

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Karena peneliti dapat mengamati subjek penelitian, penelitian ini termasuk dalam kategori penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian eksperimental sejati, juga dikenal sebagai penelitian eksperimental murni atau *True Experimental Research*, adalah jenis penelitian yang digunakan dan merupakan komponen dari pendekatan kuantitatif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memastikan, dalam keadaan yang terkendali, dampak dari faktor intervensi (perlakuan). Tujuan dari jenis penelitian ini adalah untuk menentukan bagaimana sebuah terapi mempengaruhi variabel dependen dalam keadaan yang dapat dikontrol oleh peneliti (Sugiyono, 2019).

Pada penelitian ini menggunakan desain *Post Test Only Control Group Design*, hal ini menunjukkan tidak dilakukan perlakuan *pre-test* sebelum eksperimen. Berikut adalah alur penelitian pada penelitian ini:

Tabel 1
Design Penelitian

Sampel	Perlakuan	<i>Post test</i>
R	X	O
R		O1

Sumber: (Sugiyono, 2019)

Keterangan:

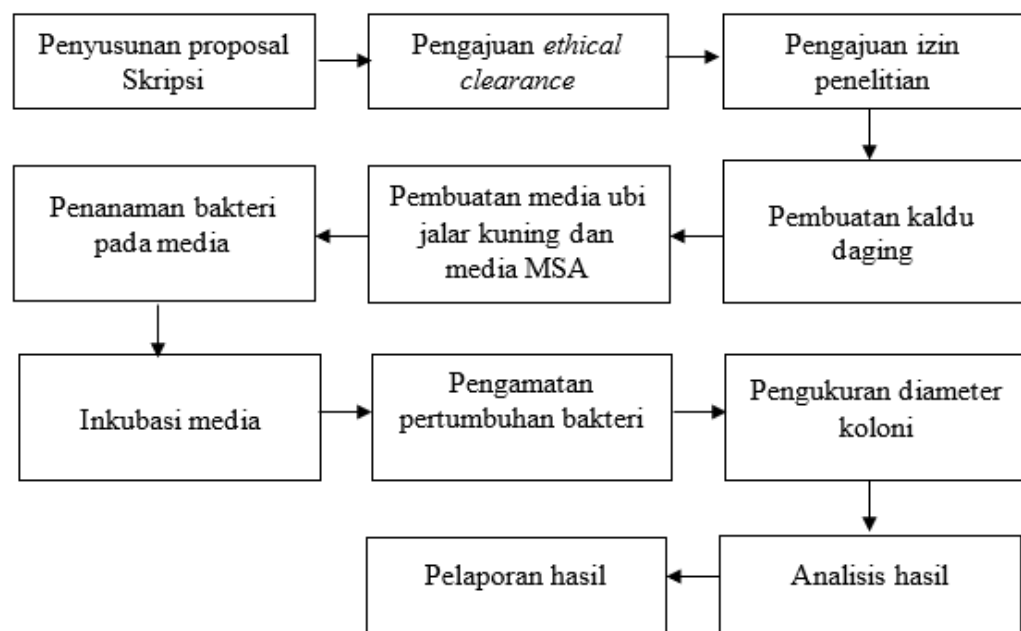
R : Randomisasi sampel

X : Perlakuan yang diberikan yaitu penambahan kaldu daging pada media ubi jalar kuning

- O : diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media ubi jalar kuning dengan penambahan kaldu daging
- O1 : Diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media ubi jalar kuning tanpa perlakuan

B. Alur Penelitian

Berikut adalah alur pada penelitian ini :



Gambar 1. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Warmadewa yang beralamat di Jl. Terompong No.24, Sumerta Kelod, Kec. Denpasar Tim., Kota Denpasar, Bali 80239.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tahun 2025 antara bulan April dan Mei. Pembuatan proposal penelitian dan akuisisi teks skripsi adalah langkah pertama dalam penelitian ini.

D. Unit analisis

Subjek penelitian ini adalah diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dari biakan murni.

