

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif yang keseluruhan data selama penelitian akan dikumpulkan secara nyata dan akan diujikan dengan prosedur yang berhubungan dengan variabel dan menguji hipotesis yang telah dirumuskan (Creswell, 2014). Dalam penelitian ini, dilakukan pendekatan dengan menekan pengukuran variabel secara objektif, terstruktur dan juga sistematis sehingga membuat temunannya dapat digeneralisasikan dengan baik sesuai prinsipnya.

Penelitian kuantitatif ini masuk dalam jenis *Experimental Research* dimana penelitian ini bertujuan untuk melihat dan menilai pengaruh perlakuan terdapat hasil yang diukur (Creswell, 2014). Jenis penelitian ini akan membandingkan perlakuan media modifikasi dan media komersial sebagai variabel bebasnya, dan response pertumbuhan bakteri sebagai variabel terikatnya.

2. Design Penelitian

Desain penelitian yang akan digunakan adalah jenis desain penelitian eksperimen, dimana peneliti akan menerapkan perlakuan yang spesifik pada kelompok subjek dan membandingkannya dengan kelompok lainnya. Dalam penelitian eksperimen ini, variabel bebas akan dimanipulasi oleh peneliti dan faktor-faktor lain akan mempengaruhi hasil yang

dihasilkan untuk dikendalikan sehingga hubungan sebab-akibat nya akan berputar pada perlakuan dan hasil yang dapat diuji.

Secara lebih spesifik, penelitian ini akan menggunakan rancangan eksperimen berupa model *Posttest-Only*, yang mana pengukuran akan dilakukan jika subjek menerima perlakuan di masing-masing kelompok. Menurut Creswell (2014), peneliti akan memposisikan variabel bebas di sebelah kiri dan variabel terikat di sebelah kanan yang nantinya akan dirancang prosedur pengukuran untuk melihat pengaruh hasilnya.

Penentuan jumlah pengulangan pada setiap perlakuan akan ditetapkan berdasar pada rumus Federer berupa :

$$(t-1)(r-1) \geq 15,$$

dimana :

1. T adalah jumlah perlakuan yang diuji
2. R adalah jumlah pengulangan atau repetisi

Yang mana pada penelitian ini, “pengulangan” mengarah pada pengulangan perlakuan yang dilakukan untuk menghindari bias dan kesalahan (Hanafiah, 1997).

dan dengan adanya dua perlakuan yang diterapkan pada penelitian ini, sehingga perolehan jumlah pengulangan sebanyak delapan kali pada setiap perlakuannya. Dengan demikian, total unit yang akan didapat untuk dilakukan penelitian berjumlah 16 plate, dimana pada setiap plate akan diperlakukan sebagai satu unit analisis.

desain penelitian eksperimen kuantitatif *Posttest-Only* akan digunakan untuk melihat efektivitas media modifikasi kacang kedelai yang dibandingkan dengan media komersial terhadap pertumbuhan bakteri *K.pneumoniae*. Model Rancangan penelitian *Posttest-Only* dapat dilihat pada tabel 3,

Tabel 5. *Design* Penelitian

Sampel	Perlakuan	Post test ₁
R	X	O
R	C	O ₁

Sumber : Creswell, 2014

Keterangan :

R : Randomisasi Sampel.

X : Kelompok Eksperimen yang menggunakan media kacang kedelai.

C : Kelompok *Control* Positif menggunakan media Nutrient Agar .

O : Hasil banding pertumbuhan baik diameter maupun jumlah koloni bakteri *K.pneumoniae* pada media kacang kedelai.

O₁ : Hasil banding pertumbuhan baik diameter maupun jumlah koloni bakteri *K.pneumoniae* pada media Nutrient Agar .

B. Subjek dan Objek Penelitian

Subjek penelitian adalah pihak atau kumpulan yang menjadi sumber data utama dalam suatu penelitian, dimana kata “siapa atau apa” yang diteliti digunakan untuk menjawab suatu rumusan masalah. Subjek disini dapat berupa manusia, hewan, organisme, atau unit lain yang karakteristiknya diobservasi dan diukur dalam suatu design penelitian.

