

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *Observasional Laboratorik* yang bersifat *Deskriptif* yaitu dengan menggambarkan atau mendeskripsikan suatu kejadian yang terjadi di suatu populasi tersebut secara nyata. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan identifikasi bakteri *Staphylococcus sp* pada individu dengan jerawat.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kendari.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan april-juni tahun 2023.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien penderita jerawat yang sedang melakukan pemeriksaan dan perawatan di Klinik Kecantikan X dalam periode 1 (satu) minggu.

2. Sampel

Pada penelitian ini sampel uji yang digunakan adalah pasien penderita jerawat yang sedang melakukan perawatan di Klinik Kecantikan X.

a. Kriteria Sampel

1. Kriteria inklusi

- Sampel pus (nanah) jerawat pada individu yang menderita jerawat.
- Bersedia menjadi responden dan memberikan pus (nanah) jerawatnya
- Kriteria eksklusi Individu yang sudah dalam proses pengobatan tahap akhir.

b. Besar Sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan sebanyak 5 sampel jerawat dengan Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *non probability sampling* berupa *accidental sampling* yaitu suatu metode penentuan sampel dengan mengambil responden yang kebetulan ada atau tersedia di suatu tempat sesuai dengan konteks penelitian. Subjek yang diambil sampelnya dalam penelitian adalah subjek yang di temui atau kebetulan ada berkunjung di Klinik.

D. Pengumpulan Data

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

E. Prosedur Kerja

1. Pra Analitik

Alat, Bahan dan Reagen

a) Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- 1) Autoclave
- 2) Oven
- 3) Bunsen/kaki tiga
- 4) Gelas ukur
- 5) Cawan petri
- 6) Cawan porselin
- 7) Tabung reaksi
- 8) Pipet tetes
- 9) Pengaduk spatula
- 10) Bunsen
- 11) Korek api
- 12) Wadah spirtus
- 13) Kasa abses
- 14) Erlenmeyer
- 15) Neraca TBB

- 16) Kapas steril
 - 17) Box Styrofoam
 - 18) pH meter/kertas Ph
- b) Bahan dan reagen penelitian
- 1) Bahan uji pus (nanah) jerawat
 - 2) *Media Blood agar plate (BAP)*
 - 3) *Aquades steril*
 - 4) Pewarna gram (*kristal violet*)
 - 5) Swab steril
 - 6) Larutan lugol
 - 7) Alkohol 95 %
 - 8) *carbol fuchsin*
 - 9) Oil imersi
 - 10) Kaca objek
 - 11) Label dan spidol
 - 12) *Media TSIA (Triple Sugar Iron Agar)*
 - 13) *Media BHIB*
 - 14) Darah O
 - 15) Reagen (H₂O₂) 3%

2. Analitik

Prosedur Persiapan

- 1) Sterilisasi Alat
 - a. Peralatan yang akan digunakan dicuci hingga bersih, kemudian dikeringkan.
 - b. Bungkus dengan kertas setiap peralatan.
 - c. Lalu sterilisasi menggunakan oven pada suhu 180⁰C dalam waktu 1 jam.
- 2) Preparasi sampel

Sampel pus jerawat diambil menggunakan Swab Steril yang akan di lakukan oleh dokter Klinik kecantikan X Kendari, kemudia disimpan pada media transport. Selanjutnya dibawa keruangan

Laboratoeium Mikrobiologi D-III Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Kendari untuk penelitian selanjutnya.

