

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif yaitu dengan ingin mengetahui bagaimana pertumbuhan *S.aureus* pada sampel krim anti ruam bayi.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan Maret 2021, di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Malang untuk proses inokulasi bakteri, preparasi sampel dan preparasi media yang akan digunakan.

3.3 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu sampel berupa produk sediaan krim anti ruam bayi yang dibeli disalah satu minirmarket, kultur *S.aureus*, alkohol 70% digunakan untuk sterilisasi, kapas, aluminium foil sebagai pembungkus alat gelas yang akan disterilisasi, label, tisu, pelarut (akuades seteril), media *Soybean-Casein Digest Broth* dan media *Mannitol Salt Agar* (MSA).

Alat yang dipakai yaitu, pipet ukur 10 ml (3), bola hisap (1), batang pengaduk (2), tabung reaksi (12), rak tabung reaksi (1), autoklaf (1) sebagai alat sterilisasi media dan alat gelas dengan prinsip panas basah, oven (1) sebagai alat sterilisasi peralatan gelas dengan prinsip panas kering, bunsen + alkohol 70% (1 set) sebagai alat sterilisasi panas pijar, inkubator (1) sebagai tempat menginkubasi mikroba pada suhu yang terkontrol, LAF (Laminar Air Flow) (1) sebagai meja kerja untuk penanaman dan penuangan media secara steril karena dilengkapi sinar UV dan blower, cawan petri (6), erlenmayer 100 ml (2) sebagai penampung media, beaker glass 100 ml (1), beaker glass 250 ml (1) sebagai preparasi media dan menampung larutan pengencer, gelas ukur (1), korek (1), kompor (1), jarum inokulum/ose (1), lemari pendingin (1) sebagai tempat untuk menyimpan media, kaca arloji (2) sebagai tempat sampel dan media yang ditimbang, sendok/spatula (2), neraca (1) sebagai alat timbang.

3.4 Variabel Penelitian

- a. Variabel dependen (bebas) dalam penelitian yaitu pengaruh cemaran *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*).
- b. Variabel independen (terikat) dalam penelitian yaitu mutu krim anti ruam bayi merek C

3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1. Definisi Operasional

Variabel	Devinsi	Metode dan Alat Ukur	Skala Pengukuran
- Pengaruh cemaran <i>S.aureus</i>	Pertumbuhan mikroorganisme pada sampel	Pengamatan pertumbuhan pada media <i>Soybean-casein digest broth</i> dan hasil positif diinokulasi pada media MSA	Ordinal
- Mutu krim anti ruam bayi merek C	produk krim anti ruam bayi		

3.6 Metode Penelitian (Prosedur penelitian)

a. Pengambilan Sampel

Dipilih sampel sesuai kriteria pengambilan sampel dan kontrol yang akan digunakan sebagai penelitian yaitu; kondisi kemasannya baik, kemasan masih tersegel, tanggal kadaluarsa yang masih lama dengan waktu penelitian, dipilih sampel krim anti ruam bayi kemasan cup merek C. Disiapkan sampel yang dibeli secara acak pada minimarket sampel berupa produk krim anti ruam bayi merek C sebanyak 2 cup. Kemudian masing-masing sampel diberi label sebagai sampel dan sebagai kontrol.

b. Preparasi Sampel

Disiapkan sampel dan kemudian ditambahkan kultur murni *S.aureus* sebanyak 1 ose secara aseptis. Kemudian dihomogenkan dan ditutup kembali cup secara aseptis. Selanjutnya sampel dan kontrol disimpan dalam suhu ruang selama 24 jam.

c. Preparasi Alat

Disiapkan alat yang akan dipergunakan, kemudian untuk peralatan gelas yang akan dipergunakan disterilisasi terlebih dahulu. Alat gelas disterilisasi menggunakan oven dengan suhu 180°C selama 1 jam. Alat gelas dibungkus menggunakan aluminium foil, kemudian dimasukkan kedalam oven, dan disterilkan.

d. Preparasi Media *Mannitol Salt Agar* (MSA) (Yusmaniar dkk, 2017)

Disiapkan media *Mannitol Salt Agar*, kemudian ditimbang media sesuai etiket dan dimasukkan media kedalam erlenmayer dan ditandabatkan menggunakan akuades. Selanjutnya diaduk hingga homogen, jika perlu dipanaskan media sampai homogen, dilakukan secara hati-hati jangan sampai media mendidih dan meluap. Kemudian dipipet masing-masing sebanyak 20 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, dan ditutup tabung menggunakan kapas. Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C, dengan tekanan 1 atm, selama 15 menit. Selanjutnya ditunggu hingga panas kuku, kemudian dituang kedalam cawan petri steril dan ditunggu hingga media memadat menjadi agar.

e. Preparasi Media *Soybean-Casein Digest Broth* (SCDB)

Disiapkan media *Soybean-Casein Digest Broth*, kemudian ditimbang media sesuai etiket dan dimasukkan media kedalam erlenmayer dan ditandabatkan menggunakan akuades. Selanjutnya diaduk hingga homogen. Kemudian dipipet media sebanyak 9 ml kedalam tabung reaksi, dan ditutup tabung menggunakan kapas. Disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, dengan tekanan 1 atm, selama 15 menit.

f. Inokulasi Sampel pada Media *Soybean-Casein Digest Broth* (Pra-inkubasi) (Farmakope VI, 2020)

Ditimbang masing-masing sampel dan kontrol secara aseptis sebanyak 1 gram. Kemudian diinokulasikan kedalam media *Soybean-casein digest broth* dalam tabung reaksi secara aseptis, dicampur hingga homogen. Diinkubasi selama 18-24 jam dalam suhu 37°C (dilakukan prosedur sebanyak tiga kali/ triplo).

g. Inokulasi Sampel pada Media MSA (Fakhrurrazi, 2017)

Hasil yang positif pada media *Soybean-casein digest broth* diambil masing-masing 1 ose secara aseptis, kemudian diinokulasikan pada media MSA menggunakan teknik gores secara aseptis. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C (dilakukan prosedur sebanyak tiga kali/ triplo).

3.7 Pengolahan, Pengujian dan Analisis Data

Pengolahan data penelitian menggunakan metode Deskriptif, dimana data hasil pengamatan ditampilkan dalam bentuk tabel untuk mempermudah dalam menginterpretasi data. Data yang dihasilkan dari pengujian bakteri *Staphylococcus aureus* pada sampel positif (terdapat koloni) atau negatif (tidak terdapat koloni).