Kaldu daging yang dikombinasikan dengan media ubi jalar kuning adalah subjek dari penelitian ini.

1. Jumlah dan besar sampel

Sepuluh hingga dua puluh sampel digunakan dalam penelitian eksperimental dengan kelompok eksperimen dan kelompok kontrol (Sugiyono, 2019). Minimal tiga kali pengulangan evaluasi sampel di laboratorium yang dianggap mewakili sampel (Hanafiah, 2022). Sebagai hasilnya, tiga kali pengulangan dengan menggunakan sistem duplo dilakukan dalam penelitian ini.

2. Teknik pengambilan sampel

a. Alat dan bahan

1) Alat

Berikut ini adalah beberapa instrumen yang diperlukan untuk penelitian laboratorium yaitu neraca analitik, cawan petri, tabung reaksi, pipet tetes, *autoclave*, BSC, gelas kimia, objek glass, inkubator, ose bulat steril, Erlenmeyer, korek api, oven, batang pengaduk, rak tabung, mikroskop, jangka sorong, bunsen, spatula, kompor listrik, *automatic stirrer*, batang bengkok/drighalsky, *hot plate*, *ball pipet* dan pipet ukur.

2) Bahan

- a) Media *Mannitol Salt Agar*
- b) Ubi Jalar Kuning
- c) Daging sapi
- d) Media agar
- e) Biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus*
- f) Akuades
- g) Aluminium foil
- h) Alkohol 70%
- i) Bubuk NaCl

b. Prosedur kerja

1) Tahap pra-analitik

a) Sterilisasi Alat

Setelah dibersihkan dan dikeringkan, peralatan gelas dibungkus dengan kertas.

Setelah itu, instrumen dipanggang selama satu jam pada suhu 170°C.

b) Pembuatan Media *Media Mannitol Salt Agar* (MSA)

- (1) Sterilisasi meja tempat bekerja dengan menggunakan alkohol 70%.
- (2) Siapkan peralatan dan perlengkapan.
- (3) Timbang bubuk MSA sebanyak 11,1 g dan tuangkan kedalam Erlenmeyer.
- (4) Tambahkan aquades sebanyak 100 ml dituangkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi bubuk MSA.
- (5) Homogenkan campuran bubuk media dan aquades dengan memanaskan di atas *hot plate* berisi *magnetic stirrer* pada suhu 100° C dengan kecepatan 60 rpm.

- (6) Erlenmeyer dipanaskan, kemudian dibungkus dengan kapas dan aluminium foil dan diikat dengan tali.
- (7) Erlenmeyer kemudian diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.
- (8) Media kemudian dipindahkan ke cawan petri steril.
- (9) Kemudian media yang sudah memadat pada cawan petri, diletakkan terbalik dan diberikan label.
- (10) Media selanjutnya dapat disimpan di dalam *chiller*/kulkas

c) Pembuatan Kaldu Daging (Andayani dkk., 2023)

- (1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan
- (2) Potong kecil-kecil daging sapi tanpa lemak sebanyak 500 g dan masukkan ke dalam gelas kimia lalu dicuci hingga bersih
- (3) Rebus daging selama 20 menit dengan akuades sebanyak 1000 ml
- (4) Setelah direbus, saring kaldu dengan kertas saring atau kain kasa halus
- (5) Kemudian masukkan dalam gelas ukur dan tambahkan aquadest hingga 1000 ml
- (6) Kemudian simpan pada kulkas/chiller selama 24 jam
- (7) Setelah 24 jam, buang lemak yang mengambang pada permukaan kaldu
- (8) Kaldu siap digunakan

d) Pembuatan Media Ubi Jalar Kuning (Arum & Wahyudi, 2022).

- (1) Rebus ubi jalar kuning yang dibersihkan sebanyak 100 g menggunakan akuades selama ± 30 menit pada suhu 90° C – 100° C
- (2) Saring air rebusan
- (3) Kemudian ambil 4 erlenmeyer dan isi dengan 100 ml rebusan ubi jalar lalu berikan label 1, 2, 3, dan 4.