Dalam penelitian ini, bakteri *K.pneumoniae* merupakan suatu subjek yang dipilih untuk digunakan sebagai unit analisis dalam penelitian, dimana *K.pneumoniae* akan bertugas untuk membantu mengkaji dan mengevaluasi response pertumbuhannya pada media modifikasi yang akan dirancang.

Objek penelitian merupakan suatu fenomena atau aspek tertentu yang digunakan menjadi sasaran pengamatan, pengukuran, atau Analisa dalam suatu penelitian. Apabila subjek menjawab rumusan masalah dengan “siapa atau apa” yang diteliti maka objek akan menjawab dengan “bagian mana atau fenomena apa dari subjek yang akan dikaji”.

Pada penelitian ini, diameter koloni dari bakteri *K.pneumoniae* yang tumbuh pada media modifikasi akan dijadikan sebagai objek penelitian dengan mengukur diameter nya dan digunakan sebagai acuan analisis untuk melihat suatu perbedaan, kecenderungan atau pengaruh dari perlakuan media modifikasi yang sudah dirancang.

C. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian kali ini akan dilaksanakan pada bulan Januari – Maret 2026

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas (Independen)

Variable bebas pada penelitian ini berpusat pada Jenis Media Pertumbuhan, dimana terdapat dua media pertumbuhan yang akan diujikan yaitu media alternative berbasis kacang kedelai (*Glycine Max. (L) Merr*) dan media komersial Nutrient Agar .

2. Variabel Terikat (Dependen)

Variabel terikat yang digunakan kali ini berpacu pada Hasil Pertumbuhan Bakteri *K.pneumoniae* yang nantinya akan diukur dengan beberapa parameter pendukung dari Koloni, Diameter Koloni, Jumlah Koloni, dan beberapa parameter pendukung lainnya.

3. Variabel Kontrol

Penggunaan variabel Kontrol atau juga dikenal dengan variabel pengganggu disini diharapkan untuk mengendalikan pengaruh variabel independent terhadap dependen agar tidak ada faktor lain yang mengganggu saat penelitian. Variabel control nya akan diarahkan pada beberapa hal seperti Kualitas Kacang Kedelai, Kontaminasi, Waktu Inkubasi, dan Suhu, serta beberapa hal pendukung Variabel control lainnya.

E. Definisi Operasional Variabel

1. Variabel Bebas (Independen)

a. Media modifikasi

Media pertumbuhan padat yang dirancang dari bahan local dengan komposisi yang mirip dengan media standar nya yang mampu mendukung pertumbuhan bakteri.

b. Media komersial

Media Nutrient Agar merupakan media pertumbuhan standar yang umum digunakan untuk menumbuhkan berbagai jenis bakteri karena sifatnya non selective.

2. Variabel Terikat (Dependen)

a. Hasil pertumbuhan bakteri

Hasil pertumbuhan bakteri ini didefinisikan sebagai suatu acuan untuk membantu mengevaluasi media alternatif, dimana hasil pertumbuhan ini akan berfokus pada diameter koloni yang akan diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter.

3. Variabel Kontrol atau Pengganggu

a. Kualitas bahan

Kualitas bahan disini dimaksudkan untuk bahan yang akan digunakan untuk membuat media modifikasi. Secara operasional variabel ini sudah peneliti coba kendalikan dengan menentukan suatu kriteria tertentu seperti penggunaan dari merk dan konsentrasi yang sama.

b. Suhu inkubasi

Suhu inkubasi adalah derajat temperature yang harus diperhatikan saat media berisi inoculum diinkubasi, dimana suhu ini harus tetap dijaga

kestabilannya dengan memastikan apakah incubator sudah terkalibrasi atau belum.

c. Waktu inkubasi

Lama inkubasi akan dimaksudkan untuk panjang durasi ketika cawan berisi media diinokulasi hingga pembacaan diameter koloni dilakukan. Lama inkubasi harus disesuaikan sesuai waktu inokulasi dengan ketepatan yang pasti (18-24 jam sesuai prosedur SOP) untuk semua media.

d. Kontaminan

Kontaminan adalah suatu kondisi dimana mikroorganisme selain *K.pneumoniae* dapat tumbuh pada media dan menyebabkan hasil pengamatan jadi terganggu. Variabel ini akan peneliti coba kendalikan dengan menerapkan penanaman pada *laminar flow* dengan tetap menerapkan Teknik aseptik.