- 3) Pembuatan media BHIB (*Brain-heart Infosion Broth*)
 - a. Siapkan alat dan bahan yang sudah sterilkan
 - b. Timbang media BHIB (*Brain-heart Infosion Broth*) sebanyak 2,59gram kemudian masukkan kedalam tabung erlenmeyer berisi 70 ml aquades dan larutkan (di buat sesuai kebutuhan), kemudian panaskan dengan menggunakan waterbath.
 - c. Ukur pH dengan indikator pH $7,4 \pm 0,2$
 - d. Tuang pada tabung reaksi sebanyak ± 5 ml kemudian tutup tabung reaksi menggunakan kapas dan diberi label.
 - e. Disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 4) Pembuatan media BAP (*Blood agar plate*)
 - a. Siapkan alat dan bahan yang sudah sterilkan
 - b. Timbang media BAP (*Blood agar plate*) sebanyak 8,8 gram kemudian masukksan kedalam tabung Erlenmeyer berisi 220 ml aquades. Kemudian panaskan dengan menggunakan waterbath.
 - c. Ukur pH dengan inkubator $6,8 \pm 0,2$. Setelah diukur tutup Erlenmeyer menggunakan kapas.
 - d. Lakukan sterilisasi menggunakan autoclave pada tekanan 1,5 lb atau 2 atm pada suhu 121°C selama 15 menit.
 - e. didinginkan pada suhu $45-50^{\circ}\text{C}$. kemudian tambahkan 5% darah kedalam tabung Erlenmeyer dengan perlahan lewat dindingnya dan homogenkan.
 - f. Tuang media dari Erlenmeyer ke cawan petri steril dengan volume tertentu , ratakan membentuk pola angka delapan secara perlahan.
 - g. Tunggu sampai media memadat dan siap di gunakan.

5) Isolasi kultur pus (nanah) dari jerawat

a. Inokulasi 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°C pada inkubator.
4. Jika terjadi kekeruhan pada media maka dilanjutkan dengan isolasi pada media selektif Blood Agar Plate (BAP).

b. Inokulasi 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°C di inkubator.
4. Amati ciri-ciri koloni yang tumbuh pada media BAP, jika tidak ada pertumbuhan koloni pada media maka tidak dilanjutkan pada tahap pewarnaan gram.

6) Identifikasi bakteri

Identifikasi koloni secara makroskopis dilihat berdasarkan warna koloni, bentuk koloni dan tepian koloni.

a. Prosedur pewarnaan gram

1. Siapkan kultur murni bakteri yang akan diwarnai
2. Sediakan kaca preparat ambil 1 ulasan jarum ose kultur bakteri pada permukaan kaca preparate
3. kemudian teteskan NaCL dan ratakan dengan menggunakan jarum ose.

4. Fiksasi preparat dengan cara melewatkan kaca preparat di atas api Bunsen sebanyak 3 kali
 5. Sediaan yang telah kering di fiksasi diletakkan di atas jembatan pewarnaan
 6. Cat dengan larutan karbol gentian violet selama 1 menit
 7. Zat warna di buang, cuci dengan air mengalir
 8. Genangi dengan larutan lugol selama 1 menit
 9. Cuci dengan air
 10. Genangi dengan alcohol 96% sampai semua zat warna hilang
 11. Sediaan di cuci dengan air mengalir
 12. Genangi dengan larutan fuchsin selama 30 detik
 13. Cuci dengan air, keringkan kemudia di periksa di bawah mikroskop dengan pembesaran objektif $100\times$ dengan menggunakan oil imersi.
- b. Prosedur uji biokimia (TSIA)
- 1) Prosedur pembuatan TSIA
 1. Siapkan alat dan bahan yang sudah sterilkan
 2. Timbang media TSIA sebanyak 4,48 gram kemudian masukkan kedalam tabung erlenmeyer berisi 70 ml aquades dan panaskan pada suhu 80°C hingga mendidih menggunakan waterbath (di buat sesuai kebutuhan).
 3. Ukur pH dengan indikator pH $7,4 \pm 0,2$
 4. Tuang pada tabung reaksi sebanyak ± 5 ml kemudian tutup tabung reaksi menggunakan kapas dan diberi label.
 5. Disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
 6. Setelah di sterilisasi dan medium masih bersifat cair, tabung reaksi di miringkan hingga 45°C atau lebih dan sisakan untuk bagian tegak.
 7. Tunggu media memadat dan siap di gunakan

2) Inokulasi pada uji biokimia TSIA, adapun prosedur kerjanya yaitu:

