

BAB IV

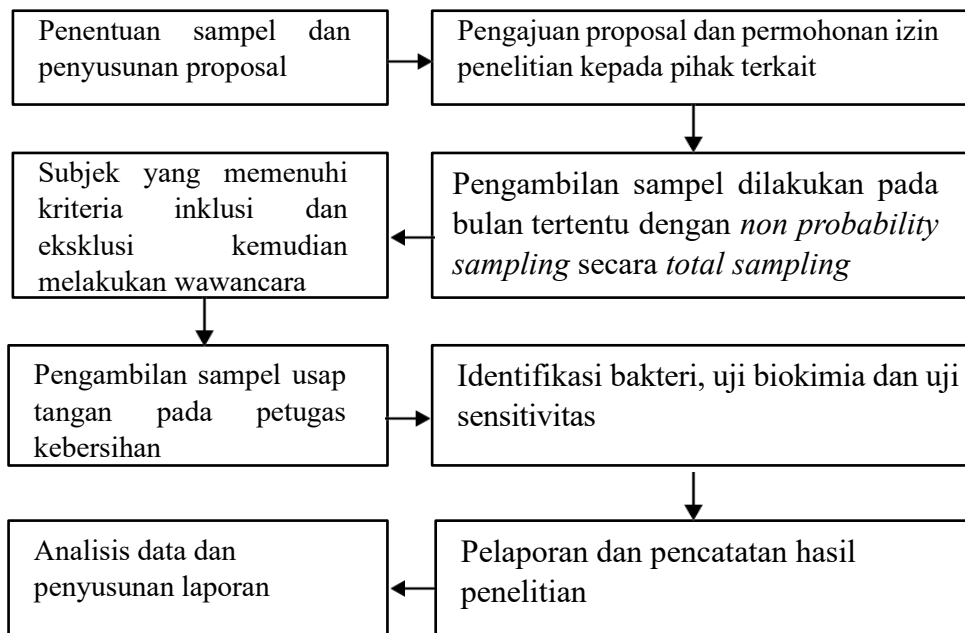
METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif. Menurut Sugiyono (2023) penelitian deskriptif merupakan jenis penelitian yang bertujuan untuk mendeskripsikan atau menggambarkan keadaan, fenomena, atau karakteristik suatu objek atau subjek pada saat penelitian dilakukan. Dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan dan karakteristik bakteri *S. aureus* pada tangan petugas kebersihan di TPS 3R Kubu Lestari serta menganalisis tingkat sensitivitasnya terhadap antibiotik cefoxitin melalui pengukuran zona hambat.

B. Alur Penelitian

Alur penelitian yang akan dilakukan pada penelitian ini yaitu :



Gambar 2. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat pengambilan sampel usap tangan dilakukan di TPS 3R Kubu Lestari Desa Pemogan Kecamatan Denpasar Selatan dan tahap pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Poltekkes Kemenkes Denpasar Jalan Sanitasi No. 1 Desa Sidakarya Kecamatan Denpasar Selatan.

2. Waktu penelitian

Waktu pengambilan sampel dan pemeriksaan sampel pada penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2025 – Mei 2026.

D. Unit Analisis dan Responden

Menurut Sugiyono (2023), unit analisis merupakan sesuatu yang berkaitan dengan fokus atau komponen yang diteliti dalam suatu penelitian. Unit analisis ini dapat berupa individu, kelompok, organisasi, benda, waktu tertentu, atau peristiwa sosial yang sesuai dengan fokus permasalahan penelitian. Unit analisis pada penelitian ini adalah sampel usap tangan (swab tangan) dari petugas kebersihan di TPS 3R Kubu Lestari Desa Pemogan. Dengan responden dalam penelitian ini adalah petugas kebersihan yang bekerja di tempat tersebut. Responden merupakan individu atau subjek penelitian yang memberikan jawaban terhadap pertanyaan atau pertanyaan yang diajukan peneliti, baik melalui wawancara, kuisioner, maupun bentuk pengumpulan data lainnya (Sugiyono, 2023). Pada penelitian ini responden bersedia menjadi sampel penelitian setelah diberikan penjelasan dan persetujuan (*informed consent*).