- (4) Kemudian isi masing-masing erlenmeyer dengan perlakuan sebagai berikut:
 - (a) Erlenmeyer 1 : Tanpa perlakuan
 - (b) Erlenmeyer 2 : Tambahkan 10 ml kaldu daging
 - (c) Erlenmeyer 3 : Tambahkan 20 ml kaldu daging
 - (d) Erlenmeyer 4 : Tambahkan 30 ml kaldu daging
 - (5) Tambahkan *Agar base* dan NaCl 7,5% pada masing-masing erlenmeyer dan homogenkan di atas hotplate
 - (6) Ukur pH pada masing-masing bagian menggunakan strip pH
 - (7) Tutup erlenmeyer dengan kapas dan aluminium foil
 - (8) Sterilisasi media pada *autoclave* dengan suhu 121° C selama 15 menit
 - (9) Kemudian media dituang ke cawan petri dan biarkan memadat pada suhu ruang.
 - (10) Setelah media padat, media siap digunakan atau disimpan pada *chiller* dengan posisi terbalik
- e) Pembuatan Suspensi Bakteri (Arum & Wahyudi, 2022)
- (1) Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
 - (2) Siapkan 9 ml NaCl 0,9%
 - (3) Ambil koloni bakteri *S. aureus* dari biakan murni
 - (4) Homogenkan campuran dengan menggunakan vortex
 - (5) Bandingkan kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5
 - (6) Setelah suspensi setara dengan standar Mc Farland, ambil 1 ml suspensi dan tambahkan dengan 9 ml NaCl 0,9% steril. Pada tahap ini pengenceran susensi sudah 10^{-1} atau 1:10. Lakukan pengenceran bertingkat hingga pengenceran mencapai 10^{-6}

2) Tahap Analitik

a) Penanaman bakteri *S. aureus* pada media MSA dan Media Ubi Jalar kuning

- (1) Siapkan alat dan bahan yang digunakan
 - (2) Sterilisasi meja kerja dengan alkohol 70%
 - (3) Berikan label pada agar plate sesuai dengan pengulangan dan pengencerannya
 - (4) Ambil suspensi bakteri pada setiap pengenceran sebanyak 0,1 ml dengan mikropipet, kemudian diteteskan pada permukaan media agar plate yang telah memadat dan sudah diberikan label.
 - (5) Kemudian ratakan suspensi dengan batang bengkok/drigalsky steril dengan cara menggosokkan permukaan media agar plate. Putar cawan petri agar penyebaran bakteri lebih merata
- (1) Media diinkubasi pada suhu 37° C selama 1 x 24 jam dengan posisi cawan terbalik.

3) Tahap post-analitik

a) Pengamatan karakteristik bakteri

- (1) Pengamatan karakteristik bakteri dilakukan dengan mengamati koloni bakteri yang tumbuh pada setiap media kemudian dicatat pada tabel pengamatan
- (2) Karakteristik yang diamati berupa warna, bentuk, elevansi, dan tepian.
- (3) Data kemudian dianalisis

b) Pengukuran diameter koloni

- (1) Siapkan jangka sorong dan kendurkan sekrup pengunci
- (2) Tarik rahang geser bawah kekanan, posisikan dengan koloni bakteri
- (3) Hitung hasil pengukuran dengan menambahkan skala utama dan nonius
- (4) Catat hasilnya pada tabel pengamatan

(5) Data kemudian dianalisis secara *statistic*

c) Pengolahan limbah

Pengolahan limbah medis yang mengandung bakteri, virus ataupun jamur dapat disterilkan dengan menggunakan *autoclave*. Proses *autoclave* dapat dilakukan dengan suhu 121° C selama 15 menit (Hikmi, 2022).

