

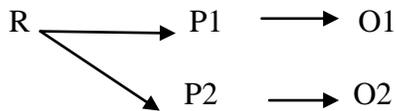
BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang di gunakan adalah eksperimental yaitu untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan kuman *Escherichia coli* pada media nutrient agar dengan menggunakan bahan *beef ekstrak* dan ekstrak ikan gabus.

Rancangan penelitian



(Notoadmojo, 2005)

Keterangan:

R : Randomisasi (pengambilan secara acak)

P1 : Pembuatan media nutrient agar dengan menggunakan bahan *beef ekstrak*

P2 : Pembuatan media nutrient agar dengan menggunakan bahan ekstrak ikan gabus

O1 : Pertumbuhan kuman pada nutrient agar dengan menggunakan bahan *beef ekstrak*

O2 : Pertumbuhan kuman pada nutrient agar dengan menggunakan bahan ekstrak ikan gabus.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah biakan murni bakteri *Escherichia coli* yang dibeli dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK).

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini. biakan murni bakteri *Escherichia coli* yang dibeli dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK). Dalam penelitian ini ada 16 kali pengulangan berdasarkan rumus:

$$(n-1)(k-1) \geq 15$$

$$(n-1)(2-1) \geq 15$$

$$(n-1)(1) \geq 15$$

$$1n - 1 \geq 15$$

$$1n \geq 15 + 1$$

$$n \geq 16$$

$$n \geq 16 \text{ (Sudjana, 1986 dalam Eryanti, 2012)}$$

Keterangan :

n : banyaknya pengulangan dari setiap perlakuan

k : jumlah dari setiap perlakuan

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Analisis Kesehatan Fakultas Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya jln.Sutorejo No.59.

3.3.2 Waktu penelitian

Waktu penelitian di laksanakan pada bulan November 2014 sampai Juli 2015. Sedangkan waktu pemeriksaan dilaksanakan pada bulan Februari 2015.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas : Media nutrient agar dengan menggunakan bahan *beef ekstrak* dan ekstrak ikan gabus

Variabel terikat : Pertumbuhan *Escherichia coli*

Variabel kontrol : Berat bahan media, suhu inkubasi, lama inkubasi

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

- a. *Beef ekstrak* adalah media *beef ekstrak* jadi dengan komposisi ekstrak daging yang di gunakan dalam pembuatan nutrient agar yang akan di tanami *Escherichia coli*
- b. Ekstrak ikan gabus adalah ekstrak dari daging ikan gabus yang di gunakan dalam pembuatan nutrient agar yang akan di tanami *Escherichia coli*
- c. Pertumbuhan kuman *Escherichia coli* adalah jumlah dan diameter koloni kuman pada media nutrient agar dengan menggunakan bahan *beef ekstrak* dan ekstrak ikan gabus yang diukur dengan menggunakan penggaris dalam satuan cm.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Data perbedaan pertumbuhan kuman *Escherichia coli* dikumpulkan dengan cara mengamati jumlah dan diameter koloni kuman yang tumbuh pada media nutrient agar dengan menggunakan bahan *beef ekstrak* dan ekstrak ikan gabus.

3.5.1 Langkah – Langkah Pengumpulan Data

3.5.1.1 Pembuatan Ekstrak

1. Pembuatan *Beef Ekstrak*

- a. Dibersihkan 0,5 kg daging dari lemak dan seratnya kemudian giling
- b. Ditambahkan aquadest sebanyak 1000 ml
- c. Simpan di freezer kulkas selama 24 jam
- d. Kemudian direbus sampai mendidih selama 30 menit
- e. Saring dengan menggunakan kapas yang di bungkus dengan kasa
- f. Jika hasilnya kurang dari 1000 ml maka tambahkan aquadest lagi sampai jumlah hasilnya 1000 ml
- g. Kemudian uapkan sampai menjadi pasta.

(Soewarsono, 1996).

2. Pembuatan Ekstrak Ikan Gabus

- a. Ikan gabus dibersihkan dari sisiknya kemudian kepala dan ekor ikan di buang
- b. Kemudian kotoran dan lemak ikan gabus di buang dan cuci bersih dengan air mengalir
- c. Kemudian ikan gabus di belah-belah menjadi beberapa bagian
- d. Kemudian siapkan alat pengekstrak dan pasang termometer
- e. Jika suhu termometer sudah 80 °C masukan daging ikan gabus
- f. Selanjutnya akan keluar cairan ekstrak ikan gabus.

