BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif. Penelitian deskriptif adalah sebuah desain penelitian yang menggambarkan fenomena yang ditelitinya dan juga menggambarkan besarnya masalah yang di teliti untuk menjawab pertanyaan penelitian (Notoatmodjo, 2012). Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui keberadaan bentuk dan gram bakteri dari telapak tangan pekerja pengangkut sampah di Desa Dalung, Kecamatan Kuta Utara, Kabupaten Badung.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Desa Dalung, Kecamatan Kuta Utara, Kabupaten Badung, sedangkan tahap pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2020 sampai bulan Mei 2020.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi penelitian adalah kumpulan dari individu atau objek atau fenomena yang secara potensial dapat diukur sebagai bagian dari penelitian (Notoatmodjo, 2012). Populasi dalam penelitian iniadalah seluruh pekerja pengangkut sampah di Desa Dalung, Kecamatan Kuta Utara, Kabupaten Badung dengan jumlah sembilan orang.

2. Sampel Penelitian

Sampel adalah bagian yang terkandung dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Sugiyono, 2018). Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah swab tangan petugas pengangkut sampah di Desa Dalung, Kecamatan Kuta Utara, Kabupaten Badung.

a. Unit analisis

Unit analisis adalah suatu yang berkaitan dengan fokus atau komponen yang diteliti (Notoatmodjo, 2012). Unit analisis dalam penelitian ini adalah swab tangan yang diperoleh dari petugas pengangkut sampah di Desa Dalung, Kecamatan Kuta Utara, Kabupaten Badung.

b. Besar sampel

Berdasarkan hasil survey penulis, jumlah sampel yang didapatkan yaitu sebanyak sembilan swab tangan petugas pengangkut sampah dengan menggunakan teknik sampel jenuh (Noor, 2016).

c. Teknik pengambilan sampel

Teknik sampling merupakan suatu teknik yang digunakan pada proses pemilihan sejumlah elemen dari populasi sehingga peneliti dapat mengetahui karakteristik sampel pada elemen populasi (Sugiyono, 2014). Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik sampel jenuh. Menurut Noor (2016), teknik sampel jenuh adalah teknik penentuan sampel bila semua populasi digunakan sebagai sampel. Hal ini sering dilakukan bila jumlah populasi relatif kecil, kurang dari 30 orang atau penelitian yang ingin membuat generalisasi dengan kesalahan yang sangat kecil. Pengambilan sampel swab tangan dilakukan pada sembilan orang petugas pengangkut sampah di Desa Dalung, Kecamatan Kuta Utara, Kabupaten Badung. Pengulangan dalam penelitian ini dilakukan sebanyak dua kali.

D. Jenis, Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

1. Jenis data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer yang dikumpulkan sendiri oleh penulis secara langsung meliputi identitas responden dan hasil pemeriksaan laboratorium berupa identifikasi bentuk dan sifat gram yang ada pada swab tangan.

2. Cara Pengumpulan Data

Cara pengumpulan data yang digunakan adalah dengan cara melakukanwawancara yang dilakukan yaitu dengan memberikan pertanyaan kepada petugas pengangkut sampah di Desa Dalung, Kerobokan Kaja

mengenai identitas petugas seperti nama, umur, jenis kelamin, tingkat pendidikan dan jumlah pekerja serta lama waktu mereka bekerja selama satu hari. Melakukan pemeriksaan laboratorium sampel swab tangan dengan menggunakan media selektif dan uji pendukung pada koloni bakteri seperti uji kultur pada media MCA dan BAP serta pewarnaan gram untuk mengetahui sifat gram bakteri yang dilakukan secara bakteriologis.

3. Instrumenpengumpulan data

Instrumen yang digunakan untuk pengumpulan data pada penelitian ini adalah:

a. Alat tulis, untuk mencatat hasil pemeriksaan
b. Kamera, untuk mendokumentasikan kegiatan penelitian
c. Kuisoner
d. Alat dan bahan untuk pengambilan swab tangan dan pemeriksaan laboratorium.

E. Alat, Bahan dan Prosedur Kerja

1. Alat

a. Alat pengambilan swab tangan

Alat yang dibutuhkan adalah Tabung reaksi (*merk pyrex*) 25 ml (18 buah), *cotton steril* (18 buah), Kertas pembungkus, Kapas berlemak, Benang, Aluminium foil, dan *coolbox* (satu buah).

b. Alat pemeriksaan di laboratorium

Plate *disposable* (18 buah), Erlenmeyer (*merk pyrex)*500 ml (5 buah), Gelas ukur (*merkpyrex)*100 ml (5 buah), Pipet ukur (*merkpyrex)* 2 ml (5 buah), Pipet tetes (5 buah), Ball pipet (2 buah), Rak tabung (3 buah), Bunsen

(1 buah), Ose bulat (5 buah), Objek glass (27 buah), Neraca analitik (*merk Radwag*) (1 buah), Spatula (2 buah), Mikroskop (*merk Olympus)* (1 buah), Incubator (*merk Esco Isotherm*) (1 buah), Oven, Autoklaf (*merk Tomy ES-215*) (1 buah), *Hotplate*/kompor listrik (2 buah), jembatan pengecetan (1 buah), dan Bio Safety Cabinet (*BSC*).

2. Bahan

a. Bahan pengambilan swab tangan

Bahan yang dibutuhan adalah NaCl 0,9% dalam tabung reaksi.

b. Bahan pemeriksaan di laboratorium

Bahan yang dibutuhkan adalah akuadest steril, sampel swab tangan,bahan pewarnaan gram (lugol, safaranin, gential violet, dan alkohol 95%).