1. Jumlah dan besar sampel

Jumlah sampel pada penelitian ini ditentukan menggunakan teknik non-probability sampling secara total sampling. Menurut (Sugiyono, 2023) total sampling merupakan teknik pengambilan sampel dengan cara menggunakan seluruh anggota populasi sebagai sampel penelitian. Berdasarkan data yang diperoleh dari TPS 3R Kubu Lestari Desa Pemogan, jumlah keseluruhan petugas kebersihan yang masih aktif bekerja disini sebanyak 28 orang. Sehingga, seluruh petugas di TPS 3R Kubu Lestari Desa Pemogan akan menjadi sampel karena cukup mewakili populasi target untuk penelitian ini.

a. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi merupakan karakteristik umum subjek penelitian yang sesuai dengan target penelitian (Adiputra dkk.,2021). Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu:

- 1) Petugas kebersihan yang masih aktif bekerja di TPS 3R Kubu Lestari.
- 2) Petugas kebersihan bersedia menjadi responden dengan keadaan sehat, jasmani dan rohani serta bersedia menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*)
- 3) Petugas kebersihan hadir pada saat pengambilan sampel usap tangan dan tidak melakukan cuci tangan sesudah memilah sampah.
- 4) Petugas kebersihan tidak sedang dalam pengobatan antibiotik selama 14 hari terakhir.

b. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi merupakan kriteria dari subjek penelitian yang tidak boleh ada atau tidak memenuhi target penelitian (Adiputra dkk.,2021). Kriteria eksklusi pada penelitian ini yaitu:

- 1) Petugas kebersihan yang tidak mencuci tangan sebelum atau sesudah memilah sampah.
- 2) Petugas kebersihan memiliki luka terbuka, infeksi kulit/dermatitis di tangan.
- 3) Petugas kebersihan dalam kondisi sakit/ infeksi sistemik (demam, infeksi aktif).
- 4) Memakai sarung tangan secara terus menerus tepat sebelum pengambilan sampel.
- 5) Petugas kebersihan yang tidak hadir pada saat pengambilan sampel.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer merupakan data yang diperoleh secara langsung dari sumber data penelitian (responden) (Adiputra dkk., 2021). Menurut (Sugiyono, 2023), data primer merupakan data yang didapatkan langsung dari lapangan. Data primer yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah hasil wawancara, observasi dan hasil pemeriksaan laboratorium berupa identifikasi dan uji sensitivitas bakteri *S. aureus* terhadap antibiotik cefoxitin pada sampel usap tangan petugas kebersihan.

b. Data sekunder

Data sekunder merupakan data yang diperoleh dalam bentuk jadi, tidak membutuhkan lagi proses pengukuran secara langsung (Adiputra dkk., 2021).

Menurut (Sugiyono, 2023) data sekunder sudah tersedia dalam bentuk dokumen, laporan atau rekaman yang dapat diakses oleh peneliti untuk tujuan analisis atau mendukung penelitian primer. Data sekunder yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah data jumlah penduduk Desa Pemogan dan data informasi serta data jumlah petugas kebersihan dari TPS 3R Kubu Lestari Desa Pemogan yang diperlukan dalam melengkapi data penelitian. Selain itu, data sekunder yang digunakan dalam penelitian ini mencakup referensi seperti jurnal penelitian dan buku yang telah dipublikasikan oleh pihak lain. Sehingga dapat digunakan kembali untuk keperluan penelitian dan mendukung penelitian yang sedang dilakukan.

