

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah deskriptif yaitu mencari gambaran tentang ada tidaknya bakteri *Pseudomonas* sp. pada berbagai merk rokok yang dijual di Pasar Mulyosari Surabaya.

3.2 Populasi, Sampel, dan Sampling Penelitian

3.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah berbagai merk rokok yang diambil dari penjual rokok yang ada di Pasar Mulyosari Surabaya.

3.2.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah rokok yang diambil sebanyak 30 sampel merk rokok dari penjual rokok di Pasar Mulyosari Surabaya.

3.2.3 Sampling Penelitian

Teknik sampling dalam penelitian ini adalah Non random

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2016, sampai dengan bulan Juli 2017, sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan bulan April 2017. Tempat pengambilan sampel dilakukan di penjual rokok yang ada di Pasar Mulyosari

Surabaya. Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.4 Variabel Penelitian dan Defisiensi Operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas* sp. pada berbagai merk rokok

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

Bakteri *Pseudomonas* sp. dalam penelitian ini ditetapkan ada dan tidaknya bakteri *Pseudomonas* sp. pada berbagai merk rokok yang ada di Pasar Mulyosari Surabaya.

Variabelnya dibedakan menjadi :

1. Positif, (+) : apabila sampel hasil pemeriksaan mengandung bakteri *Pseudomonas* sp.
2. Negative, (-) : apabila sampel hasil pemeriksaan tidak mengandung bakteri *Pseudomonas* sp.

3.5 Metode Pengumpulan Data dan Analisis Data

3.5.1 Metode Pengumpulan Data

Data tentang bakteri *Pseudomonas* sp. pada berbagai merk rokok yang dijual di Pasar Mulyosari Surabaya diperoleh melalui observasi langsung. Cara atau metode yang digunakan untuk memperoleh data pemeriksaan bakteri *Pseudomonas* sp. pada berbagai merk rokok adalah melalui uji laboratorium.

3.5.2 Metode Analisis

Penelitian ini menggunakan metode biokimia reaksi.

3.5.3 Prinsip Pemeriksaan

Menentukan spesies kuman yang tidak diketahui sebelumnya. Setiap kuman memiliki sifat biokimia yang berbeda sehingga tahapan uji biokimia sangat membantu proses identifikasi. Setelah sampel diinokulasikan pada media differensial atau selektif, kemudian koloni kuman diinokulasi pada media uji biokimia. Ada 12 jenis uji yang digunakan menentukan spesies kuman.

Mikroorganisme dapat tumbuh pada beberapa tipe media yang memproduksi tipe metabolis yang dapat tumbuh dengan reaksi antara mikroorganisme dengan reagen test yang dapat menghasilkan perubahan warna reagen (Cowan, 2004).

3.5.4 Alat dan Bahan

1. Mikroskop
2. Timbangan analitik
3. Tabung reaksi
4. Gelas ukur 500 ml
5. Beaker glass
6. Plate
7. Ose bulat atau jarum
8. Jembatan pewarnaan
9. Bunsen
10. Corong
11. Pipet pastur

12. Kantong plastik
13. Objek glass
14. Kertas label
15. Tissue atau kapas
16. Kasa
17. Petridish
18. Inkubator
19. Kertas pH
20. Reagensia : Reagen Kovack
KOH 49 %
Alfa Naftol 5 %
Indicator Mr
Kristal violet
Lugol
Alkohol
Air fuchsia
21. Media : *Mac Monkey Agar (MCA)*
Bouillon
Pz steril
Gula- gula : glukosa, laktosa, sukrosa, maltose, maonosa.
Indol
Methyl Red (MR)
Voges proskauer (VP)
Citrate

Urea

Semi solid

Triple sugar Iron Agar (TSIA)

22. Bahan : rokok

3.5.5 Cara Kerja

- a. Timbang sebanyak 1 gram dari masing- masing sampel .
- b. Kemudian diencerkan dengan menggunakan boillon yang telah di encerkan sebanyak 9 ml.
- c. Setiap sampel pengenceran diambil 0,1 ml.
- d. Kemudian dikultur pada media biakan agar selektif bakteri gram negative (*Mac Conkey Agar*).
- e. Di inkubasi selama 24 – 48 jam dalam suhu 30-25°C.
- f. Ambil koloni pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) kemudian diamati dengan melakukan pewarnaan gram dan kemudian diamati di mikroskop.