F. Batasan Istilah

Batasan istilah disini ditujukan untuk membatasi dan juga mempermudah pembaca agar dapat dengan mudah memahami ruang lingkup dari penelitian ini, Batasan itu berupa:

1. Nutrient Agar : Media Nutrient Agar merupakan media non-selektif yang umum digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan kandungan nutrisi dasar seperti *peptone*, *meat extract*, dan agar.
2. Media Modifikasi : Media Modifikasi adalah media pertumbuhan bakteri yang dirancang dengan bahan pengganti, menggunakan

komponen standar dengan memanfaatkan bahan bahan lokal. Media ini juga dirancang untuk menekan biaya atau sumberdaya, dan tetap mendukung pertumbuhan mikroorganisme yang akan diujikan.

3. Kacang Kedelai : Kacang kedelai atau *Glycine Max* merupakan biji bijian yang dipilih untuk mendukung proses pertumbuhan karena *peptone* yang dikandungnya cukup tinggi.
4. Kaldu Daging : Kaldu daging adalah suatu cairan yang didapatkan dari hasil perebusan daging yang diharapkan membawa nitrogen dan nutrisi lain didalamnya, komponen komponen kaya seperti asam amino, *peptide* dan beberapa bahan organik dapat tetap terjaga apabila prosedur dilakukan secara baik dan benar.
5. *Yeast Extract* : Ekstrak ragi adalah ekstrak yang didapatkan dari sel sel ragi dengan kandungan seperti Vit. B, asam amino, dan beberapa faktor pendukung pertumbuhan untuk bakteri. Ekstrak ragi ini umum digunakan untuk memperkaya kandungan nutrisi pada suatu media
6. *K.pneumoniae* : Bakteri dengan Gram negatif, berbentuk batang dan bersifat kapsul ini merupakan bakteri *pathogen* oportunistik yang kerap ditemukan pada infeksi saluran pernafasan dan saluran kemih. *K.pneumoniae* cukup umum digunakan untuk bahan pengujian baik itu pertumbuhan atau resistensi antibiotik.
7. *Phenol Red* : *Phenol red* merupakan salah satu indikator yang kerap digunakan dalam media kultur untuk membantu mengawasi perubahan pH. Phenol ini akan berfungsi untuk pembantu indikator

visualisasi untuk mendeteksi aktivitas *metabolic* dari mikroba yang dapat merubah pH media melalui fermentasi gula didalam media kultur tersebut.

8. Pertumbuhan Bakteri : Pertumumbuhan bakteri ini adalah suatu hal yang diharapkan peneliti apabila menguji suatu efektifitas media, dimana terdapat peningkatan seperti jumlah sel bakteri dalam kurun waktu tertentu yang menjadi penanda bahwa ketersediaan nutrisi pada media yang dirancang sedemikian rupa baik adanya.

G. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

Dalam penelitian ini, jenis data yang akan digunakan oleh peneliti merupakan data primer, data yang akan didapatkan langsung dari hasil observasi dan pengukuran di laboratorium. Data primer ini akan mencakup beberapa pengamatan baik itu dari pertumbuhan bakteri *K.pneumoniae* di media alternative kacang kedelai (*Glycine Max. (L) Merr*) dan media Nutrient Agar .

Teknik pengumpulan data juga akan dilakukan dengan cara melakukan pengamatan secara langsung melalui beberapa parameter pendukung untuk mendapatkan data setelah proses inkubasi bakteri di media. Pengukuran yang dilakukan secara sistematis dan berulang guna memastikan tidak ada kekeliruan data yang diperoleh.

H. Instrumen dan Bahan Penelitian

Dalam penelitian ini, peneliti akan menggunakan beberapa alat dan bahan yang mendukung jalannya penelitian seperti,

1. Alat

<i>Biological Safety Cabinet</i> (BSC)	Hotplate
<i>Autoclave</i>	<i>Coloni Counter</i>
Inkubator	Jangka Sorong
Neraca Analitik	Api Bunsen
Jarum Ose	Cawan Petri
Beaker Glass	Pipet Ukur
Erlenmayer	Parafilm
Tabung Reaksi	Rak Tabung Reaksi
Oven	Kertas Saring
<i>Coloni Counter</i>	Mikropipet
Labu Ukur	Batang Pengaduk

