

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Dalam penelitian yang akan dilakukan, jenis penelitian yang akan digunakan adalah penelitian *True Experimental Research* atau penelitian eksperimen murni yang tergolong dalam metode kuantitatif. Penelitian ini dilakukan untuk mencari tahu pengaruh perlakuan variabel dependen (terikat) dalam kondisi terkendali oleh peneliti (Sugiyono, 2013).

Penelitian ini menggunakan desain *Post Test Only Control Group Design*, di mana desain dari penelitian ini menggunakan dua kelompok yang dipilih secara acak atau random (R). Kelompok yang pertama diberikan perlakuan (X) dan kelompok yang lainnya tidak diberi perlakuan. Kelompok yang diberikan perlakuan disebut kelompok eksperimen kemudian kelompok yang tidak dilakukan perlakuan adalah kelompok control. Berikut merupakan tabel alur desain penelitian ini :

Tabel 3
Desain Penelitian

	Perlakuan	Post test
R1	X	O
R2		O ₁

Keterangan :

R1 : Kelompok eksperimen, dalam penelitian ini berupa media kacang tanah dengan penambahan kaldu daging sapi.

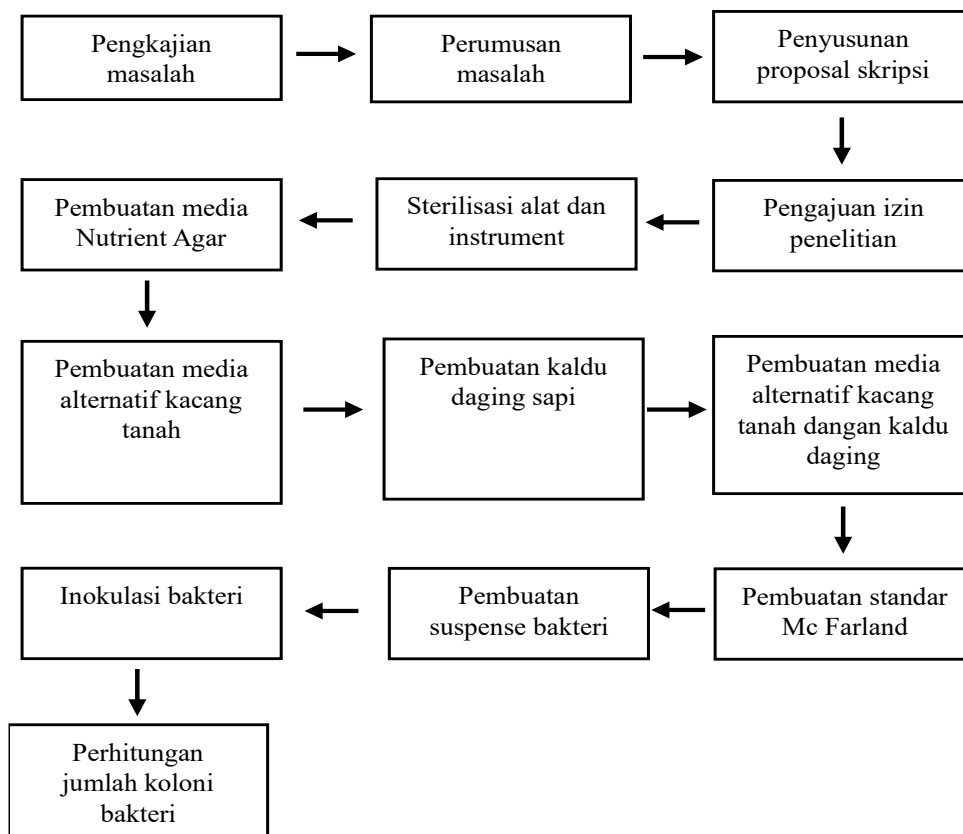
R2 : Kelompok control

X : Perlakuan

O : Jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* dengan perlakuan penambahan kaldu daging

O1 : Jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* tanpa perlakuan penambahan kaldu daging

B. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa yang bertempat di Jl. Terompong No.24, Sumerta Kelod, Kec. Denpasar Timur.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai dari bulan September tahun 2024 hingga bulan Mei 2025 yang dimulai dari penyusunan proposal hingga penyerahan hasil.

