

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif, yaitu suatu penelitian yang dilakukan untuk mendeskripsikan atau menggambarkan fenomena yang terjadi dalam masyarakat. Jenis penelitian deskriptif menggambarkan keadaan objek berdasarkan fakta sebagaimana adanya (Notoadmodjo, 2012). Dalam penelitian ini telah dilakukan isolasi dan dikarakterisasi BAL dari sampel limbah tahu yang di dapat dari pabrik pembuatan tahu di Desa Sampalan Kabupaten Klungkung.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **1. Tempat penelitian**

Pengambilan sampel penelitian dilaksanakan di Desa Sampalan Kabupaten Klungkung sedangkan isolasi dan karakterisasi bakteri dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Denpasar.

##### **2. Waktu penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Mei tahun 2020 yang dimulai dari penyusunan hingga penyetoran karya tulis ilmiah

## **C. Populasi dan Sampel Penelitian**

### **1. Populasi penelitian**

Populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas obyek atau subjek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2017). Pada penelitian ini yang menjadi populasi adalah limbah air dadih tahu dari proses pembuatan tahu di wilayah desa Sampalan Kabupaten Klungkung

### **2. Sampel penelitian**

Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut. Untuk sampel yang diambil dari populasi harus mewakili dari populasi (Sugiyono, 2017)

#### **a. Unit analisis**

Unit analisis pada penelitian adalah ada atau tidaknya bakteri asam laktat pada sampel limbah tahu. Sampel pada penelitian ini adalah limbah tahu yang dihasilkan dari pabrik rumahan pembuatan tahu di Desa Sampalan Kabupaten Klungkung. Penentuan sampel dilakukan dengan menentukan kriteria inklusi dan eksklusi.

Adapun kriteria inklusi dalam penelitian ini yaitu :

1. Limbah cair sisa penggumpalan tahu pada produksi tahu di Desa Sampalan Kabupaten Klungkung
2. Sampel berwarna kuning keruh

Sedangkan kriteria eksklusi dalam penelitian ini yaitu :

1. Sampel yang mengalami perubahan warna dan tekstur dari awal pengambilan

b. Jumlah dan besar sampel

Menurut Sugiyono (2017) sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi. Karena keterbatasan waktu dan biaya maka sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini sebesar 20 sampel dari populasi limbah tahu pada 4 pabrik yang diambil berulang sebanyak lima kali.

c. Teknik pengambilan sampel

Dalam penelitian ini, teknik pengambilan sampel menggunakan *purposive sampling*. Pada teknik sampling ini, sampel yang dipilih berdasarkan pertimbangan tertentu seperti populasi dan kriteria sampel yang dibuat oleh peneliti (Notoadmodjo, 2012).

## **D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data**

### **1. Jenis data yang dikumpulkan**

Jenis data yang dikumpulkan adalah jenis data primer. Sumber data primer adalah sumber data yang langsung memberikan data kepada pengumpul data (Sugiyono, 2017). Data primer tersebut meliputi data mengenai hasil pemeriksaan laboratorium bakteri asam laktat yang diisolasi dari limbah tahu.

### **2. Teknik pengumpulan data**

a. Pemeriksaan laboratorium

Pengumpulan data yang dilakukan yaitu dengan cara pemeriksaan laboratorium melalui teknik kultur bakteri asam laktat yang diisolasi pada limbah tahu. Data-data yang dikumpulkan dari hasil pengujian dan observasi diolah dengan menggunakan teknik pengolahan data secara tabulasi data yaitu disajikan dalam tabel dengan memberikan narasi.

### **3. Instrument pengumpulan data**

Instrument yang digunakan dalam pengumpulan data yaitu:

- a. Kamera untuk dokumentasi
- b. Alat tulis
- c. Alat untuk pemeriksaan laboratorium

## **E. Alat, Bahan dan Prosedur Kerja**

### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya tempat sampel steril (7 buah), spatula (7 buah), kaca arloji (2 buah), neraca analitik (Radwag) (1 buah), gelas kimia (Duran) 500 mL (3 buah), gelas ukur (Iwaki-Pyrex®) 500 mL (1 buah), Erlenmeyer (Iwaki-Pyrex®) 250 mL (5 buah), hotplate stirrer (Jisico) (1 buah), autoklaf (TOMY SX-500) (1 buah), petridish steril (10 buah), tabung reaksi steril (10 buah), pipet ukur steril (Iwaki-Pyrex®) 10 mL (1 buah), oven (Wegnac) (1 buah), rak tabung reaksi (1 buah), Biosafety Cabinet (Biobase), ose bulat (1 buah), mikropipet (Socorex) 2-20 µl dan 100-1000 µl (1 buah), pinset (1 buah), api bunsen (1 buah), inkubator (Esco) (1 buah), ball pipet (d & n ball pipet) (1 buah), mikroskop binokuler (Olympus) (1 buah), kaca objek (1 kotak), rak pengecatan (1 buah), dan tabung durham (10 buah).

### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya limbah tahu, media MRS (De Man Rogosa and Sharpe) Agar (Oxoid), Media glukosa, pewarna Gram, minyak emersi, larutan hidrogen peroksida, alkohol 70%, NaCl fisiologis steril,

aquades steril, aluminium foil, kapas berlemak, blue tip, kertas label, dan kertas buram.