2. Bahan

a. Media Nutrient Agar (NA), Komposisi per/liter

- 1) *Peptone* : 5,0g /Liter
- 2) *Beef Extraxt* : 3,0g /Liter
- 3) *Agar* : 15,0g /Liter

b. Media Modifikasi, Komposisi Per/Liter

- 1) Kacang Kedelai : 2,0ml
- 2) Kaldu Daging : 1,0ml
- 3) *Yeast Extract* : 1,0Gram
- 4) Gula : 1,0Gram
- 5) *Agar* : 15,0Gram

- c. Bakteri *K.pneumoniae*
- d. Larutan Nutrient Broth
- e. *Phenol Red*
- f. Aquadest

I. Uji Validitas Intrumen

Validitas dalam penelitian merupakan suatu hal yang digunakan untuk melihat tingkat akurasi suatu instrumen dalam mengukur konstruk atau konsep yang diteliti, untuk memastikan hasil yang didapat mewakili semua variabel yang menjadi inti penelitian. Dalam penelitian, validitas ini memerlukan instrumen yang memungkinkan untuk membuat kesimpulan dan dugaan yang bermakna dari datanya sehingga pengukurannya tidak hanya akan menghasilkan angka kosong (Creswell, 2014).

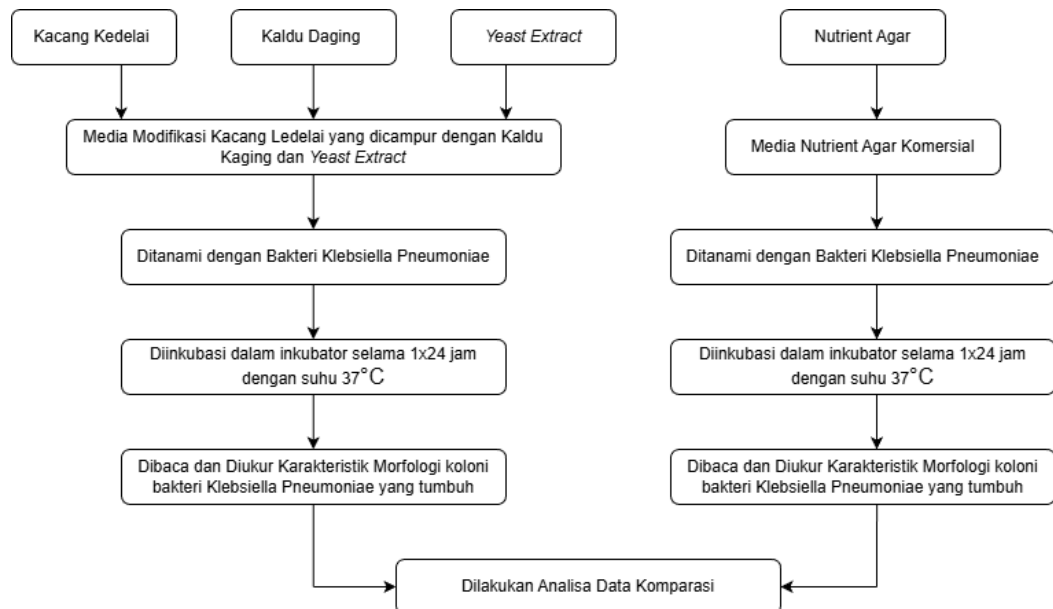
Dalam penelitian ini, uji validitas akan mencakup beberapa aspek yang bermula dari memastikan alat-alat instrumen yang digunakan sudah terkalibrasi benar dengan fungsinya seperti memastikan apakah autoclave yang digunakan masih berfungsi baik (menjaga sterilitas) dengan melakukan suatu perlakuan membiarkan media yang sudah di autoclave selama 1x24 jam tanpa dilakukan inokulasi untuk melihat apakah terjadi kontaminan atau tidak.

Uji validitas ini juga akan memastikan agar alat-alat tetap dalam kondisi steril guna menghindari kontaminasi lain dan bias data, dan juga memastikan pengukuran diameter koloni bakteri menggunakan jangka sorong tidak terjadi penghitungan ganda atau berulang setiap plate medianya. Hasil dari pembacaan juga akan dipastikan diverifikasi oleh pihak ketiga (pranata laboratorium atau

petugas laboratorium) untuk menghindari pengamatan subyektif dan juga menghindari bias berlanjut.

