

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

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

Dalam penelitian ini, jenis penelitian yang digunakan adalah observasional laboratorik yang bersifat deskriptif untuk menggambarkan ada tidaknya bakteri *Streptococcus sp* pada sampel jerawat yang diidentifikasi.

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

##### **1. Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Mei 2023.

##### **2. Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kendari.

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

##### **1. Populasi**

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien penderita penyakit jerawat yang sedang melakukan pemeriksaan dan perawatan di Klinik Kecantikan X Kota Kendari.

##### **2. Sampel**

###### **a. Kriteria Sampel**

###### **1) Kriteria Inklusi**

Kriteria inklusi merupakan kriteria dimana subjek penelitian mewakili sampel yang memenuhi syarat. Adapun kriteria inklusi dalam penelitian ini meliputi :

- a) Pasien yang melakukan perawatan jerawat dalam kurun waktu yang tidak ditentukan.
- b) Pasien dengan jerawat yang mengandung pus (nanah)
- c) Bersedia menjadi responden dan memberikan pus (nanah) jerawatnya.

## 2) Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi merupakan kriteria dimana subjek penelitian tidak dapat mewakili sampel karena tidak memenuhi syarat sebagai sampel penelitian. Adapun kriteria eksklusi dalam penelitian ini yaitu:

- a) Responden tidak bersedia memberikan pus (nanah) jerawatnya.
- b. Besar Sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan sebanyak 5 sampel jerawat dengan teknik pengambilan sampel secara *Accidental Sampling* yaitu teknik pengambilan sampel berdasarkan jumlah kejadian yang ditemui pada saat penelitian ini dilakukan.

## D. Prosedur Pengumpulan Data

Prosedur pengumpulan data dimulai dari pengamatan (observasi), wawancara, pengumpulan jurnal, studi literatur hingga pencatatan hasil identifikasi bakteri dari pemeriksaan yang dilakukan.

## E. Prosedur Kerja

### 1. Pra analitik

#### a. Persiapan sampel

Sampel pus jerawat diambil menggunakan swab steril kemudian disimpan pada media transport swab dan dimasukkan ke dalam *coolbox*.

#### b. Persiapan alat dan bahan

##### 1. Alat yang digunakan:

- a) Gelas ukur
- b) Gelas Beaker
- c) Cawan petri
- d) Tabung Reaksi
- e) Objek Glass
- f) Timbangan Digital
- g) Mikroskop
- h) Jarum Ose

- i) Erlenmeyer
  - j) Lampu Spiritus
  - k) Inkubator
  - l) Autoclave
  - m) Oven
  - n) Batang Pengaduk
  - o) pH meter
  - p) Pipet Tetes
  - q) Jembatan Pewarnaan
2. Bahan yang digunakan:
- a) Sampel Jerawat
  - b) Media Blood Agar
  - c) Media BHIB
  - d) Media TSIA
  - e) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%
  - f) Aquadest
  - g) Kristal violet
  - h) Larutan Lugol
  - i) Safranin
  - j) Alkohol 96%
  - k) Spirtus
  - l) Oil imersi
  - m) Kertas label.

## 2. Analitik

### a. Sterilisasi alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilisasi dengan menggunakan oven pada suhu 180<sup>0</sup>C selama 1 jam.

### b. Pembuatan media

- 1) Media *Brain-heart Infusion Broth* (BHIB)

