

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran mengenai objek yang diteliti. Melalui metode ini, peneliti dapat mengidentifikasi, mendeskripsikan, serta mengkaji berbagai faktor yang berhubungan dengan proses dan hasil penelitian berdasarkan temuan yang diperoleh selama kegiatan observasi (Adiningrat *et al.*, 2025). Pelaksanaan penelitian ini diarahkan untuk menentukan identifikasi bakteri *Streptococcus pyogenes* pada *mouthpiece* alat musik tiup *Marching Band* di kota Bengkulu tahun 2026.

B. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Bakteri <i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Streptococcus Sp</i> merupakan Bakteri gram (+) berwarna ungu yang bentuknya kokus (bulat berantai panjang) pada mikroskop, pada media BAP <i>Streptococcus Sp</i> berwarna ke abu-abuan atau putih.	Media BAP, Identifikasi biokimia.	Positif (+) <i>Streptococcus pyogenes</i> Negatif (-) <i>Streptococcus pyogenes</i> .	Nominal

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Madrasah Aliyah Negeri 2 Kota Bengkulu. Identifikasi bakteri dilakukan di laboratorium Poltekkes Kemenkes Bengkulu.

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Oktober 2025 - Mei 2026

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi penelitian mencakup seluruh objek yang menjadi sasaran pengamatan dalam suatu penelitian. Dalam penelitian ini, populasi yang digunakan adalah seluruh *mouthpiece* alat musik tiup yang terdapat pada kelompok marching band Madrasah Aliyah Negeri 2 Kota Bengkulu tahun 2026. Berdasarkan data yang diperoleh, terdapat sebanyak 13 *mouthpiece* yang digunakan secara keseluruhan.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini mencakup seluruh *mouthpiece* alat musik tiup yang digunakan oleh anggota marching band Madrasah Aliyah Negeri 2 Kota Bengkulu pada tahun 2026. Pemilihan sampel dilakukan dengan metode total sampling, yaitu teknik pengambilan sampel yang melibatkan seluruh anggota populasi sebagai sampel penelitian. Dengan demikian, jumlah sampel yang diperiksa dalam penelitian ini adalah sebanyak 13 *mouthpiece*.

E. Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan data primer yang diperoleh melalui pemeriksaan langsung terhadap seluruh sampel di laboratorium. Proses identifikasi dilakukan dengan mengamati koloni bakteri yang tumbuh pada media secara makroskopis dan mikroskopis, kemudian dilanjutkan dengan uji katalase. Pengambilan sampel dilaksanakan pada April 2026 dengan jumlah keseluruhan sebanyak 13 sampel, yaitu satu bulan setelah *mouthpiece* digunakan. Tahapan pemeriksaan diawali dengan memasukkan hasil swab ke dalam media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) sebagai media pengayaan untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Swab dimasukkan ke dalam BHIB tanpa menyentuh bagian dasar tabung, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, biakan selanjutnya diinokulasikan ke media *Blood Agar Plate* (BAP) untuk memperoleh pertumbuhan koloni dan membantu pengamatan karakteristik bakteri secara lebih spesifik. Media BAP yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam untuk mengamati pertumbuhan koloni bakteri.

F. Pelaksanaan Penelitian

1. Tahap Pra Analitik

a. Persiapan alat

- 1) *Handscoon* sebagai pelindung diri
- 2) Inkubator untuk menginkubasi bakteri

- 3) Oven untuk mensterilkan alat
- 4) Autoklaf untuk sterilisasi alat dan media
- 5) Ose steril untuk mengambil bakteri dari media
- 6) Lampu spritus untuk mensterilkan ose
- 7) Tabung reaksi sebagai tempat BHIB
- 8) Rak tabung reaksi untuk menata beberapa tabung reaksi
- 9) Tabung *Erlenmeyer* sebagai tempat pembuatan media
- 10) Neraca timbangan untuk menimbang media
- 11) Cawan petri sebagai tempat media agar
- 12) Pipet tetes untuk memindahkan cairan dengan jumlah sedikit
- 13) Pipet ukur untuk mengukur volume media dan aquades
- 14) Kapas lidi steril di gunakan inokulasi supense bakteri
- 15) Kaca arloji menimbang media
- 16) Spatula untuk mengambil media
- 17) *Magnetic stirrer* untuk melarutkan media
- 18) *Hotplate* untuk memanaskan media
- 19) *Object glass*