J. Rancangan Penelitian

Rancangan Percobaan Penelitian dapat dilihat pada gambar 7,



Gambar 6, Rancangan Percobaan Penelitian

K. Prosedur Penelitian

1. Pengajuan Kode Etik dan Perizinan

- a. Persiapkan semua dokumen yang akan dibutuhkan untuk proses pengajuan izin penelitian dan pengajuan kode etik.
- b. Ketika semua berkas sudah siap, ajukan semua berkas pada komite etik di institusi.
- c. Ketika berkas sudah diajukan, tunggu balasan review dari komite etik, apabila terdapat kekeliruan atau kekurangan, segera lengkapi berkas dan ajukan Kembali untuk meneruskan penelitian.

2. Pengajuan Determinasi dan Persiapan Sampel

- a. Determinasi pada penelitian ini ditujukan untuk memfokuskan apakah kacang kedelai yang digunakan sebagai bahan utama dalam media Modifikasi ini memenuhi syarat kelayakan yang baik. Determinasi ini juga akan menjelaskan bagaimana karakteristik dan beberapa informasi mendalam mulai dari varietas, kondisi fisik, pengecekan mutu, parameter kimia yang terkandung seperti protein dan kadar air, dan beberapa hal lain yang dapat mendukung kelayakan dari bahan tersebut.
- b. Persiapan sampel akan peneliti lakukan dengan cara memastikan ketersediaan stain yang akan digunakan dalam penelitian ini. Peneliti juga akan memastikan apakah stain yang digunakan memiliki sertifikat keaslian pendukung untuk meyakinkan bahwa stain ini adalah stain asli tanpa ada kontaminan dari mikroorganisme lain.

3. Sterilisasi Alat dan Bahan

- a. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b. Cuci semua peralatan menggunakan sabun dan air mengalir.
- c. Setelah dicuci, keringkan, lalu bungkus peralatan tersebut dengan kertas atau aluminium foil untuk menjaganya tetap steril Ketika proses sterilisasi.
- d. Setelah semua terbungkus, masukkan kedalam oven/inkubator steril lalu sterilkan peralatan pada suhu 80°C selama minimal 60 menit.

- e. Apabila selesai di steril, simpan peralatan dengan upaya tidak membuka pembungkus alat sebelum digunakan.

4. Pembuatan Tepung Kacang Kedelai

- a. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b. Kacang kedelai yang sudah dipilah berdasarkan kondisinya (tidak berjamur/rusak) direndam dalam air minimal selama 3-5 jam atau semalaman untuk mempermudah melepaskan kulit arinya.
- c. Setelah proses perendaman, bilas kacang kedelai seraya menggosok permukaan kedelai hingga kulit arinya terlepas. Ulangi pembilasan selama 3-5 kali hingga air nya menjadi jernih dan kulit arinya terlepas.
- d. Apabila sudah dirasa bersih, tiriskan kacang kedelai dan di sebar merata diatas loyang untuk disiapkan proses pengeringan.
- e. Proses pengeringan kacang kedelai memakan waktu 24 jam pada suhu 50°C. upayakan untuk meratakan kacang kedelai dengan benar, agar semua nya dapat kering sesuai tujuan.
- f. Setelah melewati proses pengeringan, usahakan dalam kondisi dingin, haluskan kacang tersebut menggunakan blender/*chopper* kering hingga menjadi tepung.
- g. Ketika dirasa sudah terhaluskan semua, ayak/saring tepung menggunakan saringan halus dan simpan kedalam wadah yang tertutup rapat.

- h. Untuk selalu menjaga kondisi tepung dengan baik, letakan silica gel untuk menghindari proses penjamuran dan menghindari lembabnya tepung tersebut.