D. Sampel Penelitian

1. Unit analisis

Subjek penelitian ini merupakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* dari biakan murni. kemudian objek pada penelitian ini adalah media alternatif kacang tanah dengan penambahan kaldu daging

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang tanah dan daging sapi. Sampel kacang tanah diperoleh dari petani di desa Banyupoh, Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng. Sedangkan daging sapi diperoleh dari produsen daging sapi di Pasar Badung, Kota Denpasar.

a. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi dalam penelitian ini yaitu kacang tanah yang diperoleh di Desa Banyupoh, Kec. Gerokgak, varietas kacang tanah yang digunakan *Arachis hypogaea L*, kacang tanah yang tidak terkontaminasi zat kimia dan belum mengalami proses pengeringan. Daging sapi yang digunakan adalah daging sapi

yang berasal dari produsen daging sapi di pasar badung, kota denpasar. Bagian daging yang digunakan adalah paha belakang sapi (topside) yang dipotong pada pagi hari, dan daging sapi yang belum mengalami proses pembekuan didalam freezer. Serta bakteri yang akan digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* biakan murni.

b. Kriteria eksklusi

Terdapat kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah kacang tanah yang belum siap dipanen atau masih mentah, sudah mengalami proses pengeringan dibawah sinar matahari / oven, dan kacang tanah yang busuk. Kemudian kriteria eksklusi daging sapi adalah daging sapi yang mengandung banyak lemak.

3. Jumlah dan besar sampel

Pada penelitian eksperimen yang menggunakan kelompok eksperimen dan kontrol, penentuan jumlah sampel menggunakan rumus Federer yaitu sebagai berikut :

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan :

r : Jumlah pengulangan

t : Jumlah kelompok perlakuan

Kemudian pada penelitian ini menggunakan 4 kelompok perlakuan yaitu :

- a. Kelompok 1 : Media kacang tanah yang ditanami bakteri *Staphylococcus aureus*
- b. Kelompok 2 : Media kacang tanah yang ditanami bakteri *Eschericia coli*

- c. Kelompok 3 : Media kacang tanah dengan penambahan kaldu daging yang ditanami bakteri *Staphylococcus aureus*
- d. Kelompok 4 : Media kacang tanah dengan penambahan kaldu daging yang ditanami bakteri *Eschericia coli*

Sehingga berdasarkan perhitungan pengulangan menggunakan rumus Federer didapatkan perhitungan sebagai berikut :

$$(r-1) (t-1) \geq 15$$

$$(r-1) (4-1) \geq 15$$

$$(r-1) (3) \geq 15$$

$$3r-3 \geq 15$$

$$3r \geq 15+3$$

$$r \geq 18:3$$

$$r \geq 6$$

Jadi berdasarkan perhitungan dengan rumus Federer pengulangan yang dilakukan pada setiap kelompok adalah sebanyak 6 kali. Kemudian terdapat 4 kelompok perlakuan sehingga total sampel adalah 24 sampel.

4. Alat, bahan dan prosedur penelitian

a. Alat penelitian

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi alat pelindung diri (APD), kompor listrik, termometer, gelas kimia, timbangan, neraca analitik, erlenmeyer, petri dish, hot plate, autoclave, incubator, batang pengaduk, tabung reaksi, laminar air flow, dan colony caunter.

b. Bahan penelitian

Bahan yang diperlukan dalam penelitian adalah kacang tanah, daging sapi bagian topside, Nutrient Agar himedia, agar base merk himedia, gula, aquades,

bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* biakan murni, kertas saring, kapas dan aluminium foil.

c. Prosedur penelitian

1) Tahapan pre-analitik

a) Sterilisasi alat dan instrument

Alat instrument yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu menggunakan autoclave. Alat instrument dibungkus menggunakan aluminium foil kemudian di masukkan kedalam autoclave dan dipanaskan.

b) Peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*

Siapkan ose steril, ambil 20 ul bakteri menggunakan mikropipet. Tuangkan dipinggiran media NA kemudian goreskan menggunakan ose membentuk empat kuardran. Inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

2) Tahapan analitik

a) Pembuatan media kontrol (Nutrient Agar)

Media NA dibuat dengan menimbang 13,44 gr media NA, kemudian dilarutkan dengan 480 ml akuades. Panaskan diatas hot plate dengan diaduk sampai larut sempurna. Setelah larut sterilisasi menggunakan autoclave selama 15 menit pada suhu 121 OC. Tuangkan sebanyak 20 mL media ke cawan petri steril jika suhu sudah mencapai 40°C (Kasiyati dkk., 2023).

b) Pembuatan rebusan kacang tanah

Kacang tanah sebanyak 450 gr dikupas kemudian dicuci bersih. Rebus kacang tanah dengan 1,500 mL akuades selama 15 menit dengan suhu 90 °C. Kemudian saring hasil rebusan menggunakan kertas saring.

c) Pembuatan media alternatif kacang tanah

Media alternatif dari kacang tanah dibuat dengan mencampurkan 1,500 mL air rebusan kacang tanah, 30 gr agar, dan 30 gr gula. Kemudian campuran media dipanaskan menggunakan hot plate sambil diaduk sampai larut. selanjutnya pH media diperiksa menggunakan kertas indikator pH untuk memastikan pH media netral. Sterilisasi media alternatif dilakukan dengan menggunakan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah di autoclave angkat media dan tunggu hingga suhu media mencapai kurang lebih 40 °C. Larutan kemudian dipindahkan sebanyak 20 mL secara aseptis ke dalam cawan petri dan biarkan media dingin dan mengeras (Zamilah dkk., 2020).

d) Pembuatan kaldu daging

Daging sapi yang akan digunakan ditimbang sebanyak 500 gr dan dibersihkan dari lemak-lemaknya. Daging sapi dipotong dadu dan dicuci bersih kemudian direbus dengan akuades sebanyak 1000 mL selama 20 menit. Kemudian simpan hasil rebusan didalam kulkas selama 24 jam. Lemak yang terapung dibuang kemudian saring dengan kertas saring. Ukur dengan gelas ukur kemudian tambahkan kembali akuades hingga volume 1000 mL (Andayani dkk., 2023).

e) Pembuatan media kacang tanah dengan kaldu daging

Media alternatif kacang tanah dengan kaldu daging sapi dibuat dengan mencampurkan 750 ml air rebusan kacang tanah, 750 ml kaldu daging sapi, 30 gr agar, dan 30 gr gula. Kemudian campuran media dipanaskan menggunakan hot plate sambil terus diaduk hingga tercampur rata dan larut. pH media kemudian dicek menggunakan indikator pH dengan syarat pH media harus netral. Setelah itu, media alternatif kacang tanah disterilisasi dengan autoclave selama 15 menit

dengan suhu 121°C. Media yang sudah di-autoclave diangkat dan didiamkan sampai suhunya turun menjadi sekitar 40°C. Selanjutnya, media dituang secara hati-hati (aseptis) ke dalam petri dish steril sebanyak 20 mL. Biarkan media pada suhu ruang hingga dingin dan mengeras.

f) Pembuatan suspensi 0.5 Mc Farland bakteri *Staphylococcus aureus* dan

Escherichia coli

Untuk membuat suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, ambil masing-masing koloni bakteri yang sudah diremajakan menggunakan ose steril kemudian masing-masing diencerkan pada larutan NaCl 0,9% steril sampai suspensi mencapai kekeruhan yang setara dengan larutan standar Mc Farland 0,5 (Zamilah dkk., 2020).

