

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *Pre-Experiment Design*. Disebut demikian, karena dalam penelitian ini masih terdapat variabel luar yang berpengaruh terhadap terbentuknya variabel terikat. Hal tersebut dapat terjadi karena tidak adanya variabel kontrol atau sampel tidak dipilih secara random (Sugiyono, 2013).

2. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Post-Test Only Control Group*. Desain penelitian dapat dilihat pada tabel 4:

Tabel 4. Desain Penelitian

Perlakuan		Hasil Perlakuan	
X ₁		O ₁	
X ₂		O ₂	

Sumber: Sugiyono, 2013

Keterangan:

X₁ = Pengamatan mikroskopis menggunakan minyak kedelai

X₂ = Pengamatan mikroskopis menggunakan minyak imersi

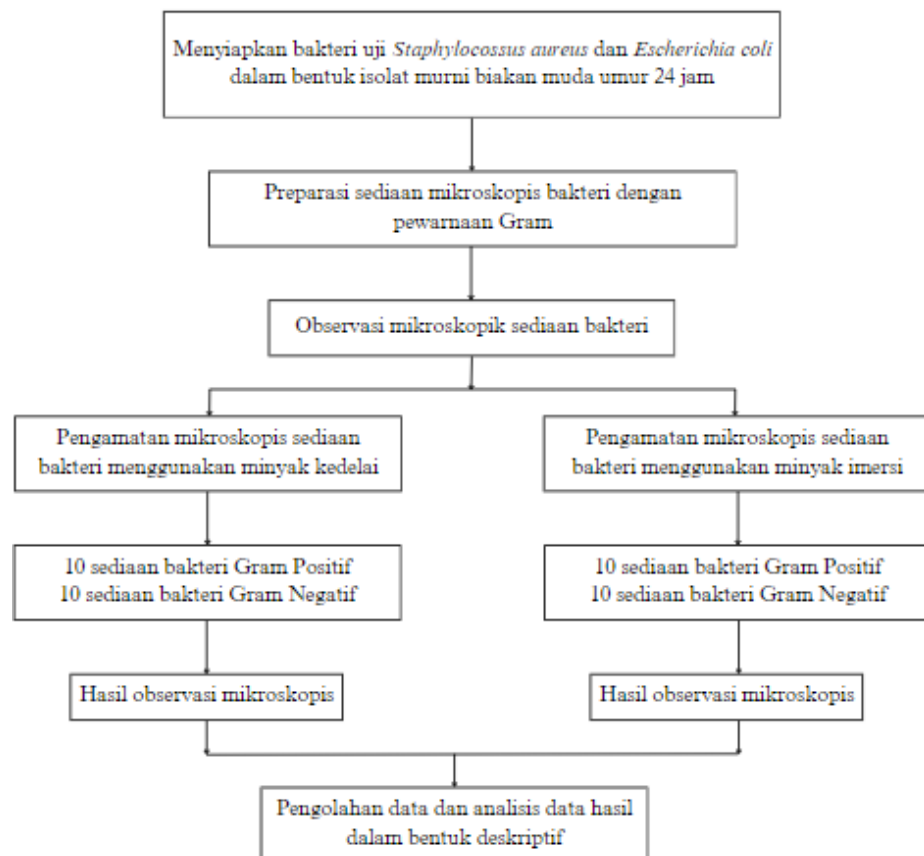
O₁ = Kualitas citra mikroskop pada sediaan bakteri yang diamati menggunakan minyak kedelai

O₂ = Kualitas citra mikroskop pada sediaan bakteri yang diamati menggunakan minyak imersi

Desain penelitian ini menggunakan dua kelompok untuk penelitian. Kelompok satu untuk eksperimen (yang diberi perlakuan berupa medium optik minyak kedelai) dan kelompok dua untuk kontrol (yang tidak diberi perlakuan berupa medium optik minyak imersi) dengan mengukur hasil setelah perlakuan (Sugiyono, 2013).

B. Alur Penelitian

Alur penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Alur Penelitian

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian dalam penelitian ini adalah 10 sediaan mikroskopis bakteri Gram Positif *Staphylococcus aureus* dan 10 sediaan mikroskopis bakteri Gram Negatif *Escherichia coli*.