5. Pembuatan Infusa Kacang Kedelai.

- a. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b. Timbang tepung kacang kedelai sebanyak 10g lalu letakan dalam labu erlenmayer.
- c. Dalam labu erlenmayer, ditambahkan larutan aquadest sebanyak 50ml lalu homogenkan.
- d. Ketika sudah terhomogenkan dengan baik, panaskan larutan tersebut dengan suhu 90°C selama ± 15 menit.
- e. Apabila larutan infusa sudah selesai dipanaskan, tunggu hingga keadaan sedikit mendingin lalu saring menggunakan saringan kain agar infusa yang diperoleh tidak banyak mengandung endapan.
- f. Setelah selesai, kaldu yang sudah disimpan pada wadah steril di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit untuk menghilangkan mikroorganisme pengganggu selama proses pembuatan.

6. Pembuatan *Meat Extract* atau Kaldu Daging

- a. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b. Daging sapi yang sudah di bersihkan dari lemak nya dipotong kecil kecil untuk mempercepat proses ekstraksi.
- c. Daging yang sudah dipotong direbus menggunakan air bersih/aquadest di panci yang tertutup selama 1-2 jam.

- d. Ketika selesai perebusan, tunggu hingga uapnya turun lalu saring kaldu daging tersebut menggunakan saringan rapat untuk menyaring sisa lemak dan ampas besarnya. Ulangi proses penyaringan ini selama 3 kali.
 - e. Setelah selesai, kaldu yang sudah disimpan pada wadah steril di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit untuk menghilangkan mikroorganisme pengganggu selama proses pembuatan.
 - f. Apabila semua proses sudah selesai, simpan pada area yang steril untuk kemudian digunakan dalam penelitian sesuai dengan metode yang diadaptasi dari Diah, Pestariatri, dan Arifin (2019)
7. Pembuatan NaCl Fisiologis (0,85%)
- a. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
 - b. Timbang serbuk Natrium Clorida sebanyak 0,85g menggunakan neraca analitik.
 - c. Setelah ditimbang, larutkan Natrium Clorida tersebut dalam 100ml aquadest dalam erlenmayer, lalu homogenkan.
 - d. Ketika proses homogenisasi selesai, tutup erlenmayer tersebut dan sterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
 - e. Apabila proses selesai, biarkan NaCl tersebut dalam kondisi steril mendingin di suhu ruang sebelum digunakan.

8. Peremajaan Bakteri Kultur/Isolate Murni

- a. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b. Ambil koloni murni *K.pneumoniae* yang lama dengan menggunakan ose yang steril.
- c. Setelah diambil, tanam koloni tersebut pada media NA di tabung Miring (Slant) atau media padat cawan petri.
- d. Setelah selesai, inkubasi media tersebut pada inkubator di suhu 37°C selama 24jam untuk mengupayakan pertumbuhan yang optimal.

9. Pembuatan Media Nutrient Broth.

- a. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b. Dengan neraca analitik, timbang serbuk Nutrient broth sebanyak 0,8g lalu pindahkan kedalam labu erlenmayer.
- c. Dalam erlenmayer tersebut, tambahkan 100ml aquadest lalu homogenkan secara merata seraya dipanaskan untuk mencegah terjadinya gumpalan.
- a. Ketika sudah terlarut dengan sempurna, tutup erlenmayer tersebut dengan menggunakan aluminium foil, lalu sterilkan pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- d. Apabila proses sterilisasi sudah selesai, biarkan media sedikit dingin dan siap untuk digunakan untuk menginokulasikan bakteri uji.

10. Pembuatan Media Nutrient Agar

- b. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- c. Dengan menggunakan neraca analitik, timbang bubuk Nutrient Agar sebanyak 2,8g sesuai petunjuk di kemasan untuk takaran.
- d. Setelah di timbang, larutkan serbuk tersebut menggunakan aquadest sebanyak 100ml hingga terlarut sempurna seraya dipanaskan menggunakan hotplate.
- e. Apabila sudah terlarut dengan sempurna, tutup erlenmayer tersebut dengan menggunakan aluminium foil, lalu sterilkan pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- f. Setelah selesai di sterilkan, tuang media NA tersebut dalam cawan petri dengan takaran ± 20 ml per cawannya, dan diamkan hingga memadat.

11. Pembuatan Media Modifikasi

Pembuatan media Modifikasi ini didasari dengan berbagai kombinasi referensi dari (Martsiningsi, 2024; Sembor, 2022) Seperti,

- a. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b. Dengan menggunakan neraca analitik, timbang semua bahan padat seperti bubuk kedelai sebanyak 2g, *Yeast* ekstrak sebanyak 1g, agar sebanyak 1,5g, dan gula sebanyak 1g, lalu tampung semua hasil timbangan kedalam erlenmayer.
- c. Apabila sudah di pindahkan, tambahkan ekstrak kaldu daging sebanyak 1ml, dan campurkan.