g) Pembuatan pengenceran bertingkat bakteri *Staphylococcus aureus* dan

Escherichia coli

Siapkan tabung reaksi yang sudah disterilisasi sebanyak 6 tabung kemudian labeli masing-masing tabung dengan pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} . Pipet sebanyak 1 mL suspensi bakteri kemudian dicampurkan kedalam tabung pengenceran 10^{-1} homogenkan. Kemudian ambil 1 mL larutan pada pengenceran 10^{-1} dan diencerkan ke tabung pengenceran 10^{-2} . 1 mL larutan pada pengenceran 10^{-2} diencerkan ke tabung pengenceran 10^{-3} . 1 mL larutan pada pengenceran 10^{-3} dan diencerkan ke tabung pengenceran 10^{-4} . 1 mL larutan pada pengenceran 10^{-4} dan diencerkan ke tabung pengenceran 10^{-5} . 1 mL larutan pada pengenceran 10^{-5} dan diencerkan ke tabung pengenceran 10^{-6} .

- h) Inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* pada media alternatif kacang tanah, media alternatif kacang tanah dengan kaldu daging dan media NA

Inokulasi bakteri *Staphylococuss aureus* dan *Eschericia coli* pada media NA, media alternatif kacang tanah dan media alternatif kacang tanah dengan kaldu daging, diawali dengan memipet sebanyak 0,1 ml pengenceran bertingkat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* yang sudah dibuat. Tuangkan suspensi bakteri kedalam media NA, media alternatif kacang tanah dan media alternatif kacang tanah dengan kaldu daging, lalu suspense bakteri disebarakan secara merata menggunakan batang bengkok (spider). Inkubasi selama 1x24 jam dengan suhu 37°C menggunakan incubator (Zamilah dkk., 2020).

3) Post analitik

- a) Perhitungan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* yang tumbuh dihitung dengan cara mengamati jumlah koloni yang tumbuh. Rentang jumlah koloni yang tumbuh pada petri dish berdasarkan Standar Plate Count yaitu berkisar antara 30 sampai 300 koloni.

- b) Penanganan limbah medis

Hasil dari limbah penelitian yang diperoleh dikategorikaan berdasarkan sampah kantong kuning untuk limbah medis, sampah kantong hitam untuk limbah non medis, dan sampah dari jerigen untuk limbah benda tajam.

4) Penanganan BBT

BBT diperoleh dari laboratoium Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa.

a) Teknik pengumpulan BBT

Sebelum pengambilan BBT, semua peralatan dan tempat pengambilan harus disterilkan untuk mencegah kontaminasi. Jenis dan jumlah sampel harus sesuai dengan tujuan penelitian atau pengujian. Pengambilan BBT dilakukan menggunakan mikropipet steril untuk mengambil suspensi bakteri.

b) Teknik penyimpanan BBT

Setiap jenis BBT memiliki kondisi penyimpanan yang berbeda. Wadah yang digunakan untuk menyimpan BBT harus steril dan sesuai dengan jenis BBT. Setiap wadah BBT harus diberi label yang jelas, termasuk jenis BBT, sumber, tanggal, dan orang yang bertanggung jawab.

c) Teknik pemusnahan BBT

BBT yang sudah tidak digunakan harus dibuang dengan cara yang aman, yaitu dengan mengikuti prosedur pembuangan limbah medis.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data

Terdapat dua jenis data yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya data primer dan data sekunder.

a. Data primer

Data primer berasal dari semua jenis data yang diperoleh peneliti selama pemeriksaan di laboratorium yang mencakup: jumlah dari pertumbuhan koloni bakteri yang tumbuh pada media alternatif kacang tanah dengan perlakuan dan tanpa perlakuan.

b. Data sekunder

Data sekunder merupakan data objek penelitian yang diperoleh secara tidak langsung. Data ini didapatkan dari jurnal, artikel, dan e-book yang diakses melalui laman pencarian internet.

2. Teknik pengumpulan data

Penelitian ini menggunakan teknik pengumpulan data observasi dengan mengukur secara langsung pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* secara kuantitatif dengan menghitung jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* yang tumbuh.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dilakukan analisis deskriptif, analitik dan statistic. Analisis deskriptif disajikan berbentuk tabel. Kemudian analisis statistik dilakukan agar mengetahui perbandingan atau perbedaan antar variabel dalam penelitian dan digunakan untuk membuktikan hipotesis.

