

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian deskriptif kuantitatif, yaitu suatu penelitian yang dilakukan untuk mendeskripsikan atau menggambarkan fenomena-fenomena yang terjadi di dalam masyarakat (Notoatmodjo, 2012). Peneliti melakukan pengambilan swab rongga mulut mahasiswa dengan karang gigi sekaligus mengumpulkan data responden.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar, sedangkan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan dari penyusunan usulan pada bulan Januari sampai dengan pengumpulan Karya Tulis Ilmiah setelah ujian akhir program pada bulan Mei tahun 2020.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi adalah keseluruhan penelitian yang akan diteliti (Hasmi, 2016).

Populasi dalam penelitian ini adalah mahasiswa tingkat III di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar sebanyak 86 mahasiswa.

2. Sampel penelitian

Sampel adalah bagian dari populasi yang dipilih dengan cara tertentu yang dianggap mewakili seluruh populasi yang ada (Hasmi, 2016). Dalam penelitiannya sampel yang dipilih harus memiliki kriteria atau ciri-ciri yang sesuai dengan tujuan penelitian.

a. Unit analisis

Pada penelitian ini yang menjadi unit analisis adalah mahasiswa yang memiliki karang gigi di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar. Adapun kriteria sampel yaitu:

1) Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah:

- a) Mahasiswa yang memiliki karang gigi.
- b) Berusia antara 20-21 tahun.
- c) Jenis kelamin laki-laki dan perempuan.
- d) Bersedia menjadi responden.

2) Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah:

- a) Memiliki infeksi mulut seperti sariawan dll.
- b) Mengonsumsi obat antibiotik tertentu.
- c) Berhalangan hadir.
- d) Tidak bersedia menjadi responden.

b. Besar sampel

Pengambilan sampel untuk penelitian jika subjeknya kurang dari 100 orang maka sampel diambil semuanya sehingga penelitiannya merupakan penelitian populasi, jika subjeknya lebih dari 100 orang dapat diambil 10-15% atau 20-25% atau lebih (Arikunto, 2010). Berdasarkan data jumlah mahasiswa tingkat III Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar terdapat 86 mahasiswa yang masih aktif. Terkait dengan surat edaran Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis No. PP.02.02/034/262/2020 tentang Pelaksanaan Pembelajaran Semester Genap Selama Tanggap Darurat Covid-19/ *Learning From Home*, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar khususnya mengenai jadwal KTI yang dilakukan sesuai dengan kalender akademik, maka himbauan dari Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis untuk mengurangi kontak dengan orang lain. Selain itu, karena keterbatasan waktu, kondisi dan biaya maka peneliti mengambil sampel sebanyak 20 sampel.

c. Teknik pengambilan sampel

Dalam penelitian ini pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *non probability sampling* secara *sampling kuota*. Pengambilan sampel dengan *sampling kuota* adalah teknik untuk menentukan sampel dari populasi yang mempunyai ciri-ciri tertentu sampai jumlah atau kuota yang diinginkan (Sugiyono, 2019).

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Data merupakan hasil pencatatan dari sebuah penelitian, data dalam penelitian ini berupa data primer yang didapat langsung dari responden berupa data umur, jenis kelamin, kebersihan rongga mulut, dan hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada sampel swab rongga mulut mahasiswa dengan karang gigi.

2. Cara pengumpulan data

a. Wawancara

Pengumpulan data yang dilakukan dengan wawancara digunakan untuk mendapatkan data primer responden dan data pendukung penelitian.

b. Pemeriksaan laboratorium

Pengumpulan data yang dilakukan yaitu berdasarkan hasil kultur pada media pengaya (Tioglikolat) dan media selektif (MSA) dan uji pendukung pada koloni bakteri seperti uji katalase dan uji koagulase di laboratorium pada sampel swab rongga mulut mahasiswa dengan karang gigi.