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data

Jenis data primer dan sekunder digunakan dalam penelitian ini.

a. Data primer

Ketika melakukan penelitian, data primer adalah informasi yang dikumpulkan sendiri oleh peneliti (Sugiyono, 2019). Berikut ini adalah data utama yang dikumpulkan untuk penelitian ini:

- 1) Diameter koloni bakteri *S. aureus* pada media ubi jalar kuning tanpa perlakuan
- 2) Karakteristik pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada media ubi jalar kuning tanpa perlakuan
- 3) Diameter koloni bakteri *S. aureus* pada media ubi jalar kuning dengan penambahan kaldu daging
- 4) Karakteristik pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada media ubi jalar kuning dengan penambahan kaldu daging
- 5) Diameter koloni bakteri *S. aureus* pada media MSA
- 6) Karakteristik pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada media MSA

b. Data sekunder

Data sekunder adalah data tentang objek penyelidikan yang dikumpulkan secara tidak langsung. Berbagai sumber literatur, termasuk buku, jurnal, karya

ilmiah, dan internet, dapat menyediakan data sekunder (Yapanto dkk., 2023). Data sekunder berikut ini digunakan dalam penelitian ini:

- 1) Karakteristik koloni bakteri *S. aureus* pada media MSA
- 2) Karakteristik koloni bakteri *S. aureus* pada media ubi jalar kuning

2. Cara pengumpulan data

Pengamatan laboratorium adalah metode yang digunakan untuk mengumpulkan data untuk investigasi ini.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Analisis deskriptif dan statistik akan dilakukan pada data yang dikumpulkan untuk penelitian ini. Semua data yang dikumpulkan setelah penelitian akan dianalisis secara deskriptif sebelum ditabulasikan. Sementara analisis statistik digunakan untuk memastikan pengaruh, hubungan, dan korelasi antar variabel dalam penelitian, analisis ini digunakan untuk menggambarkan temuan penelitian. Selanjutnya, analisis statistik dilakukan untuk mendukung gagasan tersebut (Yapanto dkk., 2023).

2. Analisis data

Data jumlah koloni, diameter koloni, dan ciri-ciri koloni pada masing-masing media pertumbuhan merupakan hasil pengamatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media pertumbuhan. Perangkat lunak komputer digunakan untuk melakukan analisis statistik dalam penelitian ini. Data harus terlebih dahulu diperiksa homogenitas dan normalitasnya sebelum analisis statistik dapat dimulai. Jika jumlah data kurang dari lima puluh, uji Shapiro-Wilk dapat

digunakan untuk menguji normalitas data; jika nilai p lebih dari 0,05, uji Kolmogorov-Smirnov dapat digunakan untuk menentukan apakah data terdistribusi secara normal. Meskipun uji Levene's adalah uji homogenitas yang digunakan, nilai $p > 0,05$ menunjukkan bahwa data tersebut homogen (varians yang sama). Uji One-Way ANOVA digunakan untuk mengevaluasi hipotesis yang mengikuti normalitas dan homogenitas data. Salah satu uji multivariat untuk membandingkan rata-rata lebih dari dua kumpulan data adalah uji ANOVA, yang membandingkan varians data. Data harus terdistribusi secara teratur (Sig. $\geq 0,05$) agar uji ini valid (Dahlan, 2016).

One-Way ANOVA dengan *post hoc* LSD adalah uji yang dilakukan jika distribusi dan varians data sama. Uji Kruskal-Wallis dengan *post hoc* Mann-Whitney digunakan jika data memiliki distribusi yang menyimpang, sedangkan One-Way ANOVA dengan *post hoc* Tamhane digunakan jika distribusi data normal namun varians berbeda (Dahlan, 2016).

G. Etika Penelitian

Komite Etik Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Nasional Kementerian Kesehatan pada tahun 2021 menyatakan bahwa ada sejumlah prinsip etika penelitian yang diterima secara universal, termasuk prinsip *justice* atau keadilan, *beneficence* atau berbuat baik, dan *non-maleficence* atau tidak merugikan.