2. Teknik pengumpulan data

a. Wawancara

Dalam penelitian ini wawancara dilakukan secara terstruktur. Menurut Sugiyono (2023), wawancara terstruktur adalah jenis wawancara yang dilakukan dengan pedoman sistematis atau panduan pertanyaan yang terstruktur. Setelah responden menyetujui *informed consent*, maka wawancara akan dilakukan dengan mengisi formulir mengenai identitas responden, usia, jenis kelamin, lama bekerja, personal hygiene dan riwayat mengkonsumsi antibiotik 3 bulan terakhir.

b. Observasi

Dalam penelitian ini observasi dilakukan secara terstruktur. Menurut Sugiyono (2023), observasi terstruktur adalah pengamatan yang dilakukan dengan menggunakan panduan atau checklist yang telah ditentukan sebelumnya, memungkinkan pengumpulan data yang sistematis, objektif dan dapat diukur. Observasi ini digunakan sebagai teknik pengumpulan data primer untuk mendeskripsikan kondisi petugas kebersihan

- c. Pemeriksaan identifikasi dan uji sensitivitas bakteri *S. aureus* terhadap antibiotik Cefoxitin

Dalam penelitian ini pengumpulan sampel dilakukan dengan cara usap (swab) menggunakan lidi steril yang telah dicelupkan ke dalam larutan NaCl 0,9%, kemudian digosok secara merata ke seluruh area telapak tangan hingga sela-sela jari petugas kebersihan di TPS 3R. Sampel yang telah diambil disimpan pada media transport untuk proses identifikasi. Pemeriksaan identifikasi *S. aureus* dilakukan dengan menumbuhkan bakteri target pada media agar, pewarnaan gram, pemeriksaan mikroskopis, uji biokimia berupa uji katalase dan koagulase. Jika sampel menunjukkan hasil positif pada semua uji yang telah dilakukan, maka dilanjutkan dengan menguji sensitivitas antibiotik cefoxitin terhadap bakteri *S. aureus* pada media MHA. Terbentuknya diameter zona hambat di sekitar cakram sebagai indikator sensitivitas antibiotik.

3. Instrumen penelitian

- a. Instrumen pengumpulan data

Adapun instrumen penelitian yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain:

- 1) Alat tulis dan kertas pengamatan, untuk mencatat atau mengumpulkan hasil dan data saat melakukan pengamatan pada penelitian lapangan.
- 2) Handphone, untuk dokumentasi seluruh kegiatan pada saat penelitian berlangsung.
- 3) Laptop, untuk menginput data yang telah didapatkan atau terkumpul.
- 4) Peralatan laboratorium, sebagai instrumen untuk mendapatkan data hasil pemeriksaan.

b. Alat

Transport swab steril (28 pcs), cooler box (1 buah), ice pack (2 buah), neraca analitik (1 buah), spatula (1 buah), erlenmeyer 500 ml (1 buah), tabung reaksi (2 buah), rak tabung reaksi (1 buah), beaker glass 500 ml (1 buah), gelas ukur 500 ml (1 buah), corong (1 buah), batang pengaduk (1 buah), pipet ukur 50 ml (1 buah), ball pipet (1 buah), pipet tetes (1 buah), ose bulat (1 pack), kaca objek (1 pack), petridish PS 90 mm (1 buah), api Bunsen (1 buah), jembatan pewarna (1 buah), mikroskop binokuler (1 buah), incubator (1 buah), Biosafety Cabinet (1 buah), McFarland densinometer (1 buah), autoclaf (1 buah), hotplate stirrer (1 buah), magnetic stirrer bar (2 buah) dan jangka sorong (1 buah).

c. Bahan

Natrium Chlorida (NaCl) 0,9% (500 ml), aquades steril (5 liter), alkohol 70% (50 ml), Crystal Violet (50 ml), Lugol (50 ml), Safranin (50 ml), Manitol Salt Agar (MSA)(66,6 gram), Mueller Hinton Agar (MHA)(28,5 gram), cakram, Antibiotik Cefoxitin (30 disc), standard McFarland 0,5% (1 buah), Reagen, Hidrogen Peroksida (30 ml), Plasma sitrat (30 ml) dan oil imersi (1 buah)

d. Prosedur Kerja

1) Protokol kesehatan penelitian

Dalam melakukan pengambilan sampel dan pengujian sampel, peneliti wajib mematuhi prosedur keselamatan kerja laboratorium dengan menggunakan alat pelindung diri (APD) tingkat II sesuai dengan pedoman keselamatan dan kesehatan kerja (Hidayati, Kusumastuti dan Amanah 2022). APD tingkat II meliputi jas laboratorium, masker medis dan sarung tangan medis sekali pakai. Penggunaan APD tingkat II bertujuan untuk mencegah risiko kontaminasi dari mikroorganisme

yang berpotensi patogen.