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-alat yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu:

- a. Tabung reaksi merk Pyrex (20 buah), untuk tempat media Tioglikolat.
- b. Rak tabung reaksi kayu (2 buah), untuk meletakkan tabung reaksi.
- c. Erlenmeyer 250 mL merk Pyrex (1 buah), untuk melarutkan media
- d. Gelas beaker 250 mL merk Iwaki (1 buah), untuk tempat aquadest.
- e. Spatula besi (1 buah), untuk mengambil serbuk media dari wadahnya.
- f. Lampu spiritus (1 buah), digunakan untuk area tempat kultur dan uji bakteri.
- g. Biosafety Cabinet merk Biobase (1 buah), digunakan untuk memindahkan media MSA ke plate disposable.
- h. Ose bulat (1 buah), digunakan untuk menstreak bakteri yang tumbuh pada media Tioglikolat ke media MSA pada media.
- i. Inkubator merk T01892, Esco (1 buah), digunakan untuk inkubasi media.
- j. Autoclave merk Tomy ES-215 (1 buah), untuk mensterilkan media Tioglikolat dan MSA.
- k. Neraca analitik merk Radweg (1 buah), untuk menimbang media.
- l. Pipet tetes (2 buah) digunakan untuk meneteskan reagen H₂O₂ 3% dan plasma sitrat.
- m. Objek glass merk Pras (50 buah), untuk uji katalase dan koagulase.
- n. Tourniquet merk Onemed (1 buah), untuk membendung vena pada pengambilan darah.
- o. Holder (1 buah), untuk melekatkan jarum vacum dan memudahkan mendorong tabung untuk nemacap pada ujung jarum lainnya.

2. Bahan

- a. Sampel swab rongga mulut mahasiswa dengan karang gigi.
- b. Cotton swab steril digunakan untuk swab rongga mulut.
- c. Media Tioglikolat merk Oxoid digunakan sebagai media penyubur.
- d. Media MSA merk Oxoid digunakan sebagai media kultur selektif untuk bakteri *Staphylococcus aureus*.
- e. Plate disposable merk Labware Charuze digunakan sebagai tempat media MSA.
- f. Aluminium foil digunakan untuk menutup erlenmeyer dan membungkus tabung reaksi.
- g. Reagen H₂O₂ 30% digunakan untuk uji katalase.
- h. Tabung plasma sitrat digunakan untuk menampung darah.
- i. Jarum vacutainer digunakan untuk mengambil darah.
- j. Alkohol swabs digunakan untuk mendesinfeksi kulit sebelum darah diambil.
- k. Hypafiks digunakan untuk menempelkan kapas agar tidak lepas.
- l. Kapas steril digunakan untuk menutup luka setelah pengambilan darah.
- m. Kapas lemak digunakan untuk menutup bagian atas erlenmeyer.
- n. Aquadest digunakan untuk melarutkan media.
- o. Karet atau tali digunakan untuk mengikat tabung saat di autoclave.

3. Prosedur kerja

- a. Pembuatan media Tioglikolat
 - 1) Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
 - 2) Ditimbang serbuk Tioglikolat sebanyak 5,95 gram.
 - 3) Dilarutkan dengan aquadest sebanyak 200 mL.

- 4) Dihomogenkan dan dimasukkan kedalam tiap tabung sebanyak 10 mL.
- 5) Tabung ditutup dengan kapas dan tabung dilapisi dengan aluminium foil.
- 6) Dibungkus tabung yang telah diisi dengan media menggunakan kertas buram.
- 7) Disterilisasi pada suhu 121°C selama 1 jam .
- 8) Media disimpan dalam kulkas sebelum digunakan.

b. Pembuatan media MSA

- 1) Ditimbang serbuk media MSA sebanyak 22,2 gram
- 2) Dilarutkan serbuk media menggunakan aquadest sebanyak 200 mL
- 3) Dilarutkan serbuk media dengan sempurna dengan bantuan pemanasan (tidak boleh mendidih)
- 4) Disterilisasi pada suhu 121°C selama 1 jam
- 5) Dimasukkan media kedalam petridisk steril, masing-masing petridisk diisi media sebanyak ± 20 mL
- 6) Ditunggu media hingga beku sempurna dan media dimasukkan ke inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam sebelum digunakan untuk mengetahui kualitas media. Media dapat digunakan jika tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri pada media.

c. Pengambilan sampel swab rongga mulut

- 1) Meminta responden untuk mengisi lembar persetujuan untuk menjadi responden.
- 2) Setelah setuju kemudian responden diminta untuk membuka mulutnya untuk melihat ada atau tidaknya karang gigi.
- 3) Jika ada kemudian dilakukan swab rongga mulut dengan menggunakan cotton swab steril secara menyeluruh.

