

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis Penelitian yang digunakan adalah deskriptif, yaitu mencari gambaran kandungan *Staphylococcus aureus* pada Rumpun laut yang di jual di Pasar wilayah Surabaya Timur.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah rumput laut yang dijual di Pasar wilayah Surabaya Timur. Sampel penelitian adalah rumput laut yang di ambil di beberapa pasar di wilayah Surabaya Timur sebanyak ± 30 sampel.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Lokasi pengambilan sampel dilakukan di pasar di Wilayah Surabaya Timur. Sedangkan lokasi pemeriksaan sampel penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan November sampai dengan bulan Juli 2015, sedangkan waktu pemeriksaan pelaksanaan pada bulan April 2015.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

Kandungan *Staphylococcus aureus* pada Rumput laut.

3.4.2 Definisi Operasional

Kandungan kuman *Staphylococcus aureus* adalah di tetapkan berdasarkan ada tidaknya kuman *Staphylococcus aureus* pada Rumput laut melalui pemeriksaan laboratorium yang dibedakan menjadi :

Positif, (+) : terdapat kuman *Staphylococcus aureus*

Negatif, (-) : tidak terdapat kuman *Staphylococcus aureus*

3.5 Metode Pengumpulan Data

Data tentang kandungan kuman *Staphylococcus aureus* pada Rumput laut diperoleh melalui observasi uji laboratorium dengan tahapan – tahapan sebagai berikut:

3.5.1 Persiapan sampel atau sampel uji (Rumput laut)

1. Bahan : Rumput Laut
2. Alat : kantong plastik

3.5.2 Alat dan Reagensia

3.5.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam pemeriksaan ini adalah:

1. Mikroskop
2. Autoclave
3. Blender
4. Lampu spirtus

5. Neraca analitik
6. Cawan petri
7. Objek glass
8. Pengaduk
9. Osebulat
10. Pinset
11. Pipetukur
12. Pipet volume
13. Pipet pastuer

3.5.2.2 Reagensia

Reagen yang digunakan dalam pemeriksaan ini adalah:

1. NaCl Fisiologis
2. H₂O₂ 3%
3. Plasma citrat
4. NaCl
5. Media *Blood Agar Plate* (BAP)
6. Media *Brain Hearth Infution* (BHI)
7. Media *Manitol Salt Agar* (MSA)
8. Pewarnaan Kristal violet
9. Lugol
10. Alcohol
11. Safranin

3.5.3 Prosedur Kerja

3.5.3.1 Hari Pertama

A. Sterilisasi Alat

Alat yang akan dipakai dalam pengujian ini harus disterilkan terlebih dahulu, yaitu pertama-tama dengan mencuci alat sampai bersih kemudian ditiriskan sampai kering lalu dibungkus dengan kertas dan disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah ini disterilkan lalu disimpan dalam oven pada suhu 120 - 160°C selama 1 - 2 jam. (M.Siti, 2006)

B. Persiapan Membuat Media

1. Media *Brain Heart Infusion* (BHI)

Caranya : ditimbang stok sesuai kebutuhan kemudian ditambahkan aquades lalu dididihkan, didistribusikan ke dalam tabung masing-masing ± 6 ml dan disterilkan ke dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm.

2. Media *Blood Agar Plate* (BAP)

Caranya : ditimbang stok sesuai kebutuhan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan air dan dipanaskan sampai mendidih kemudian mulut tabung disumbat dengan kapas, lalu ditutup dengan Koran/kertas disterilkan ke dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah keluar dari autoclave dibiarkan dingin ± 5 – 8% kemudian dituang ke dalam cawan petri masing-masing + 20 ml kemudian dibiarkan dingin.

3. Media *Manitol Salt Agar* (MSA)

Caranya : Pepton, NaCl, Agar-agar dan aquades dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dipanaskan sampai homogen kemudian ditambah indikator Phenol Red dan KOH, mulut Erlenmeyer disumbat dengan kapas dan bungkus dengan kertas, di

autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1-2 atm. Setelah keluar dari autoclave dituang kedalam cawan petri masing-masing 20 ml.

4 H₂O₂ 3%

Caranya : H₂O₂ 3 ml ditambahkan 100 ml aquades, campur kemudian dimasukkan ke dalam botol coklat.