3. Media

Media yang dibutuhkan adalah media Blood Agar Plate (BAP), dan media Mac Conkey Agar (MCA) *merk oxoid*.

4. Prosedur Pemeriksaan

a. Pembuatan Media

1) Pembuatan media MCA

a) Ditimbang serbuk media MCA sebanyak 10,3 gram.

b) Dilarutkan serbuk media menggunakan *aquadest* sebanyak 400 ml.

c) Dilarutkan serbuk media dengan sempurna dengan bantuan pemanasan (tidak boleh mendidih).

d) Disterilisasi pada suhu 121ºC selama satu jam.

e) Dimasukkan media kedalam plate disposible steril, masing-masing plate diisi media sebanyak ±15 ml.

f) Ditunggu media hingga beku sempurna dan media dimasukkan ke incubator pada suhu 37 ºC. media dapat digunakan jika tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri pada media.

2) Pembuatan media BAP

a) Ditimbang serbuk media BAP sebanyak 16 gram.

b) Dilarutkan serbuk media menggunakan *aquadest* sebanyak 400 ml.

c) Dilarutkan serbuk media dengan sempurna dengan bantuan pemanasan (tidak boleh mendidih).

d) Disterilisasi pada suhu 121ºC selama satu jam.

e) Dimasukkan media kedalam plate disposible steril, masing-masing plate diisi media sebanyak ±15 ml.

f) Ditunggu media hingga beku sempurna dan media dimasukkan ke incubator pada suhu 37 ºC. media dapat digunakan jika tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri pada media.

3) Prosedur pengambilan sampel swab tangan.

a) Alat dan bahan swab tangan disiapkan.

b) Responden diminta untuk menggosokkan kedua telapak tangannya.

c) Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam larutan NaCl 0,9%.

d) Seluruh permukaan tangan responden dan sela-sela jari diusap dengan kapas lidi steril.

e) Lidi kapas steril dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9%.

f) Larutan NaCl 0,9% dimasukkan ke dalam *coolbox*.

g) Sampel diinokulasi ke dalam media pertumbuhan dengan segera.

4) Penanaman sampel (inokulasi) pada media MCA dan BAP

Inokulasi sampel ke media MSA dilakukan berdasarkan prosedur kerja dari *Journal of Visualized Experiments* oleh Erin R. Sanders (2012). Adapun prosedur kerjanya adalah sebagai berikut:

a) Alat dan bahan yang digunakan disiapkan.

b) Ose dan bibir tabung wadah sampel difiksasi dengan api Bunsen.

c) Ose bulat dimasukkan ke dalam sampel swab pada NaCl 0,9% dan ditanam pada media MCA dan BAP dengan cara digoreskan sebanyak 4 kuadran secara aseptis.

d) Sampel diinkubasi pada suhu 37^0C selama 24 jam.

e) Bentuk, warna, dan tekstur koloni yang tumbuh diiamati pada media pertumbuhan.

f) Pembuatan preparat pewarnaan gram

a) Disediakan kaca benda yang bersih, lalu lewatkan di atas nyala api lampu spiritus.

b) Diteteskan setetes *aquades* steril di atas kaca benda tersebut.

c) Secara aseptic diambillah inokulum bakteri yang akan diperiksa, lalu letakkan diatas tetesan *aquades* itu. Kemudian ratakan perlahan-lahan dan tunggulah sampai mongering.

d) Dilakukan fiksasi dengan cara melewatkan sediaan tersebut diatas nyala api lampu spiritus dengan cepat.

e) Diletakkan sediaan di atas kawat penyangga yang berada di atas mangkuk pewarna. Lalu diteteskan larutan Ammonium Oksalat Kristal Violet di atas sediaan tersebut. Ditunggu selama satu menit.

f) Dibuanglah kelebihan zat warna tersebut ke dalam mangkuk dan dibilaslah sediaan dengan air kran.

g) Diteteskan larutan lugol di atas sediaan, lalu ditunggu selama dua menit.

h) Dibuanglah kelebihan lugol kedalam mangkuk lalu dibilaslah dengan air kran.

i) Diteteskan alkohol 95% di atas sediaan, lalu dibiarkan selama 30 detik.

j) Dibuanglah sisa alkohol ke dalam mangkuk dan dibilaslah sediaan dengan air kran.

k) Diteteskan larutan safranin di atas sediaan, lalu dibiarkan selama 45 detik.

l) Dibuanglah kelebihan larutan safranin ke dalam mangkuk, lalu dibilaslah dengan air kran.

m) Dikeringkan sediaan dengan hati-hati dengan kertas penghisap, lalu diperiksalah di bawah mikroskop.

n) Jika teknik pewarnaan berhasil dengan baik, maka sel-sel bakteri yang bersifat gram positif akan berwarna ungu, sedangkan sel-sel bakteri yang bersifat gram negatif akan berwarna merah muda atau merah (Hastuti, 2015).

5. Pengolahan dan Analisa Data

1) Pengolahan data

Data yang diperoleh dari identifikasi bentuk bakteri di kelompokkan, diolah dan disajikan dalam bentuk tabel kemudian dibahas secara naratif.

2) Analisa data

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif yaitu dengan mendeskripsikansecara makroskopis dan mikrokopis. Hasil pengamatan makroskopis meliputi warna koloni, bentuk koloni dalam cawan petri, tekstur koloni dan pertumbuhan koloni dan mikroskopis yang meliputi bentuk dan warna pada koloni.