- a) Ditimbang media BHIB sebanyak 1,85 gram kemudian masukkan kedalam tabung Erlenmeyer dan tambahkan 50 ml aquades kemudian panaskan menggunakan waterbath.
  - b) Ukur pH dengan indikator 7,4.
  - c) Tuangkan pada tabung reaksi sebanyak  $\pm 5$  ml kemudian tutup menggunakan kapas.
  - d) Disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.
  - e) Setelah itu, dinginkan pada suhu ruang sebelum dimasukkan ke dalam kulkas
- 2) Media *Blood Agar Plate* (BAP)
- a) Timbang media BAP sebanyak 4,8 gram, kemudian masukkan ke dalam tabung Erlenmeyer dan tambahkan 120 ml aquades
  - b) Ukur pH dengan indikator 6,8.
  - c) Kemudian panaskan menggunakan waterbath hingga media larut dengan baik.
  - d) Lakukan sterilisasi media menggunakan autoclave pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.
  - e) Dinginkan media pada suhu  $45-50^{\circ}\text{C}$ , setelah dingin tambahkan 5% darah O kedalam tabung Erlenmeyer dengan perlahan lewat dinding tabung dan homogenkan.
  - f) Tuang media dari Erlenmeyer ke cawan petri steril dengan volume tertentu, ratakan dengan membentuk pola angka delapan secara perlahan.
  - g) Tunggu sampai media memadat dan media siap pakai.
- c. Isolasi sampel pada media *Brain-heart Infusion Broth* (BHIB). Adapun prosedur kerjanya yaitu sebagai berikut :
- 1) Siapkan alat dan bahan yang telah disterilkan terlebih dahulu.
  - 2) Sampel pus diambil dengan menggunakan swab steril dan diisolasi pada media *Brain-heart Infusion Broth* (BHIB).

- 3) Inkubasi media tersebut selama 1x24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C pada inkubator.
  - 4) Jika terjadi kekeruhan pada media maka dilanjutkan dengan isolasi pada media selektif *Blood Agar Plate* (BAP).
- d. Isolasi bakteri pada media selektif BAP. Adapun prosedur kerjanya yaitu sebagai berikut :
- 1) Bakteri yang telah tumbuh pada media BHIB, diambil menggunakan ose yang sudah difiksasi di atas api bunsen.
  - 2) Kemudian diisolasi pada media BAP dengan cara digoreskan.
  - 3) Selanjutnya media tersebut diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C di inkubator.
  - 4) Jika terdapat adanya pertumbuhan koloni maka dilanjutkan pada tahap pewarnaan gram.
- e. Identifikasi Bakteri
- 1) Pewarnaan Gram

Setelah inkubasi terbentuk koloni-koloni mikroorganisme yang berbeda jenis. Kemudian diidentifikasi dengan cara melakukan pengecatan gram.

    - a) Pijarkan kaca objek di atas api spirtus
    - b) Meneteskan NaCl pada kaca objek.
    - c) Diambil koloni pada media BAP kemudian diletakkan pada objek gelas kemudian diratakan dengan ose.
    - d) Kemudian dikeringkan dan difiksasi diatas api spirtus.
    - e) Sediaan yang telah kering difiksasi dan diletakkan diatas jembatan pewarnaan.
    - f) Cat dengan larutan karbol gentian violet selama 1 menit
    - g) Zat warna dibuang, kemudian cuci dengan air mengalir.
    - h) Genangi dengan larutan lugol selama 1 menit
    - i) Cuci dengan air
    - j) Genangi dengan alkohol 96% sampai semua zat warna hilang

- k) Sediaan dicuci dengan air mengalir
  - l) Genangi dengan larutan fuchsin selama 30 detik
  - m) Cuci dengan air dan keringkan, kemudian periksa di bawah mikroskop dengan perbesaran objektif 100x dengan menggunakan oil imersi.
- 2) Uji TSIA
- a) Pembuatan Media TSIA
    1. Timbang media sebanyak 3,2 gram kemudian masukkan kedalam gelas Erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 ml.
    2. Ukur pH dengan indikator pH  $7,4 \pm 0,2$ . Kemudian media dipanaskan hingga larut secara sempurna.
    3. Tuangkan pada tabung reaksi sebanyak  $\pm 5$  ml kemudian tutup dengan kapas.
    4. Disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.
  - b) Identifikasi dengan Uji TSIA
    1. Bakteri yang telah tumbuh pada media BAP diambil menggunakan ose jarum yang sudah difiksasi diatas api bunsen.
    2. Kemudian diisolasi pada media TSIA dengan cara menusukkan jarum inokolum pada bagian tegak media dan digoreskan pada bagian miring media.
    3. Selanjutnya, media tersebut diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  di inkubator
    4. Amati ciri-ciri koloni yang tumbuh pada media TSIA.
- 3) Uji Katalase
- a) Dengan ose jarum koloni bakteri diambil dan dicampur dengan reagen diatas kaca objek.
  - b) Satu tetes larutan  $\text{H}_2\text{O}_2$  3% (suhu reagen sama dengan suhu ruangan) diletakkan diatas kaca objek