b. Persiapan Bahan Penelitian

- 1) Media BHIB (Brain-Heart Infusion Broth)
- 2) Media BAP (Blood Agar Plate)
- 3) Larutan pewarnaan gram
- 4) Reagen hidrogen peroksida (H_2O_2)
- 5) NaCL 0,8%

c. Sterilisasi Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian terlebih dahulu menjalani proses sterilisasi menggunakan metode panas kering dengan bantuan oven pada rentang suhu 160–180°C. Peralatan yang disterilkan meliputi tabung reaksi, Erlenmeyer, cawan petri, dan spatula. Seluruh alat dicuci hingga bersih, kemudian dikeringkan dan dibungkus menggunakan kertas koran sebelum ditempatkan di dalam oven. Proses sterilisasi dilakukan selama kurang lebih 2 jam. Sementara itu, bahan penelitian disterilkan dengan metode panas lembap menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. (Agroteknologi *et al.*, 2021).

d. Pembuatan Media BHIB

1) Hitung jumlah banyaknya media yang akan ditimbang dengan rumus:

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Etiket}}{1000} \times \text{Jumlah ml yang dibutuhkan} \\
 &= \frac{37,0}{1000} \times 91\text{ml} \\
 &= 3,367\text{gr}
 \end{aligned}$$

2) Timbanglah media yang telah dihitung dengan neraca analitik menggunakan wadah berupa kaca arloji dan spatula untuk mengambil media.

- 3) Setelah ditimbang, masukkan media kedalam erlenmeyer lalu larutkan media tersebut menggunakan aquadest sebanyak 245ml.
- 4) Setelah di tambahkan aquadest, panaskan media menggunakan *hotplate* sampai media larut sempurna dan jangan sampai mendidih.
- 5) Setelah media larut dengan sempurna, masukkan media kedalam tabung reaksi dengan volume masing-masing 7ml menggunakan pipet ukur, lalu tutup tabung tersebut dengan menggunakan kapas.
- 6) Setelah media ditutup dengan kapas, sterilkan media menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.
- 7) Setelah 15 menit, keluarkan media lalu di dinginkan.

e. Pembuatan Media BAP

- 1) Hitung jumlah banyaknya media yang akan ditimbang dengan rumus:

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Etiket}}{1000} \times \text{Jumlah ml yang dibutuhkan} \\
 &= \frac{40}{1000} \times 260\text{ml} \\
 &= 10,4\text{gr}
 \end{aligned}$$

- 2) Timbanglah media yang telah dihitung dengan neraca analitik menggunakan wadah berupa kaca arloji dan spatula untuk mengambil media.

- 3) Setelah ditimbang, masukkan media kedalam erlenmeyer lalu larutkan media tersebut menggunakan aquadest sebanyak 700ml.
- 4) Setelah di tambahkan aquadest, panaskan media menggunakan *hotplate* sampai media larut sempurna dan jangan sampai mendidih.
- 5) Setelah media larut dengan sempurna, tutup media yang ada di dalam erlenmeyer menggunakan kapas
- 6) Setelah media ditutup dengan kapas, sterilkan media menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

7) Setelah 15 menit, keluarkan media lalu di dinginkan.