Cara pewarnaan gram :

1. Siapkan semua alat yang akan digunakan.
2. Letakkan objek glass diatas meja dan di steril.
3. Steril ose atau flaming diatas api bunsen sampai membara dan tunggu sampai dingin.
4. Ambil pz steril dengan ose bulat.
5. Ambil kuman dimedia pada dengan ose steril.
6. Ratakan kuman dengan pz dan tunggu hingga kering.
7. Fiksasi sediaan sebanyak 3 kali.

8. Taruh sediaan diatas jembatan pewarnaan dan genangi sediaan dengan carbon gentin violet 0,5 % biarkan selama 1 menit dan bilas dengan air yang mengalir secara pelan – pelan.
 9. Tuang lugol dan biarkan selama 1 menit, buang cat.
 10. Genangi dengan alkohol 70 % atau 96 % dan biarkan selama 10 – 30 detik, lalu bilas dengan air.
 11. Tuang dengan air fuchsin 0,5 % selama 1 menit, kemudian bilas dengan air mengalir secara pelan-pelan lalu keringkan.
 12. Amati di mikroskop dengan pembesaran 100x dan diberi oil imersi diatas sediaan dan lensa okuler sebesar 10x.
- g. Di hari kedua dilakukan penanaman kuman pada media gula-gula, *Voges Proskauer*(VP) atau *Methyl Red*(MR), indol, *Citrate*, urea, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dan motil atau semi solid.
1. Dengan ose bulat : ambil koloni kuman pada media *Mac Conkey Agar* secara Steril.
 2. Celupkan 2-3 kali kedalam media gula-gula, *Voges proskauer*, *Methyl Red*, air pepton.
 3. Dan gores pada media urea dan *Citrate*.
 4. Dengan ose jarum, ambil koloni kuman yang sama pada media *Mac Conkey Agar* secara steril
 5. Tusukan pada media semi solid dan *Triple Sugar Iron Agar*
 6. Inkubasi semua media 24 jam dengan suhu 37 C°.

- h. Di hari ke tiga dilakukan pengamatan pada media *Voges proskauer*, *MethylRed*, gula-gula, urea, air pepton, *Citrate*, semi solid, *Triple Sugar Iron Agar*.
- i. Lakukan tes kovack, indol, dan indikator *Methyl Red*.
- j. Amati dan catat hasil pengamatannya.

3.5.6 Interpretasi Hasil

- a. Sampel dinyatakan positif, (+) : apabila sampel rokok hasil pemeriksaan mengandung bakteri *Pseudomonas sp.*
- b. Sampel dinyatakan negative, (-) : apabila sampel rokok hasil pemeriksaan tidak mengandung bakteri *Pseudomonas sp.*

3.6 Tabulasi Hasil

Hasil pengamatan selanjutnya ditabulasi kedalam bentuk tabel berikut :

Tabel 3.1 Contoh Tabulasi Data Hasil Pemeriksaan Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas sp.* Pada Berbagai Merk Rokok.

No.	Kode Sampel	Hasil Identifikasi Bakteri <i>Pseudomonas sp.</i>	
		Positif (+)	Negative(-)
1.			
2.			
3.			
.....			
30.			

Keterangan :

- a. Tanda Positif, (+) : Menunjukkan bahwa rokok mengandung bakteri *Pseudomonas Sp.*
- b. Tanda negatif,(-) : Menunjukkan bahwa rokok tidak mengandung bakteri *Pseudomonas Sp.*

3.7 Metode Analisis Data

Data yang telah diperoleh dari hasil penelitian dikelompokkan dan dianalisa kemudian data tersebut ditabulasikan secara deskriptif dengan cara menghitung persentase positif (+) atau negative(-) bakteri *Pseudomonas* sp.. pada berbagai merk rokok.