2. Objek Penelitian

Objek penelitian adalah minyak kedelai yang digunakan sebagai alternatif pengganti minyak imersi untuk pengamatan sediaan mikroskopis bakteri.

D. Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Maret 2024 di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah minyak kedelai dan minyak imersi.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil pengamatan sediaan mikroskopis bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.

F. Definisi Operasional Variabel

1. Minyak kedelai adalah minyak nabati yang memiliki sifat fisik serupa dengan minyak imersi sehingga dapat digunakan sebagai alternatif

pengganti minyak imersi. Minyak imersi adalah medium optik mikroskopis yang digunakan untuk meningkatkan resolusi pengamatan mikroskopis pada perbesaran 100x lensa objektif.

2. Hasil pengamatan mikroskopis sediaan bakteri adalah data yang diperoleh dari pengamatan mikroskopis, mencakup gambar serta penilaian hasil berdasarkan aspek kecerahan, ketajaman dan kontras.

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer yang diperoleh secara langsung melalui penelitian yang dilakukan sendiri di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

2. Teknik Pengumpulan Data

Data penelitian ini dikumpulkan dengan meminta responden yang ahli dalam bidang mikrobiologi untuk mengamati sediaan bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Penilaian diberikan dengan membandingkan kualitas citra mikroskop yang menggunakan minyak kedelai dan minyak imersi. Responden diminta untuk mengamati sediaan bakteri secara langsung di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Kriteria penilaian kualitas citra mikroskop terdapat dalam Tabel 5:

Tabel 5. Skor Kriteria Penilaian Pengamatan Mikroskopis

Kriteria	Skor	Keterangan
Kecerahan	3	Cahaya optimal
	2	Cahaya kurang merata
	1	gambar terlalu gelap
Ketajaman	3	Gambar tajam, detail dan tepinya jelas
	2	Bagian tepi sel kurang jelas
	1	Gambar buram, detail sel tidak jelas
Kontras	3	Sangat kontras, sel dapat dibedakan dengan latar belakang
	2	Warna sel kurang jelas atau samar
	1	Sel tidak terlihat

Sumber: Prajapati, et al., 2015.

H. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat
 - a. Mikroskop
 - b. Kaca objek
 - c. *Cover glass*
 - d. Tabung reaksi
 - e. Gelas kimia
 - f. Erlenmeyer
 - g. Gelas ukur
 - h. Neraca
 - i. Ose bulat
 - j. Inkubator
 - k. Oven
 - l. Spirtus
 - m. Rak pewarnaan
 - n. Rak tabung reaksi

- o. Pipet tetes
- p. Kapas
- q. Tali
- r. Kertas
- s. Tisu lensa
- t. Botol semprot
- u. Pinset

2. Bahan

- a. Minyak kedelai
- b. Minyak imersi
- c. Isolat bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*)
- d. Isolat bakteri Gram Negatif (*Escherichia coli*)
- e. NaCl fisiologis
- f. Media *Nutrient Agar* miring
- g. Pewarna Gram
 - 1) Gram A: kristal violet
 - 2) Gram B: lugol
 - 3) Gram C: aseton alkohol
 - 4) Gram D: safranin
- h. Entellan
- i. Aquades

I. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

a. Perizinan

Melakukan perizinan dan pengajuan *etichal clearance* penelitian di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

b. Pemilihan Minyak Kedelai

Minyak kedelai yang digunakan untuk penelitian adalah minyak kedelai murni yang didapatkan dari toko komersil.

c. Pengadaan Bakteri

Sampel bakteri biakan murni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* didapatkan dari Balai Laboratorium Kesehatan.

d. Pengadaan Minyak Imersi dan Pewarna gram

Minyak imersi dan pewarna Gram didapatkan dari Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

e. Sterilisasi Alat

- 1) Dicuci seluruh alat yang akan digunakan.
- 2) Dikeringkan seluruh alat yang telah dicuci.
- 3) Dibungkus alat yang telah dicuci dan dikeringkan menggunakan kertas dan diikat dengan tali.
- 4) Disterilkan menggunakan oven dengan suhu 110°C selama 8 jam.