### **3. Prosedur kerja**

#### **a. Pengambilan sampel**

1. Dipersiapkan alat steril yang digunakan dalam pengambilan sampel
2. Diambil sampel limbah tahu menggunakan spatula dan dimasukkan ke dalam wadah sampel steril
3. Dipastikan wadah sampel tertutup erat dan dimasukkan ke dalam box dengan suhu ruang. Sampel dapat dikirim ke laboratorium untuk diperiksa lebih lanjut

#### **b. Pembuatan NaCl 0,9% steril**

1. Disiapkan alat dan bahan yang digunakan
2. Ditimbang NaCl 0,9 gram dilarutkan dengan akuades sampai 100 mL
3. Dihomogenkan dan ditutup dengan kapas berlemak, aluminium foil dan kertas buram
4. Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

#### **c. Pembuatan MRS agar**

1. Disiapkan alat dan bahan yang digunakan
2. Ditimbang media MRS Agar 6,2 gram dilarutkan dalam 100 mL akuades
3. Dihomogenkan dengan hotplate stirrer
4. Ditutup dengan kapas berlemak, aluminium foil dan kertas buram
5. Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

6. Dituang 15 mL pada petridish yang telah disterilkan dengan oven pada suhu 160°C selama 1 jam, ditunggu sampai memadat, dibungkus dengan kertas buram dan disimpan pada lemari pendingin dengan suhu 4°C
- d. Pembuatan media glukosa
1. Disiapkan alat dan bahan yang digunakan
  2. Diberi tanda pada Erlenmeyer dengan menambahkan pelarut *alkaline pepton water* (APW) dari gelas ukur
  3. Ditimbang media glukosa
  4. Dimasukkan media yang telah ditimbang pada Erlenmeyer dan ditambahkan APW sesuai tanda batas
  5. Dihomogenkan dengan hotplate dan strirer hingga larut
  6. Dimasukkan ke dalam tabung steril dengan pipet steril sebanyak 5 ml
  7. Disteril dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit
- e. Isolasi bakteri asam laktat
1. Sampel limbah tahu diencerkan dengan cara memipet 1 mL sampel dan dihomogenkan dengan menambahkan 9 mL garam fisiologis (NaCl 0,9% steril)
  2. Hasil pengenceran kemudian diinokulasi di MRS agar dengan menggunakan metode streak plate empat kuadran yang kemudian diinkubasi 37°C selama 48 jam
  3. Koloni bakteri yang tumbuh selanjutnya diidentifikasi

f. Pewarnaan Gram

1. Kaca objek dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70% dan dilewatkan beberapa kali di atas api bunsen
2. Ditetaskan secukupnya NaCl 0,85% pada kaca objek
3. Diambil isolat bakteri dengan ose secara aseptik dan dibuat hapusan dengan cara dioleskan pada kaca objek yang telah berisi NaCl 0,9% 32
4. Kaca objek yang telah dibuat hapusan difiksasi kembali pada api bunsen
5. Hapusan yang telah jadi diletakkan pada rak pengecatan dengan bagian hapusan menghadap ke atas
6. Ditetaskan kristal violet pada hapusan sampai seluruh bagian hapusan tergenang
7. Dibiarkan selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir
8. Ditetaskan dengan larutan iodine sampai seluruh bagian hapusan tergenang dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir
9. Selanjutnya isolat bakteri ditetesi alkohol 96% selama 30 detik, kemudian dibilas dengan air mengalir
10. Ditetaskan safranin selama 45 detik dan dicuci dengan air mengalir
11. Preparat dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian preparat diamati di bawah mikroskop
12. Hasil yang menunjukkan bakteri Gram Positif dengan warna ungu dan berbentuk batang atau bulat dilakukan uji selanjutnya

g. Uji katalase

1. Kaca objek dibersihkan menggunakan alkohol 70%
2. Ditetaskan larutan hidrogen peroksida pada kaca objek

3. Diambil koloni tunggal menggunakan ose secara aseptis dan dicampurkan koloni dengan hidrogen peroksida pada kaca objek
  4. Diamati terbentuknya gelembung gas pada preparat
  5. Hasil negatif menunjukkan ciri – ciri dari bakteri asam laktat
- h. Uji fermentasi glukosa
1. Diambil koloni tunggal pada agar dengan menggunakan ose secara aseptik dan dimasukkan ke dalam media glukosa yang telah berisi tabung durham
  2. Diinkubasi 37°C selama 24 jam
  3. Diamati terbentuknya gas pada tabung durham
  4. Adanya perubahan warna merupakan ciri adanya bakteri asam laktat dan diperhatikan ada atau tidaknya gelembung gas untuk mengetahui jenis bakteri termasuk *heterofermentatif* atau *homofermentatif*.

## **F. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Teknik pengolahan data**

Data berupa karakteristik isolat bakteri asam laktat diolah serta data disajikan dalam bentuk tabel dan diberi narasi.

### **2. Teknik analisis data**

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif yang bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik setiap variable penelitian analisis deskriptif yaitu analisis yang bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik setiap variabel penelitian (Notoatmodjo, 2012). Analisis deskriptif dengan membandingkan kenyataan di

lapangan yaitu hasil pemeriksaan karakteristik bakteri asam laktat serta aktivitas antimikroba yang dihasilkan dengan teori dan jurnal hasil penelitian.