(RSAL dr.Ramelan Sby, 2015)

3.5.1.2 Pembuatan Media Nutrient Agar :

1. Pembuatan Media Nutrient Agar dengan Menggunakan Bahan *Beef Ekstrak*

Alat : gelas arloji, batang pengaduk, erlemeyer, petridisk, bunsen, autoclave

Bahan : *Beef ekstrak*, pepton, agar, aquadest, dan aquadest

Prosedur :

- a. Ditimbang *beef ekstrak* sebanyak 3 gr
- b. Ditimbang pepton sebanyak 5 gr
- c. Kemudian di campur *beef ekstrak* dan pepton dan larutkan dengan aquadest 500 ml
- d. Ditimbang agar sebanyak 15 gr dan di larutkan dengan aquadest 500 ml
- e. Jika *beef ekstrak* dan pepton sudah larut tuang ke erlemeyer agar, kemudian campur dan panaskan di atas hot plate
- f. Kemudian pH dengan menggunakan kertas pH indikator, jika pH media belum 7,4 tambahkan HCL 0,1 N atau NaOH 0,1 N
- g. Kemudian media di masukan ke autoclave selama 15 menit dengan suhu 121 °C dengan tekanan 1-2 atm
- h. Kemudian di tuang ke petridisk 15 ml.

(Mikrobiologi kedokteran dasar, 1998)

2. Pembuatan Media Nutrient Agar dengan Menggunakan Bahan Ekstrak Ikan Gabus

Alat : gelas arloji, batang pengaduk, erlemeyer, petridisk, bunsen, autoclave

Bahan : Ekstrak ikan gabus, peptone, agar, aquades

Prosedur :

- a. Ditimbang ekstrak ikan gabus sebanyak 3 gr
- b. Ditimbang pepton sebanyak 5 gr
- c. Kemudian di campur ekstrak ikan gabus dan pepton dan di larutkan dengan aquadest 500 ml
- d. Ditimbang agar sebanyak 15 gr dan di larutkan dengan aquadest 500 ml
- e. Jika ekstrak ikan gabus dan pepton sudah larut tuang ke erlemeyer agar kemudian campur dan panaskan di atas hot plate
- f. Kemudian pH dengan menggunakan kertas pH indikator, jika pH media belum 7,4 tambahkan HCL 0,1 N atau NaOH 0,1 N
- g. Kemudian media di masukan ke autoclave selama 15 menit dengan suhu 121 °C dengan tekanan 1-2 atm
- h. Kemudian di tuang ke petridisk 15 ml.

(Mikrobiologi kedokteran dasar, 1998)

3.5.1.3 Penanaman Kuman pada Media Nutrien Agar

1. Penanaman kuman pada Media Nutrient Agar dengan Menggunakan Bahan *Beef Ekstrak*

Alat : Ose bulat, kapas lidi steril, pipet ukur steril

Bahan : Media nutrient agar, biakan murni kuman *Escherichia coli*

Prosedur :

- a. Biakan murni kuman *Escherichia coli* di encerkan terlebih dahulu dengan metode Mc.Farland I.

- b. Disiapkan media nutrient agar dengan menggunakan bahan *beef ekstrak*
- c. Kemudian pipet 1 ml biakan kuman murni yang telah diencerkan dan letakan di media nutrient agar
- d. Digoreskan kuman secara merata dengan menggunakan kapas lidi steril
- e. Dipanaskan kapas lidi supaya steril dan kemudian kapas lidi di buang
- f. Kemudian media nutrient agar di inkubasi dalam alat inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C.

(Dinkes, 1970)