2) Prosedur pembuatan media

a) Pembuatan media *Mannitol Salt Agar* (MSA)

- (1) Menimbang media *MSA* sebanyak 66,6 g, lalu melarutkannya dengan 600 ml aquadest.
- (2) Menghomogenkan suspensi media dan memanaskannya di atas hotplate hingga mendidih.
- (3) Mensterilkan media dengan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Media yang sudah steril, dituang pada petridish dan disimpan di lemari pendingin untuk digunakan selanjutnya.

b) Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

- (1) Menimbang media *MHA* sebanyak 28,5 g, lalu melarutkannya dengan 750 ml aquadest.
- (2) Menghomogenkan suspensi media dan memanaskannya di atas hotplate hingga mendidih.
- (3) Mensterilkan media dengan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Media yang sudah steril, dituang pada petridish dan disimpan di lemari pendingin untuk digunakan selanjutnya.

3) Prosedur pengambilan sampel usap tangan

- a) Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan.
- b) Membasahi swab steril dengan NaCl 0,9%.
- c) Melakukan usap tangan menggunakan kapas lidi steril tersebut ke seluruh permukaan telapak tangan dan sela-sela jari.
- d) Masukkan lidi steril yang telah diusap pada tangan responden, lalu

dimasukkan ke dalam coolbox.

4) Identifikasi bakteri *S. aureus*

a) Penanaman (inokulasi) pada media MSA

- (1) Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan.
- (2) Mengambil spesimen usap tangan, lalu dimasukkan kedalam media MSA kemudian dilakukan strike pada kuadran I, dan dilanjutkan strike sampai pada kuadran IV dengan ose bulat secara aseptis.
- (3) Menutup kembali media MSA dan diberi label.
- (4) Menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- (5) Mengamati pertumbuhan koloni pada media dengan melihat bentuk (bulat bergerombol), dan warna (perubahan media dari merah menjadi kuning keemasan).
- (6) Pertumbuhan *S. aureus* pada MSA akan menunjukkan perubahan warna media dari merah menjadi kuning yang disebabkan adanya produksi asam sebagai hasil fermentasi manitol (Yang, Y., dkk 2020) sehingga mengubah indikator pH pada MSA.

b) Pewarnaan gram

- (1) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- (2) Membersihkan kaca objek dengan tisu untuk menghilangkan lemak yang ada dan melabelinya, lalu memfiksasi di atas Bunsen.
- (3) Mengambil NaCl 0,9% menggunakan ose dan meneteskannya di atas kaca objek secukupnya. Selanjutnya, cuplik secara aseptis biakan koloni yang tumbuh pada media MSA kemudian dibuatkan apusan pada objek hingga merata dan fiksasi pada api Bunsen.

- (4) Melakukan pewarnaan menggunakan warna crystal violet dan didiamkan selama 1 menit, lalu bilas menggunakan air mengalir.
- (5) Melakukan pewarnaan dengan larutan lugol dan didiamkan selama 1 menit. Kemudian bilas dengan air mengalir.
- (6) Melakukan pembersihan zat pengganggu menggunakan alkohol 70% setetes demi setetes hingga aliran alkohol yang menetes hampir jernih. Kemudian bilas preparat dengan air mengalir.
- (7) Melakukan pewarnaan dengan larutan safranin dan didiamkan selama 20 detik kemudian dibilas menggunakan air mengalir dan keringkan.
- (8) Mengamati preparat yang sudah jadi dengan mikroskop pada perbesaran lensa objektif 100x dengan penambahan oil imersi.
- (9) Bakteri gram positif yang memiliki peptidoglikan tebal akan mengikat kuat crystal violet sehingga berwarna ungu. Sedangkan bakteri gram negatif akan menyerap safranin sehingga berwarna merah (Cappuccino, 2019).