- d. Setelah penambahan kaldu daging, tambahkan aquadest yang digunakan untuk pelarut sebanyak 100ml lalu homogenkan secara merata seraya dipanaskan.
- e. Ketika sudah terlarut sempurna, sterilkan kedalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- f. Setelah disterilkan, tuang dalam cawan petri dengan aseptis, tunggu hingga mengeras lalu simpan dalam kondisi yang steril.

12. Penanaman Isolat pada Media

- a. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b. Siapkan suspensi bakteri dengan cara mengambil 50µL atau 0,005ml dari media NB secara *aseptic* lalu sebar pada permukaan media Nutrient Agar atau Media Modifikasi.
- c. Setelah disebar merata, Inkubasi semua media yang sudah ditanami dengan bakteri dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

13. Pembacaan Hasil

- a. Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- b. Setelah proses inkubasi selesai, amati pertumbuhan koloni bakteri pada setiap media yang ditanami.
- c. Mulai dokumentasi semua parameter pendukung seperti mengukur diameter, menghitung koloni, dan mengamati karakteristik koloni.
- d. Ketika sudah didokumentasikan, lakukan proses dekontaminasi dengan baik untuk menghindari kontaminasi silang pada lingkungan sekitar.

Untuk memberikan gambaran yang lebih ringkas tentang tahapan pembuatan media, dilakukan perbandingan prosedur antara media nutrient agar dan media modifikasi. Perbandingan ini dilakukan untuk mempermudah pemahaman mengenai perbedaan prosedur yang dilakukan pada kedua media tersebut. Perbandingan proses pembuatan media disajikan pada Tabel.

Tabel. Perbandingan Prosedur Pembuatan Media Kultur

Tahap	Media Modifikasi	Media Nutrient Agar
Persiapan Bahan	Menyiapkan Tepung Kedelai, Kaldu Daging, Yeast Extract, Gula dan Agar	Menyiapkan Serbuk Nutrient Agar siap pakai
Penimbangan	Menimbang bahan sesuai komposisi	Menimbang 2g serbuk NA
Pelarutan	Semua bahan dicampur dalam 100mL Aquadest	Dilarutkan dalam 100mL Aquadest
Pemanasan	Dipanaskan hingga larut	Dipanaskan hingga homogen
Sterilisasi	Pemanasan Autoclave selama 15 menit dalam 121°C	Pemanasan Autoclave selama 15 menit dalam 121°C
Penuangan	±20mL dituang dalam Cawan Petri	±20mL dituang dalam Cawan Petri

L. Manajemen Data

1. Pengumpulan dan Penyajian Data.

Pada penelitian ini, peneliti akan mencari dan mengumpulkan data yang akan digunakan untuk tujuan penelitian. Data ini akan dikumpulkan dan akan dibersihkan datanya dengan cara meneliti kembali data yang sudah terkumpulkan untuk diperbaiki dan dihilangkan data yang ganda, tidak valid, atau tidak lengkap agar siap digunakan kembali (mushlih dan Rosyidah, 2020). Data hasil pengamatan akan disajikan dalam bentuk tabel distribusi yang memuat nilai diameter koloni bakteri pada masing-masing

media, kemudian dianalisis untuk memperoleh nilai rata-rata, selisih, serta persentase efektivitas.

2. Analisis Data

a. Analisis Deskriptif

Analisis deskriptif ini ditujukan untuk mendeskripsikan data yang sudah didapat dari masing masing kriteria penelitian. Data ini akan disajikan dalam bentuk tabel, grafik, rata – rata (*mean*), standar deviasi (SD), minimum, maksimum, serta persentase. Tujuan ini akan memberikan gambaran umum mengenai sebaran data dan karakteristik subjek penelitiannya sebelum dilakukan uji lebih lanjut (Mushlih dan Rosyidah, 2020)

b. Analisis Growth Performance

Analisis Growth Performance atau analisis performa pertumbuhan merupakan Analisa tambahan yang unruk mengetahui kemampuan dari media dalam mendukung pertumbuhan suatu bakteri. performa pertumbuhan ini dihitung menggunakan persentase pertumbuhan (Growth Percentage) yang diadaptasi dari konsep efficiency rate yang dikemukakan oleh Novikov et al. (2021), yang mana pada penelitiannya membandingkan kemampuan uji media uji terhadap media control dalam mendukung pertumbuhan bakteri.