2. Penanaman Kuman pada Media Nutrient Agar dengan Menggunakan

Bahan Ekstrak Ikan Gabus

Alat : Ose bulat, Bunsen

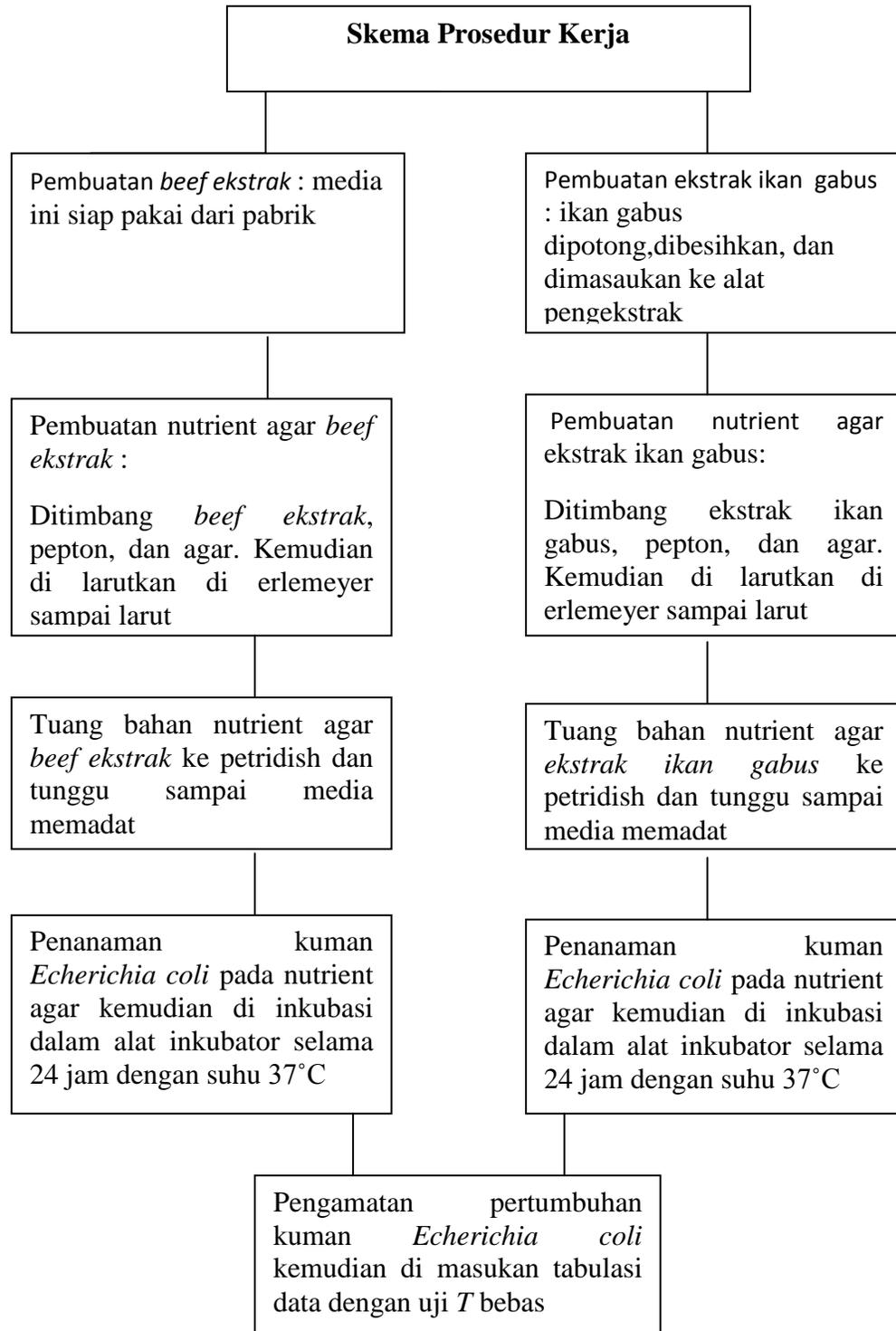
Bahan : Media nutrient agar, biakan murni kuman *Escherichia coli*

Prosedur :

- a. Biakan murni kuman *Escherichia coli* di encerkan terlebih dahulu dengan metode Mc.Farland 1
- b. Disiapkan media nutrient agar dengan menggunakan bahan *ekstrak ikan gabus*
- c. Kemudian pipet 1 ml biakan kuman murni yang telah diencerkan dan letakan di media nutrient agar
- d. Digoreskan kuman secara merata dengan menggunakan kapas lidi steril.

- e. Dipanaskan kapas lidi supaya steril dan kemudian kapas lidi di buang
- f. Kemudian media nutrient agar di inkubasi dalam alat inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C (Dinkes, 1970).

3.6 Skema Prosedur Penanaman Kuman *Escherichia coli* pada Media Nutrient Agar dengan Menggunakan Bahan *Beef Ekstrak* dan Ekstrak Ikan Gabus



3.7 Metode Analisa Data

Untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan kuman *Escherichia coli* pada media nutrient agar dengan menggunakan bahan *beef ekstrak* dan ekstrak ikan gabus dengan uji *T* yaitu untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pertumbuhan kuman *Escherichia coli* yang di tanam pada media nutrient agar dengan menggunakan bahan *beef ekstrak* dan ekstrak ikan gabus.

Tabel 3.1 Hasil Pengamatan Perbedaan Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Pada Media Nutrient Agar dengan Menggunakan Bahan *Beef Ekstrak* dan Ekstrak Ikan Gabus

Pengulangan	<i>Beef Ekstrak</i>		Ekstrak Ikan Gabus	
	Diameter koloni	Jumlah koloni	Diameter koloni	Jumlah koloni
1				
2				
3				

Tabel 3.2 Hasil perhitungan Bakteri *Escherichia coli* pada Media Nutrient Agar dengan Menggunakan Bahan *Beef Ekstrak* dan Ekstrak Ikan Gabus

Pengulangan	<i>Beef Ekstrak</i> (diameter koloni x jumlah koloni)	Ekstrak Ikan Gabus (diameter koloni x jumlah koloni)
1		
2		
3		
Jumlah		
Rata-rata		