c) Uji katalase

- (1) Menyiapkan koloni biakan bakteri yang tumbuh pada media MSA.
- (2) Meneteskan $H^2O^2 3\%$ pada kaca objek.
- (3) Mencuplik secara aseptis 1 koloni bakteri dari media MSA, kemudian dicampurkan dengan $H^2O^2 3\%$ pada kaca objek.
- (4) Mengamati ada tidaknya gumpalan atau bekuan pada reaksi tersebut.
- (5) Interpretasi hasil: positif jika terdapat buih (busa) dan negatif jika tidak terbentuk buih (busa). Koloni yang menunjukkan katalase positif dilanjutkan dengan uji koagulase (Radji, 2019).

d) Uji Koagulase

- (1) Menyiapkan koloni biakan bakteri yang tumbuh pada media MSA.
- (2) Meneteskan plasma sitrat ke permukaan kaca objek.
- (3) Mengambil koloni yang sebelumnya menunjukkan katalase positif sebanyak 1-2 ose, dicampur merata dengan plasma sitrat.
- (4) Mengamati ada tidaknya gumpalan atau bekuan pada reaksi tersebut.
- (5) Interpretasi hasil: positif jika terjadi penggumpalan pada reagen uji koagulase dan negatif jika tidak terjadi penggumpalan pada reagen uji koagulase (Cappuccino, 2019). Koloni yang telah teridentifikasi positif *S. aureus* melalui uji mikroskopis dan uji biokimia (uji katalase dan koagulase) kemudian diinokulasikan pada media *MHA* metode aseptis. Selanjutnya dilakukan uji sensitivitas terhadap antibiotik Cefoxitin dengan metode difusi cakram dan dibandingkan dengan standar CLSI (CLSI 2020).

e) Pembuatan suspensi 0,5 McFarland

- (1) Koloni *S. aureus* dari biakan murni diambil dengan ose dan disuspensikan pada tabung yang memiliki 5 ml larutan NaCl Fisiologis 0,9% steril hingga tercapai konsentrasi 0,5 McFarland.
- (2) Kekeruhan suspensi bakteri diukur memakai McFarland densitometer. Konsentrasi 0,5 McFarland bersamaan pada $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Colony Forming Unit per mililiter).

f) Uji sensitivitas antibiotik cefoxitin

- (1) Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan.
- (2) Meinokulasikan suspensi 0,5 McFarland pada media *MHA* dengan

membuat apusan secara merata menggunakan lidi kapas.

(3) Menempelkan cakram antibiotik cefoxitin pada permukaan media yang telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri.

(4) Menginkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

g) Pengukuran diameter zona hambat

(1) Mengambil media MHA yang telah diinkubasi selama 24 jam.

(2) Mengamati adanya zona hambat disekeliling cakram antibiotik.

(3) Mengukur diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong.

Diameter zona hambat dikategorikan sensitif (S) apabila diameternya $\geq$ 22 mm, dan resisten (R) apabila diameternya $\leq$ 21 mm (CLSI, 2025).

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data yang telah diperoleh dari hasil wawancara, observasi, identifikasi dan uji sensitivitas bakteri *S. aureus* dikelompokkan, diolah, dan data disajikan dalam bentuk tabel kemudian dibahas secara naratif.

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif yaitu tidak dibahas secara uji statistik, tetapi dengan cara membandingkan kenyataan di lapangan yaitu hasil pemeriksaan dibandingkan dengan standar sensitivitas cefoxitin pada tabel CLSI antara lain resisten (R) dan sensitif (S). Jumlah dari masing-masing hasil tersebut dinyatakan dalam bentuk persentase (%).