1. Bakteri yang telah tumbuh pada media BAP, diambil menggunakan ose yang sudah difiksasi di atas api bunsen.
2. Kemudian diisolasi pada media TSIA dengan cara menusukkan jarum inokulum pada bagian tegak media dan digoreskan pada bagian miring media.
3. Selanjutnya media tersebut diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C di inkubator.
4. Amati ciri-ciri koloni yang tumbuh pada media TSIA

c. Uji Katalase

1. Satu tetes larutan H₂O₂ 3% (suhu reagen sama dengan suhu ruangan) diletakkan di atas kaca objek.
2. Dengan ose jarum koloni bakteri diambil dan dicampurkan dengan reagen di atas kaca objek.
3. Amati hasil yang akan terjadi

3. Pasca analitik

- a. Pada media BHIB yaitu apabila terjadi kekeruhan pada media berarti positif (ada bakteri), dan apabila tidak terjadi kekeruhan pada media berarti negative (tidak ada bakteri).
- b. Koloni bakteri *Staphylococcus sp* pada media BAP yaitu koloni bulat smooth berwarna putih kekuningan berdiameter 0,5-1,0 mm dengan bentuk sedikit cembung jernih dan membentuk zona hemolisa.
- c. Bakteri pada pewarnaan gram:
Gram Positif : Memiliki bentuk coccus berwarna ungu
- d. Pada uji biokimia TSIA yaitu : Hasil positif bakteri mefermentasikan glukosa, sukrosa dan laktosa yang ditandai dengan bagian butt (dasar) terjadi perubahan warna menjadi kuning (acid) menandakan asam dan slant (lereng) berwarna kuning (acid) menandakan asam,

tidak mengandung gas dan tidak mengandung H₂S yang berwarna hitam.

- e. Pada uji katalase : hasil positif jika terjadi gelembung gas pada kaca objek pada saat reagen H₂O₂ 3%

F. Instrumen penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan dalam penelitian yaitu *Informed Consent* (lembar persetujuan) dan kuesioner.

G. Jenis Data

1. Data Primer

Data primer adalah nama, tanggal lahir, jenis kelamin, nomor telepon, waktu pertama kali menderita jerawat. Data yang diperoleh langsung dari tempat penelitian.

2. Data Sekunder

Data Sekunder diperoleh dari berbagai jurnal penelitian yang berhubungan dengan bakteri pada jerawat dan berbagai buku literatur tentang bakteri yang berada pada kulit

H. Pengolahan Data

Setelah data terkumpul melalui proses diatas, guna memudahkan penelitian maka dilanjutkan pada proses pengolahan data dengan langkah seperti berikut:

- a. Coding ialah suatu kegiatan pengubahan data ke bentuk kalimat atau huruf menjadi data atau angka dan bilangan.
- b. Tabulating adalah membuat tabel data yang sesuai dengan tujuan penelitian, digunakan agar mempermudah proses analisa hasil. Dalam penelitian ini hasil data disajikan dalam bentuk tabel yang akan disesuaikan dengan variabel yang dipilih, sehingga dapat dianalisis sampel pus (nanah) mana yang teridentifikasi bakteri *Staphylococcus sp* pada jerawat menahun.

I. Analisis Data

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan analisis *Deskriptif Observasional*. Analisis data merupakan analisis yang dipakai untuk menganalisis data dengan menggambarkan data yang telah ada dikumpulkan seadanya tanpa ada maksud membuat *generalisasi* dan hasil penelitian. Dimana analisis *Deskriptif Observasional* dilakukan dengan melihat ada tidaknya bakteri *Staphylococcus sp* pada jerawat menahun, kemudian menentukan jenis spesies yang ada pada sampel tersebut.

J. Penyajian Data

Penelitian yang dilakukan ini hasil akhir atau datanya akan dipaparkan dalam bentuk tabel sehingga bisa memberikan kemudahan dalam menganalisa ada atau tidak adanya bakteri *Staphylococcus sp* pada individu dengan jerawat menahun.

K. Etika Penelitian

Dalam penelitian ini terdapat beberapa etika penelitian yang harus diterapkan, antara lain:

1. *Anonymity* (Tanpa nama)

Untuk menjaga kerahasiaan, peneliti tidak akan mencantumkan nama pasien atau responden yang bersedia memberikan sampel tapi akan memberikan kode.

2. *Confidentiality* (Kerahasiaan)

Kerahasiaan informasi dijamin peneliti serta hanya kelompok data tertentu yang akan dilaporkan sebagai hasil penelitian.