

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasi deskriptif dengan desain potong lintang. Penelitian ini bertujuan untuk menggambarkan jenis bakteri *Enterobacteriaceae* pada feses anak stunting yang mengalami diare di Puskesmas Oemasi tanpa melakukan intervensi terhadap subjek penelitian

B. Tempat dan waktu penelitian

1. Tempat

Pengambilan sampel pada penelitian ini di Puskesmas Oemasi. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan di Laboratorium Bakteriologi jurusan TLM Poltekkes Kemenkes Kupang.

2. Waktu

Penelitian ini direncanakan akan dilaksanakan pada bulan Februari sampai April 2026

C. Variable penelitian

Penelitian ini melibatkan variabel tunggal yaitu bakteri *Enterobacteriaceae* yang terdapat pada feses anak stunting yang menderita diare. Variabel ini diukur melalui pemeriksaan laboratorium yang mencakup kultur pada media selektif dan identifikasi biokimia guna mengetahui jenis serta jumlah koloni bakteri, sehingga dapat memberikan gambaran

mengenai profil Enterobacteriaceae pada anak stunting yang mengalami diare di Puskesmas Oemasi.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Seluruh anak usia 2-5 tahun yang mengalami stunting yang terdaftar sebagai pasien di Puskesmas Oemasi, selama periode penelitian.

2. Sampel

Sampel penelitian ini berjumlah 20 anak stunting yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi serta bersedia, mengikuti seluruh proses penelitian.

a. Kriteria inklusi

- 1) Anak usia 2-5 tahun dengan nilai Z-score TB/U < -2 SD
- 2) Bersedia mengikuti pemeriksaan feses dan darah dengan izin orang tua / wali
- 3) Tidak sedang mengalami infeksi berat selain yang diteliti
- 4) Yang sedang mengalami diare

b. Kriteria eksklusi

- 1) Anak yang sedang mengonsumsi antibiotik
- 2) Anak dengan kondisi medis berat yang dapat memengaruhi hasil pemeriksaan darah.

3. Teknik sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah Purposive sampling dengan sampel terjangkau dan memenuhi kriteria tertentu sesuai tujuan penelitian dengan memperhatikan waktu dan biaya penelitian.

E. Defenisi operasional

Tabel 3.1 defenisi operasional

Variabel	Defenisi operasional	Alat ukur	Hasil	Skala
Stunting	Anak dengan nilai Height-for-Age Z-score (HAZ) < -2 SD menurut standar WHO.	Microtoise/Len gth Board, Timbangan, WHO Anthro	Stunting, tidak stunting	Nominal
Diare	Keadaan buang air dengan konsistensi cair atau lemebek >3 kali dalam 24 jam	Anamnesis kepada orang tua/wali dan catatan rekam medis	Diare/ tidak diare	Nominal
Bakteri <i>Enterobacteriaceae</i>	Bakteri gram negetif yang termasuk famili <i>Enterobacteriaceae</i> yang di temukan pada sampel feses	Pemeriksaan kultur feses pada media MCA,EMBA	Positif/ne gatif	Nominal
Jenis <i>Enterobacteriaceae</i>	Spesies bakteri <i>Enterobacteriaceae</i> yang teridentifikasi dari kultur feses	Identifikasi morfologi koloni ,pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan gram dan uji biokimia	<i>E.coli</i>, <i>Klebsiella spp.</i>, <i>Enterobacter spp.</i>, <i>Proteus spp.</i>, dll	Nominal

F. Prosedur penelitian

Prosedur tahapan dalam penelitian ini Adalah sebagai berikut:

1. Tahap perencanaan
 - a. Melakukan observasi Lokasi

- b. Penyusunan, revisi dan seminar proposal
 - c. Mengurus kode etik penelitian
 - d. Mengurus surat ijin penelitian
2. Tahap pelaksanaan
- a. Pencatatan data pasien dari rekam medis
 - b. Pertemuan orang tua calon responden
 - c. Perkenalan diri serta maksud dan tujuan penelitian
 - d. Tanda-tangan formulir persetujuan (*informed consent*) oleh orang tua calon responden
 - e. Prosedur pengambilan feses:
 - 1) Alat dan bahan
 - a) Wadah steril atau pot khusus sampel feses
 - b) Handscoon
 - c) Masker
 - d) Feses
 - 2) Cara kerja

Pengambilan feses dilakukan dengan prosedur:

 - a) Berikan wadah steril atau pot feses kepada orang tua/wali untuk mengumpulkan sampel feses segar (sekitar 1-2 gram) dari anak, hindari kontaminasi urin atau udara.
 - b) Pastikan sampel dikumpulkan pagi hari dan di bawah kepuskesmas dalam waktu 1-2 jam.