Pada penelitian kali ini, parameter jumlah Colony Forming Unit (CFU) yang sebagaimana digunakan oleh Novicov et al. (2021) akan disesuaikan menjadi rata-rata diameter koloni karena pengamatan

pertumbuhan dilakukan secara makroskopis pada media padat. Perhitungan persentase pertumbuhan dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$Growth (\%) = \frac{Dm}{Dk} \times 100\%$$

Keterangan :

- 1) Dm : rata-rata diameter koloni pada media modifikasi
- 2) Dk : rata-rata diameter koloni pada media Nutrient Agar

c. Analisis Statistik

Dalam penelitian, terdapat suatu hipotesis yang perlu diuji sesuai dengan karakteristik datanya, pengujian ini akan melibatkan beberapa rumus di statistic guna memudahkan pemahaman melalui visualisasi data seperti tabel dan diagram. Beberapa pengujian analisis statistic menggunakan pengujian seperti:

1) Uji Distribusi

Dalam uji ini akan dilakukan uji distribusi melalui uji normalitas untuk melihat apakah data pada setiap kelompok terdistribusi secara normal atau tidak dengan cara

a) Menentukan Hipotesis

H_0 : Data berdistribusi normal.

H_1 : Data tidak berdistribusi normal.

Dan dengan keputusan dimana jika nilai asymp. Sig $\geq$ 0,05 akan diterima, begitu sebaliknya, jika nilai asymp. Sig $<$ 0,05 maka akan ditolak.

2) Uji Parametrik

Uji Parametrik akan dilakukan apabila data yang sudah di uji distribusi menunjukkan data terdistribusi normal dengan melanjutkan kepada uji parametrik berupa uji T dua sampel independent (Independent – sampel T Test). Uji T test disini dimaksudkan apabila data dinyatakan terdistribusi normal dan homogen dengan melakukan tahapan lanjutan seperti:

a) Menentukan Hipotesis

H_0 : Tidak ada perbedaan rata-rata antar dua kelompok.

H_1 : terdapat perbedaan rata-rata antar kedua kelompok.

Dan dengan keputusan dimana jika nilai $P \geq 0,05$ akan diterima (tidak ada perbedaan signifikan), begitu sebaliknya, jika nilai $P < 0,05$ maka akan ditolak (ada perbedaan signifikan).

3. Penyajian dan Pelaporan Data.

Penyajian dan Pelaporan Data merupakan proses untuk merepresentasikan hasil data yang telah dianalisis sehingga memberikan gambaran yang jelas dan sistematis mengenai temuan penelitian. Penyajian data ini akan dilakukan dengan memberikan suatu representasi seperti tabel, grafik, dan diagram yang dibuat agar mudah dipahami serta mendukung interpretasi secara efektif.

Penyajian data ini harus memungkinkan baik peneliti atau pembaca memahami pola, hubungan, dan hasil utama dari penelitian dengan jelas

sehingga dapat memperkuat argument dan validitas hasil yang ditemukan (Creswell, 2014).

M. Etika Penelitian

Penelitian ini akan menggunakan bakteri uji *K.pneumoniae* yang memiliki sertifikat untuk memastikan bahwa bakteri berasal dari sumber yang sah, strain yang diidentifikasi telah benar, dan memastikan bahwa bakteri uji tidak melanggar regulasi *biosafety*. Selain menggunakan sertifikat bakteri uji, dalam penelitian ini juga akan mengajukan sertifikat determinasi yang digunakan untuk mengkonfirmasi identitas dan kualitas dari bahan yang akan digunakan.

Sertifikat bakteri uji dan sertifikat determinasi akan diajukan pada Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta untuk memastikan bahan uji dan mikroorganisme yang diteliti akan terjamin keaslian dan legalitasnya. Dimana dokumen ini juga diharapkan dapat membangun kredibilitas dan transparansi dalam penelitian.