- 4) Cotton swab kemudian dimasukkan kedalam media Tioglikolat (Manisha, *et al.*, 2019).
- d. Penanaman ke media pertumbuhan Tioglikolat
 - 1) Digunakan APD dengan baik dan benar.
 - 2) Hasil swab rongga mulut dimasukkan kedalam media Tioglikolat, kemudian dikeluarkan dan tutup kembali media.
 - 3) Diinkubasi selama 24 jam.
 - 4) Diamati hasil pertumbuhan bakteri yang terbentuk.
 - a) Pertumbuhan pada bagian atas media sehingga bakteri yang tumbuh yaitu bakteri aerob.
 - b) Pertumbuhan pada bagian tengah media sehingga bakteri yang tumbuh yaitu bakteri aerob fakultatif.
 - c) Pertumbuhan pada bagian bawah media sehingga bakteri yang tumbuh yaitu bakteri anaerob.
 - e. Penanaman sampel pada media MSA
 - 1) Digunakan APD dengan baik dan benar.
 - 2) Disiapkan alat dan bahan yang digunakan.
 - 3) Dilakukan desinfektan area kerja dan dihidupkan api bunsen.
 - 4) Diambil media Tioglikolat yang telah diinkubasi dan diamati pertumbuhan bakterinya.
 - 5) Difiksasi ose bulat kemudian dimasukkan kedalam media tioglikolat yang terdapat pertumbuhan bakteri aerob.
 - 6) Di tutup kembali media Tioglikolat dan dilakukan strike 4 kudran pada media MSA.

- 7) Ditutup kembali media MSA dan diberi label.
- 8) Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- 9) Dilakukan pengamatan koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh dengan melihat perubahan media MSA menjadi warna kuning. *Staphylococcus aureus* mampu memfermentasi mannitol di media MSA sehingga terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Apabila ciri-ciri bakteri yang diinginkan tumbuh, kemudian dilanjutkan dengan uji katalase dan koagulase (Kurniawan dan Sahli, 2017).

f. Uji katalase

- 1) Disiapkan alat dan bahan.
- 2) Dipanaskan ose bulat sampai membara dari ujung sampai pangkal, biarkan dingin.
- 3) Difiksasi objek glass.
- 4) Diteteskannya 1 tetes reagen H₂O₂ 30% (hidrogen peroksida 30%) pada objek glass.
- 5) Diambil 1-2 ose dari koloni tunggal yang dipilih, dicampurkan merata dengan reagen H₂O₂ 30%.
- 6) Diamati reaksi yang terjadi yaitu:
 - a) Katalase positif ditandai dengan adanya gelembung-gelembung gas.
 - b) Katalase negatif tidak adanya gelembung-gelembung gas (Kurniawan dan Sahli, 2017).

g. Uji koagulase

- 1) Disiapkan alat dan bahan.

- 2) Dipanaskan ose jarum sampai membara dari ujung sampai pangkal, dibiarkan dingin.
- 3) Fiksasi obyek glass.
- 4) Diteteskan 1 tetes plasma sitrat.
- 5) Diambil koloni bakteri yang menunjukkan katalase positif.
- 6) Dihomogenkan.
- 7) Diamati reaksi yang terjadi yaitu:
 - a) Koagulase positif ditandai dengan terbentuknya reaksi koagulasi yang ditunjukkan oleh adanya pembentukan bekuan darah atau clumping faktor berwarna putih.
 - b) Koagulase negatif ditandai dengan tidak terbentuknya reaksi koagulasi (Kurniawan dan Sahli, 2017).

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Dari hasil wawancara responden dan pemeriksaan laboratorium diperoleh data umur, jenis kelamin, kebersihan rongga mulut, dan bakteri yang teridentifikasi kemudian dikelompokkan, diolah, disajikan dalam bentuk tabel dan dibahas dalam bentuk narasi.

2. Teknik analisis data

Data persentase umur, jenis kelamin, kebersihan rongga mulut dan bakteri *Staphylococcus aureus* yang teridentifikasi dideskripsikan sesuai dengan tujuan penelitian.