8) Lalu, masukkan darah kedalam media BAP dengan perhitungan:

$$= 260ml \times 5\%$$

$$= 13ml$$

9) Setelah darah dan media tercampur, pindahkan media kedalam cawan petri dengan volume masing-masing 20ml menggunakan pipet ukur lalu tunggu hingga mengeras dengan sempurna.

f. Penanganan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan menggunakan metode swab pada bagian *mouthpiece* yang bersentuhan langsung dengan

mulut pemain. Proses pengambilan dilakukan setelah kegiatan sekolah selesai. Permukaan corong diswab menggunakan lidi kapas steril dengan gerakan memutar searah jarum jam untuk memperoleh sampel secara merata. Setelah itu, kapas swab digunakan untuk menginokulasikan sampel secara langsung pada permukaan media Blood Agar Plate (BAP). Selanjutnya, kapas lidi yang telah digunakan dimasukkan ke dalam tabung berisi Brain Heart Infusion Broth (BHIB) untuk proses pemeriksaan dan pertumbuhan bakteri lebih lanjut.

2. Tahap Analitik

a. Penanaman sampel

1) Penanaman pada BAP

- a) Swab permukaan *mouthpiece* menggunakan kapas lidi steril.
- b) Lalu, goreskan sampel pada media BAP secara zig-zag dengan menyentuh dinding cawan petri
- c) Setelah itu, inkubasi media BAP yang telah ditanam tadi kedalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

2) Penanaman pada BHIB

- a) Ambil sampel swab setelah dioleskan pada media BAP
- b) Buka penutup kapas pada tabung BHIB
- c) Masukkan ujung swab yang berisi sampel pada tabung BHIB.

- d) Inkubasi tabung dengan menggunakan inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Bryant & Stevens, 2021)

3) Uji Katalase

- a) Ambil koloni bakteri pada media BAP menggunakan ose.
- b) Lalu oleskan pada *object glass* dengan membentuk lingkaran kecil.
- c) Teteskan 1 tetes hidrogen peroksida lalu homogenkan.
- d) Lihat reaksi adanya gelembung udara (Bryant & Stevens, 2021).

4) Pewarnaan Gram

- a) Buat sediaan dari 1 koloni tersangka dengan membentuk spiral, lalu fiksasi di atas bunsen.
- b) Sediaan yang sudah difiksasi genangi dengan gentian violet dan diamkan selama 1 menit.
- c) Dialirkan di air mengalir, lalu genangi dengan Iodin dan diamkan selama 30 detik sampai 1 menit.
- d) Dialirkan di air mengalir, lalu hilangkan warna apusan dengan cara melewati larutan alkohol hingga sediaan menjadi jernih.
- e) Dialirkan di air mengalir, kemudian genangi dengan larutan safranin selama 30 detik sampai 1 menit.
- f) Setelah itu di bilas menggunakan air mengalir, dan keringkan.

g) Dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 100x (Bryant & Stevens, 2021).

3. Pasca Analitik

Pembacaan hasil dengan interpretasi hasil sebagai berikut:

- a. Positif : Ditemukan koloni bakteri *streptococcus* pada *mouthpiece* alat musik tiup.
- b. Negatif : Tidak ditemukan koloni bakteri *streptococcus* pada *mouthpiece* alat musik tiup.

G. Pengolahan Data dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Adapun pengolahan data yang digunakan, yaitu :

- a) Editing : Mengoreksi kembali data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium
- b) Prosesing : Memasukkan data dalam bentuk tabel.

2. Analisis Data

Data dalam penelitian ini dianalisis menggunakan pendekatan univariat dengan berfokus pada penentuan keberadaan atau ketidakberadaan bakteri *Streptococcus pyogenes* pada *mouthpiece* alat musik tiup. Temuan yang diperoleh dari pemeriksaan laboratorium selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel dan dijelaskan secara deskriptif melalui uraian naratif. Berdasarkan hasil tersebut, dilakukan pembahasan untuk

menginterpretasikan temuan penelitian sehingga dapat diperoleh suatu kesimpulan.

$$P = \frac{F}{n} \times 100\%$$

Keterangan :

P : Presentasi

F : Frekuensi (jumlah sampel yang positif)

N : Jumlah seluruh sampel

Dari hasil distribusi frekuensi, maka hasil dapat dinyatakan sebagai berikut :

0% : Tidak satupun

1% - 25% : Sebagian kecil

26% - 49% : Hampir sebagian

50% : Sebagian

51% - 75% : Sebagian besar

76% - 99% : Hampir seluruh

100% : Seluruh