5 Plasma Citrat

Caranya : Citrat 0,5 ml ditambahkan 4,5 ml darah (1:9) kemudian dicentrifuge 2000 rpm selama 15 menit, kemudian diambil cairan atasnya.

3.5.3.2 Hari Kedua

A. Penanganan Sampel

Sampel rumput laut dimasukkan kedalam kantong plastic 250 mg yang telah berisi air kemudian diberi kode, lalu dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi D3 Analis Kesehatan Muhammadiyah Surabaya. Sampel rumput laut tersebut ditambahkan NaCl fisiologis kemudian diblender sampai halus. Hasil blenderan tersebut disaring, diambil airnya kemudian diambil 1 ml dimasukkan kedalam BHI, begitu seterusnya kemudian diinkubasi 37°C selama 24 jam.

3.5.3.3 Hari Ketiga

A. Pengamatan pada media *Brain Heart Infution*(BHI)

Positif, (+) bila terjadi kekeruhan pada media

Negatif, (-) bila tidak terjadi kekeruhan

B. Penanaman pada media *Blood Agar Plate* (BAP)

Caranya : diambil 1 mata ose dari suspensi media BHI untuk ditanam pada media BAP, kemudian diinkubasi 37°C selama 24 jam.

3.5.3.4 Hari Keempat

A. Uji Hemolisis pada Media *Blood Agar Plate* (BAP)

Uji hemolisis pada Media BAP ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri dapat menghemolisa sel darah merah.

Caranya :diambil 1 mata ose dari media BHI, digoreskan pada media BAP kemudian diinkubasi 37°C selama 24 jam.

Koloni tersangka kuman *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat warna putih atau krem, konsistensi smooth elevansi cembung diameter \pm 1-2 mm dan bersifat beta hemolisa.

B. Pengecatan Gram

Tujuan :untuk mengetahui morfologi kuman sehingga dapat dibedakan dengan bakteri berbentuk batang.

Caranya : diambil 1 mata ose koloni tersangka dari media BAP dibuat suspense dengan ditambahkan NaCl Fisiologi kemudian diratakan dan dibiarkan kering angin kemudian difiksasi dengan melewati pada nyala api 3-4 kali, kemudian digenangi dengan Gram A (Kristal violet), selama 4 menit, lalu cuci dengan air mengalir, kemudian digenangi dengan Gram B (Lugol) selama 1 menit lalu cuci dengan air mengalir, kemudian digenangi dengan Gram C (alcohol asam) selama 1 menit lalu cuci dengan air mengalir, kemudian digenangi dengan Gram D (Safranin) selama 3 menit lalu cuci dengan air mengalir, kemudian dikering anginkan dan dipriksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 x, dengan minyak imersi.

C. Uji Katalase

Uji katalase bertujuan untuk membedakan *Staphylococcus* dan *Streptococcus*.

Caranya : diambil mata ose koloni tersangka dari media BAP diletakkan pada objek gelas kemudian ditambahkan dengan H₂O₂ 3% sebanyak 1 tetes, kemudian diamati dalam waktu kurang dari 30 detik. Tes katalase positif (+) terjadi gelembung udara (gas O₂).

D. Uji Koagulase

Tes koagulase bertujuan untuk membedakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus* lain yang bukan pathogen.

Staphylococcus aureus menghasilkan enzim koagulase sedangkan *Staphylococcus* lainnya tidak.

Caranya : diambil 1 mata ose koloni kuman tersangka dari media BAP kemudian dicampur dan diamati ada tidaknya aglutinasi. Tes koagulase positif (+) bila terjadi aglutinasi.

E. Uji Manitol Salt Agar (MSA)

Uji *Manitol Salt Agar* (MSA) bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menfermentasi karbohidrat dan kemampuan hidup pada kadar garam tinggi.

Caranya : diambil 1 mata ose koloni dari BAP kemudian digoreskan pada media MSA, diinkubasi 37°C selama 24 jam.

Positif (+) bila terjadi perubahan warna pada media dari merah menjadi kuning.

3.5.4 Tabulasi Data

Data yang diperoleh ditabulasikan sebagai berikut :

Tabel 3.1. Contoh tabulasi data hasil pemeriksaan

No	Kode Sampel	Hasil Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> pada Media MSA
1		
2		
3		
4		
5		
-		
30		

3.6 Metode Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian *Staphylococcus aureus* dikumpulkan kemudian ditabulasikan dalam bentuk tabel dan disajikan secara persen (%).