c) Amati hasil yang akan terjadi.

### 3. Pasca Analitik

a. Media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB)

Terjadinya pertumbuhan bakteri jika terjadi kekeruhan pada media.

b. Media *Blood Agar Plate* (BAP)

Adanya pertumbuhan koloni *Streptococcus sp* yaitu berwarna putih keabu-abuan, bulat dan membentuk beta hemolitik pada media BAP.

c. Pewarnaan Gram

Pada pewarnaan gram jika merupakan bakteri gram positif, bakteri *Streptococcus sp* terlihat dibawah mikroskop dengan lapangan pandang berwarna ungu dan bentuk kokus berantai, tidak bergerak.

d. Uji Biokimia TSIA

Hasil positif bakteri hanya mefermentasikan glukosa yang ditandai dengan bagian butt (dasar) terjadi perubahan warna menjadi kuning menandakan asam sedangkan slant (lereng) berwarna merah menandakan basa, mengandung gas dan H<sub>2</sub>S yang berwarna hitam.

e. Uji Katalase

Tidak terjadinya gelembung gas pada kaca objek pada saat reagen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%.

### F. Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan sebagai penunjang dalam penelitian ini yaitu lembar observasi, dan hasil pemeriksaan.

### G. Jenis Data

a. Data primer adalah data yang diperoleh secara langsung dari lapangan melalui instrumen pengumpulan data yang digunakan berkaitan dengan objek yang diteliti.

b. Data sekunder adalah data dikumpulkan dari hasil penelitian terdahulu berupa jurnal maupun dari buku-buku yang dipublikasikan kemudian dijadikan landasan teoritis.

## H. Pengolahan Data

Proses pengolahan data yang dilakukan pada penelitian ini adalah data yang telah didapatkan dari pemeriksaan bakteri *Streptococcus sp* pada sampel jerawat yang dilakukan dan hasil yang diinterpretasikan dalam bentuk tabel agar mudah dipahami.

## I. Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan cara deskriptif observasional. Analisis data merupakan analisis yang digunakan untuk menganalisa data dengan menggambarkan data yang telah ada dikumpulkan tanpa ada maksud generalisasi dari hasil penelitian. Analisis deskriptif observasional dilakukan dengan melihat ada tidaknya bakteri *Streptococcus sp*. pada sampel jerawat yang diperiksa.

## J. Penyajian Data

Penyajian data yang dilakukan pada penelitian ini yaitu data yang didapatkan dari hasil penelitian yang disajikan dalam bentuk tabel dan dijabarkan dalam bentuk narasi.

## K. Etika Penelitian

Ketika akan melakukan penelitian, penelitian memandang perlu adanya rekomendasi dari pihak atas, pihak lain dengan mengajukan permohonan izin kepada instansi tempat penelitian. Setelah mendapat persetujuan barulah dilakukan penelitian dengan menekankan masalah etika penelitian yang meliputi :

1. *Anomaly* untuk menjaga kerahasiaan peneliti tidak akan mencantumkan nama responden, tetapi lembar tersebut diberikan kode.
2. *Confidentiality* kerahasiaan informasi responden dijamin oleh peneliti dan hanya kelompok data tertentu yang akan dilaporkan.