f. Pembuatan Media *Nutrient Agar* Miring

- 1) Ditimbang NA sebanyak 2 gram ke dalam erlenmeyer.
- 2) Ditambahkan aquades sebanyak 100 ml ke dalam erlenmeyer.
- 3) Dihomogenkan.
- 4) Ditutup erlenmeyer dengan menggunakan kapas, kertas, diikat dengan tali dan dikemas dengan plastik.
- 5) Disterilkan erlenmeyer dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 1 atm atau menggunakan kompor untuk melarutkan media NA.
- 6) Ditunggu beberapa saat hingga suhu turun ketika sterilisasi sudah 15 menit.
- 7) Dituangkan larutan pada erlenmeyer pada tabung reaksi secara aseptik ± 5 ml per tabung.
- 8) Dibiarkan hingga memadat.
- 9) Ditutup dengan kapas.
- 10) Disimpan media ke dalam kulkas.
- 11) Disimpan media

g. Peremajaan Bakteri

- 1) Disterilkan ose dengan spirtus.
- 2) Diambil bakteri dari isolat murni.
- 3) Diinokulasikan bakteri pada media NA tabung secara zig-zag dari arah bawah ke atas.
- 4) Diterilkan kembali ose.

- 5) Diinkubasi media yang sudah ditanami bakteri ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

h. Pembuatan Preparat Bakteri

- 1) Dibersihkan kaca objek dari korotan dan lemak.
- 2) Diambil beberapa ose larutan NaCl diatas kaca objek.
- 3) Disterilkan ose dengan dibakar pada spirtus.
- 4) Diambil secukupnya bakteri dari media agar miring. Diratakan.
- 5) Difiksasi sediaan agar melekat pada kaca objek.
- 6) Dilakukan pewarnaan Gram.

i. Pewarnaan Gram

- 1) Diletakkan preparat pada rak pewarnaan.
- 2) Digenangi sediaan dengan cat Gram A selama 1 menit.
- 3) Dicuci dengan air atau aquades.
- 4) Digenangi sediaan dengan cat Gram B selama 1 menit.
- 5) Dicuci dengan air atau aquades.
- 6) Digenangi sediaan dengan cat Gram C selama 30 detik. Ulangi proses hingga tidak terlihat adanya warna merah yang luntur.
- 7) Dicuci dengan air atau aquades.
- 8) Digenangi sediaan dengan cat Gram D selama 1 menit.
- 9) Dicuci dengan air atau aquades sampai bersih.
- 10) Dikeringkan sediaan.
- 11) Diberikan entellan pada sediaan, tutup dengan *cover glass*.
- 12) Dilakukan pengamatan mikroskopis.

j. Pemilihan dan Persiapan Mikroskop

- 1) Dipilih jenis mikroskop yang akan digunakan. Pada penelitian ini menggunakan mikroskop cahaya binokuler.
- 2) Dipastikan mikroskop yang digunakan sudah dikalibrasi secara rutin.
- 3) Digunakan cairan pembersih dan tisu lensa untuk membersihkan lensa objektif dan lensa okuler mikroskop.
- 4) Dilakukan pemeriksaan sistem pencahayaan.
- 5) Dilakukan pengujian awal (pengamatan percobaan) sebelum penelitian. Pada tahap ini dapat dilakukan lagi penyesuaian tambahan untuk memastikan pelaksanaan penelitian

2. Tahap Pelaksanaan

a. Penilaian Kualitas Citra Mikroskop Preparat Bakteri Gram Positif

- 1) Disiapkan mikroskop dan sediaan preparat bakteri yang akan diamati.
- 2) Diaplikasikan minyak kedelai pada sediaan preparat bakteri Gram Positif.
- 3) Dilakukan pengamatan mikroskop dengan perbesaran lensa 100x.
- 4) Dilakukan penilaian kualitas citra mikroskop, yaitu: kecerahan, ketajaman dan kontras.
- 5) Dihapus minyak kedelai dari sediaan preparat bakteri dan lensa objektif.