3. Etika Penelitian Prosedur pengajuan kajian etik penelitian kesehatan

Peneliti dapat mengajukan permohonan kaji etik kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Denpasar dengan langkah sebagai berikut:

- a. Mengisi formulir registrasi pengajuan dan isian kelayakan kaji etik penelitian kesehatan dengan mengunduh formulirnya.
- b. Membuat ringkasan protokol atau proposal sesuai dengan ketentuan yang berlaku. Ketentuan dapat diunduh.
- c. Proposal atau protokol penelitian harus sudah mendapat persetujuan dari reviewer dosen pembimbing mahasiswa.
- d. Formulir pengajuan kaji etik, isian kelayakan kaji etik, ringkasan protokol atau proposal dan protokol atau proposal penelitian (masing-masing rangkap 3) dibawa langsung ke sekretariat Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Denpasar, Jl. Sanitasi No. 1 Sidakarya Denpasar Selatan, lantai 2.
- e. Proposal penelitian harus dilengkapi curriculum vitae peneliti utama (principal investigator) dan peneliti pendamping (co-investigator), lembaran persetujuan setelah penjelasan (PSP) (*informed consent*) yang terdiri dari: 1) informasi untuk subjek penelitian, 2) lembaran persetujuan subjek (lembar tanda tangan). Lembar PSP dapat diunduh.

4. Kode etik penelitian

- a. Menghormati individu (respect for persons)

Penelitian perlu mempertimbangkan hak-hak subjek peneliti tersebut. Peneliti juga memberikan kebebasan kepada subjek dalam menyampaikan informasi atau tidak menyampaikan informasi. Sebagai ungkapan, peneliti menghormati harkat dan martabat subjek penelitian seperti format formulir persetujuan subjek atau *informed consent*.

b. Kebaikan/kemanfaatan (beneficence)

Beneficence merupakan melakukan sesuatu yang baik. Memerlukan pencegahan dari kesalahan atau kejahatan, penghapusan kesalahan atau kejahatan dan peningkatan kebaikan oleh diri dan orang lain (Purnama, 2016). Kewajiban secara etik untuk memaksimalkan manfaat dan meminimalkan kerugian yang dialami subjek yang diteliti. Semua penelitian harus bermanfaat bagi masyarakat, desain penelitian harus jelas, peneliti yang bertanggung jawab harus mempunyai kompetensi yang sesuai. Pada penelitian ini menggunakan APD tingkat dua untuk mencegah terjadinya infeksi nosokomial.

c. Kerahasiaan (confidentiality)

Setiap orang mempunyai hak-hak dasar individu termasuk privasi dan kebebasan individu dalam memberikan informasi. Setiap orang berhak untuk tidak memberikan apa yang diketahuinya kepada orang lain. Oleh sebab itu, peneliti tidak boleh menampilkan informasi mengenai identitas dan kerahasiaan identitas subjek. Peneliti cukup menggunakan coding sebagai petunjuk identitas responden. Dalam pelaksanaan menghormati privasi dan kerahasiaan subjek penelitian, peneliti menerapkan cara untuk menulis identitas responden dengan urutan abjad dan umur responden, dan peneliti juga tidak mengambil gambar (foto) tanpa persetujuan dari responden.

d. Keadilan (justice)

Prinsip keterbukaan dan adil perlu dijaga oleh peneliti dengan kejujuran, keterbukaan, dan kehati-hatian. Lingkungan peneliti perlu dikondisikan memenuhi prinsip keterbukaan, yakni dengan menjelaskan prosedur penelitian. Prinsip keadilan ini menjamin bahwa semua subjek penelitian memperoleh perlakuan dan

keuntungan yang sama, tanpa membedakan jenis kelamin, agama, suku, dan lainnya. Dalam penerapan keadilan dan inklusivitas atau keterbukaan responden, sebelum melakukan penelitian dengan memberikan wawancara peneliti menjelaskan kepada responden tentang manfaat dari penelitian ini.

e. Kejujuran (*Integrity*)

Prinsip etika dalam penelitian adalah kejujuran. Peneliti harus jujur saat mengumpulkan, menganalisis, dan menyajikan data. Pelanggaran akademik seperti manipulasi data, plagiarisme, dan pemalsuan hasil penelitian dianggap sebagai pelanggaran serius. Kejujuran juga mencakup transparansi tentang metode dan prosedur yang digunakan, memastikan bahwa penelitian dapat di replikasi oleh orang lain. Dengan menjunjung tinggi integritas, kepercayaan terhadap hasil penelitian dapat dipertahankan.