2. Analisis data

a. Analisis deskriptif

Hasil pengamatan jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* pada media pertumbuhan disajikan dalam bentuk tabel.

b. Analisis statistic

Data pengamatan jumlah dari koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* yang tumbuh pada media pertumbuhan dianalisis menggunakan aplikasi statistik. Analisis dilakukan dengan menggunakan metode uji non-parametrik Kruskal Wallis yang digunakan untuk membandingkan rata-rata lebih

dari dua kelompok data dengan membandingkan varian data. Dalam uji ini tidak diperlukan asumsi yang harus dipenuhi.

1) Uji distribusi data / normalitas

Data penelitian dari kelompok eksperimen dan kontrol dianalisis menggunakan program SPSS. Uji distribusi data dianalisis dengan metode Shapiro-Wilk karena jumlah data ≤ 50 . Uji distribusi data dilakukan untuk melihat apakah data berdistribusi normal atau tidak. Jika nilai sig (*p value*) $> 0,05$ maka data terdistribusi secara normal dan jika nilai sig (*p value*) $< 0,05$ maka data tidak terdistribusi secara normal.

2) Uji homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui apakah dua kelompok sampel data atau lebih berasal dari populasi yang memiliki variansi yang sama. Jika nilai sig (*p value*) Based on Mean $> 0,05$ maka berkesimpulan varian data homogen (uji homogenitas terpenuhi) dan jika nilai sig (*p value*) Based on Mean $< 0,05$ maka berkesimpulan varian data tidak homogen (uji homogenitas tidak terpenuhi). Uji homogenitas juga digunakan untuk menentukan uji lanjutan yang akan digunakan nantinya.

3) Uji non parametrik Kruskal-wallis

Uji non-parametrik Kruskal-Wallis digunakan sebagai alternatif analisis statistik One Way ANOVA karena data yang diperoleh tidak memenuhi asumsi yaitu data tidak homogen. Jika hasil penelitian menunjukkan data yang tidak terdistribusi normal serta tidak homogen. Uji Kruskal-wallis ialah analisis statistic non-parametrik yang digunakan untuk menentukan apakah ada perbedaan yang signifikan antara dua atau lebih kelompok data. Hasil akhir dari uji Kruskal-wallis

adalah nilai *P value*. Jika nilai sig (*p value*) > 0,05 berkesimpulan tidak ada perbedaan secara signifikan antar kelompok dan jika nilai sig (*p value*) < 0,05 berkesimpulan ada perbedaan secara signifikan antara kelompok data.

4) Uji post-hoc

Uji post hoc atau uji lanjut Kruskal Wallis merupakan uji yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan setiap kelompok secara nyata. Uji post hoc dilakukan karena hasil uji non-parametrik Kruskal Wallis memiliki perbedaan secara signifikan antar kelompok. Hasil akhir uji pos hoc adalah jika nilai sig (*p value*) > 0,05 berkesimpulan tidak ada perbedaan secara nyata antar kelompok dan jika nilai sig (*p value*) < 0,05 berkesimpulan ada perbedaan secara nyata antar kelompok.

G. Etika Penelitian

Dalam melakukan seluruh rangkaian penelitian, pentingnya menerapkan prinsip-prinsip dalam etika penelitian. Prinsip yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Prinsip berbuat baik (*beneficence*) dan tidak merugikan

Prinsip etika *beneficence*, yaitu menerapkan prinsip kebijakan yang mengupayakan manfaat sebesar-besarnya dan meminimalisir kerugian bagi orang lain. Selain itu, prinsip *non-maleficence* diterapkan untuk menjamin keamanan objek penelitian serta mencegah segala bentuk eksploitasi.

2. Prinsip keadilan (*justice*)

Prinsip keadilan memiliki arti bahwa bahwa setiap subjek penelitian memiliki hak untuk diperlakukan secara adil dan setara selama proses penelitian, dari awal hingga akhir.

3. Prinsip penghormatan terhadap martabat manusia (*respect for persons*)

Prinsip ini mencerminkan bahwa setiap individu memiliki hak untuk menentukan pilihannya dan bertanggung jawab atas pilihannya.