 200 ml. Lalu, homogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* dan *hotplate*.
- (5) Tetesi dengan reagen *bromothymol blue* sebanyak 2 ml hingga warna berubah menjadi hijau.
- (6) Selanjutnya, tuangkan pada tabung reaksi yang berisi tabung durham sebanyak 10 ml.
- (7) Tutup tabung dengan kapas dan aluminium foil. Kemudian, lakukan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dihitung dari tercapainya suhu 121°C.
- (8) Media yang telah disterilisasi, dikeluarkan dari autoklaf dan biarkan pada suhu ruang hingga suhu media turun menjadi $\pm 40-50^{\circ}\text{C}$. Apabila tidak dilakukan pengujian langsung media dapat disimpan di dalam kulkas.

l) Pembuatan media maltosa

- (1) Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
- (2) Timbang bubuk BPW sebanyak 4 gram dengan menggunakan neraca analitik, masukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml.
- (3) Selanjutnya, timbang media maltosa sebanyak 1 gram dengan menggunakan neraca analitik.

- (4) Kemudian, tambahkan aquadest sebanyak 200 ml. Lalu, homogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* dan *hotplate*.
- (5) Tetesi dengan reagen *bromothymol blue* sebanyak 2 ml hingga warna berubah menjadi hijau.
- (6) Selanjutnya, tuangkan pada tabung reaksi yang berisi tabung durham sebanyak 10 ml.
- (7) Tutup tabung dengan kapas dan aluminium foil. Kemudian, lakukan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dihitung dari tercapainya suhu 121°C.
- (8) Media yang telah disterilisasi, dikeluarkan dari autoklaf dan biarkan pada suhu ruang hingga suhu media turun menjadi $\pm 40-50^{\circ}\text{C}$. Apabila tidak dilakukan pengujian langsung media dapat disimpan di dalam kulkas.

m) Uji biokimia pada media gula-gula

- (1) Siapkan alat dan bahan yang digunakan.
- (2) Lakukan desinfektan area kerja dengan alkohol 70%.
- (3) Siapkan api bunsen dan bakar ose besi sebelum digunakan.
- (4) Celupkan ose ke dalam sampel yang telah diencerkan.
- (5) Ambil koloni positif yang tumbuh pada media BAP menggunakan ose steril.
- (6) Lakukan inokulasi pada masing-masing tabung yang berisi media glukosa, laktosa, sukrosa, dan maltosa.
- (7) Selanjutnya, media yang telah dilakukan inokulasi bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- (8) Amati perubahan yang terjadi dan catat hasilnya. Hasil positif menunjukkan perubahan warna pada tabung menjadi kuning atau oranye.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu data primer. Data primer merupakan data yang diperoleh peneliti berdasarkan sumber data yang dikumpulkan secara langsung dengan menggunakan beberapa teknik pengumpulan data, seperti observasi, wawancara mendalam, dan diskusi terfokus pada kondisi yang alamiah (Fadilla dan Wulandari, 2023). Data primer dari penelitian ini adalah hasil observasi pada pedagang lawar plek di wilayah Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar dan pemeriksaan laboratorium pada 20 sampel lawar plek yang telah dilakukan pengujian untuk mengidentifikasi bakteri *Streptococcus suis*.

2. Cara pengumpulan data

Pengumpulan data penelitian dilakukan secara sistematis berdasarkan dengan prosedur yang berlaku untuk memperoleh data hasil terkait variabel dan tujuan penelitian. Pada penelitian ini menggunakan teknik pengumpulan data, yakni observasi dan pemeriksaan laboratorium.

a. Observasi

Observasi merupakan pengamatan dan pencatatan data yang dilakukan peneliti secara langsung dari penemuan di lapangan terkait dengan objek penelitian. Data yang dikumpulkan dalam penelitian berupa hasil observasi terkait dengan populasi dan sampel yang digunakan pada penelitian.

b. Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan laboratorium dalam penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri *Streptococcus suis* pada lawar plek di Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar dengan melakukan sterilisasi alat dan bahan,

pembuatan media, pengenceran sampel, inokulasi sampel, inkubasi, hingga pengujian bakteri.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini, yakni sebagai berikut.

- a. Alat tulis
- b. Catatan hasil observasi
- c. Kamera untuk dokumentasi
- d. Alat dan bahan untuk pengujian laboratorium pada sampel lawar plek

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data-data yang diperoleh dari hasil observasi dan pemeriksaan laboratorium kemudian dicatat, dikumpulkan, dan dilakukan pengolahan data dengan menggunakan sistem *tabulating*, yaitu data disajikan dalam bentuk tabel naratif.

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian adalah analisis secara univariat dengan mendeskripsikan karakteristik variabel berdasarkan pengujian yang dilakukan. Setelah diketahui hasil pengujian secara laboratorium pada sampel lawar plek dan diperoleh data yang digambarkan berdasarkan bentuk bakteri, warna, ukuran, permukaan, tipe hemolisis, uji Gram, katalase, serta biokimia dari bakteri yang tumbuh pada media *Blood Agar Plate*. Adapun kategori yang digunakan untuk hasil pengujian, yaitu positif *Streptococcus suis* (apabila memenuhi kriteria pengujian) dan negatif *Streptococcus suis* (apabila tidak memenuhi kriteria pengujian).