- 6) Diaplikasikan minyak imersi pada sediaan preparat bakteri Gram Positif yang sama.
 - 7) Dilakukan pengamatan mikroskop dengan perbesaran lensa 100x.
 - 8) Dilakukan penilaian kualitas citra mikroskop, yaitu: kecerahan, ketajaman dan kontras.
 - 9) Dianalisis hasil dengan menuliskan pada lembar form penilaian sesuai skala nilai yang telah ditentukan.
 - 10) Didokumentasikan hasil sebagai bukti penelitian.
- b. Penilaian Kualitas Citra Mikroskop Preparat Bakteri Gram Negatif
- 1) Disiapkan mikroskop dan sediaan preparat bakteri yang akan diamati.
 - 2) Diaplikasikan minyak kedelai pada sediaan preparat bakteri Gram Negatif.
 - 3) Dilakukan pengamatan mikroskop dengan perbesaran lensa 100x.
 - 4) Dilakukan penilaian kualitas citra mikroskop, yaitu: kecerahan, ketajaman dan kontras.
 - 5) Dihapus minyak kedelai dari sediaan preparat bakteri dan lensa objektif.
 - 6) Diaplikasikan minyak imersi pada sediaan preparat bakteri Gram Negatif yang sama.

- 7) Dilakukan pengamatan mikroskop dengan perbesaran lensa 100x.
- 8) Dilakukan penilaian kualitas citra mikroskop, yaitu: kecerahan, ketajaman dan kontras.
- 9) Dianalisis hasil dengan menuliskan pada lembar form penilaian sesuai skala nilai yang telah ditentukan.
- 10) Didokumentasikan hasil sebagai bukti penelitian.

c. Analisis Data Hasil

- 1) Dikumpulkan data yang telah diperoleh dari pengamatan penilaian kualitas citra mikroskop.
- 2) Diinterpretasikan hasil. Analisis hasil dilakukan dalam bentuk deskriptif untuk menentukan kelayakan minyak kedelai sebagai pengganti minyak imersi.

J. Manajemen Data

1. Penyajian Data

Data penelitian ini akan disajikan dalam bentuk tabel, gambar dan diagram. Gambar menyajikan hasil pengamatan sediaan bakteri yang menggunakan minyak kedelai dan minyak imersi. Tabel skor kualitas citra mikroskop berisi skor total dari tiga parameter standar yang dinilai pada kualitas citra mikroskop, yaitu: ketajaman, kecerahan dan kontras. Data dalam bentuk diagram menyajikan hasil rata-rata skor yang diperoleh dari data tabel skor kualitas citra mikroskop. Diagram

tersebut juga menggambarkan tingkat efektivitas kegunaan minyak kedelai sebagai alternatif pengganti minyak imersi.

2. Analisis Deskriptif

Analisis data dilakukan setelah data dalam bentuk tabel disajikan. Dari data tersebut, dijelaskan secara deskriptif mengenai hasil pengamatan mikroskopis sediaan bakteri dengan minyak kedelai dan minyak imersi. Kemudian keduanya dibandingkan untuk mengetahui kelayakan minyak kedelai sebagai alternatif pengganti minyak imersi.

3. Analisis Uji Efektifitas Minyak Kedelai sebagai Alternatif Minyak Imersi

Uji efektivitas bertujuan untuk mengetahui kelayakan minyak kedelai sebagai alternatif pengganti minyak imersi. Uji efektivitas dilakukan dengan menghitung rerata hasil penilaian yang menggunakan minyak kedelai dan minyak imersi. Berikut rumus hitung persentase efektivitas:

$$\% \text{ Efektivitas} = \frac{\text{Minyak Nabati}}{\text{Minyak Imersi}} \times 100\%$$

Persentase hasil efektivitas dapat diinterpretasikan dengan kriteria efektivitas sesuai dengan tabel 6.

Tabel 6. Interpretasi Nilai Efektivitas

Persentase	Kriteria
>100%	Sangat efektif
90-100%	Efektif
80-90%	Cukup efektif
60-80%	Kurang efektif
<60%	Tidak efektif

Sumber: Depdagri, Kepmendagri No. 690.900.327

K. Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan setelah memperoleh Surat Kelayakan Etik Penelitian Nomor DP.04.03/e-KEPK.1/282/2025 dari pihak Komite Etik Penelitian Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta.