- c) Jika tidak memungkinkan, simpan di lemari es pada suhu 4°C maksimal 24 jam (Su et al., 2022)

3. Pemeriksaan identifikasi bakteri *Enterobacteriaceae*

Pemeriksaan identifikasi *Enterobacteriaceae* dilakukan dengan prosedur:

- a. Alat : Tabung reaksi, object glass, ose jarum, ose bulat, mikroskop, rak pewarnaan, cawan petri, Bunsen, korek api, rak tabung reaksi, pot sampel, inkubator
- b. Bahan : sampel feses, media MacConkey agar (MCA), gula-gula (glukosa, laktosa, sukrosa), methyl red, VP, sulfur indol manitol (SIM), Simon citrate (SC), urease, triple sugar iron agar (TSIA), zat pewarna kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin 0,25%, reagen Kovacs, α-naftol 5% & KOH 40%, metil merah.
- c. Cara kerja

1) Hari pertama

Dilakukan penanaman sampel feses pada media selektif MCA dan EMBA. Sampel klinis seperti feses diinokulasi secara aseptik ke permukaan media MCA dan EMBA menggunakan ose bulat yang sudah di sterilkan dengan menggunakan metode streak untuk mendapatkan koloni terpisah. Media kemudian diinkubasi pada suhu 35–37°C selama 18-24 jam. Lalu diamati pertumbuhan koloni bakteri pada media untuk menilai kemampuan fermentasi laktosa

sebagai dasar indentifikasi awal bakteri *Enterobacteriaceae* (Paulo, 2015)

2) Hari ke Dua

Pada hari kedua setelah inkubasi awal di media selektif, koloni yang dicurigai *Enterobacteriaceae* dipilih dari MacConkey Agar (MCA) dengan mempertimbangkan karakter morfologi koloni. Media MCA adalah media selektif dan diferensial yang digunakan untuk isolasi bakteri Gram-negatif dan membedakan bakteri pengfermentasi laktosa dari yang bukan, di mana pengfermentasi laktosa menghasilkan koloni berwarna merah/pink sedangkan non-pengfermentasi tampak jernih atau tak berwarna. Mekanisme ini adalah langkah awal dalam mengenali *Enterobacteriaceae*. Koloni yang dicurigai kemudian diambil secara steril dan dilakukan pewarnaan Gram untuk memastikan bahwa isolat tersebut adalah bakteri berbentuk batang Gram-negatif (bacilli). Metode pewarnaan Gram adalah prosedur standar untuk verifikasi awal morfologi bakteri sebelum melakukan pengujian biokimia lanjutan (Nataswara YA, Suardana IW, 2025). Selanjutnya, dilakukan pengujian biokimia fermentasi karbohidrat seperti glukosa, laktosa, manitol, dan sukrosa menggunakan media khusus yang mengandung indikator pH. Isolat diinokulasikan ke dalam setiap media uji dan kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-28 Uji ini bertujuan untuk

menilai kemampuan bakteri dalam mencerna karbohidrat tertentu hasil positif fermentasi ditandai dengan perubahan warna media menjadi kuning yang menandakan produksi asam dari fermentasi gula oleh mikroorganisme (Sari et al., 2025). Untuk identifikasi lebih mendalam, dilakukan serangkaian tes biokimia IMViC (Indole, Methyl Red, Voges-Proskauer, dan Citrate) yang digunakan untuk membedakan genus dan spesies dalam *Enterobacteriaceae*. Uji IMViC adalah metode standar untuk mengidentifikasi bakteri koliform dan *Enterobacteriaceae* (Kartikasari et al., 2019).

3) Hari ke Tiga

Dilanjutkan dengan melakukan pengamatan hasil uji biokimia yang sudah diinkubasi. Dengan memperhatikan perubahan warna serta gas yang terbentuk pada uji tersebut. Hal ini dilakukan untuk mempermudah identifikasi jenis *Enterobacteriaceae* terhadap sampel tersebut.

G. Analisis Hasil

Analisis data dilakukan secara deskriptif dan inferensial.

1. Data deskriptif meliputi frekuensi, persentase, untuk menggambarkan karakteristik sampel responden dan variabel leukosit dan e coli.
2. Hasil analisis laboratorium disajikan dalam tabel frekuensi dan persentase untuk menggambarkan jenis bakteri *Enterobacteriaceae*

yang paling umum ditemukan dalam feses anak stunting yang mengalami diare di Puskesmas Oemasi.