

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan desain penelitian

Jenis penelitian ini adalah kuantitatif deskriptif dengan desain studi cross-sectional yang bertujuan untuk menggambarkan hasil identifikasi bakteri *E. coli* pada urin serta gambaran darah lengkap yang meliputi kadar Hb, kadar leukosit, dan kadar trombosit pada anak stunting dengan temuan adanya bakteri *E. coli*.

B. Tempat dan waktu penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di:

- a. Puskesmas Oemasi, Kec. Nekamese sebagai tempat pengambilan sampel urin dan darah.
- b. Laboratorium Bakteriologi Poltekkes Kupang sebagai tempat identifikasi bakteri dan Laboratorium ASA Kupang sebagai tempat pemeriksaan darah lengkap.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret – April 2026.

C. Variabel penelitian

Variabel penelitian meliputi jenis kelamin, usia, pendidikan terakhir orang tua responden, keberadaan bakteri *E. coli* pada urin yang dikategorikan menjadi positif dan negatif, kadar Hb, kadar leukosit, dan kadar trombosit.

D. Populasi, sampel, dan teknik sampling

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah 88 anak stunting usia 2–5 tahun yang tercatat di wilayah kerja Puskesmas Oemasi, Kec. Nekamese.

2. Sampel

Jumlah sampel penelitian ini adalah 20 anak stunting yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dari 88 anak stunting yang ditetapkan sebagai populasi dalam penelitian ini.

a. Kriteria inklusi:

- 1) Orang tua atau wali anak stunting yang bersedia menjadi responden dan menandatangani informed consent.
- 2) Anak stunting yang dapat memberikan sampel urin dan darah untuk pemeriksaan laboratorium.
- 3) Anak stunting yang berasal dari empat desa yang menjadi lokasi penelitian, yaitu Desa Oelomin sebanyak 15 anak stunting, Desa Tunfeu sebanyak 10 anak stunting, Desa Oben sebanyak 9 anak stunting, dan Desa Bone sebanyak 6 anak stunting, dengan total 40 anak stunting. Pemilihan empat desa tersebut didasarkan pada keterbatasan akses geografis dan waktu penelitian.

b. Kriteria eksklusi:

- 1) Anak stunting dengan kondisi tidak kooperatif atau sulit diambil sampel urin maupun darah.

2. Teknik sampling

Teknik sampling yang digunakan adalah *purposive sampling*, yaitu teknik pemilihan sampel berdasarkan pertimbangan dan kriteria tertentu yang telah ditetapkan oleh peneliti.

E. Definisi operasional

Tabel 3. 1. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi operasional	Cara ukur	Hasil pengukuran	Skala ukur
1.	Jenis kelamin	Jenis kelamin responden ketika dilakukan pengambilan sampel penelitian	kuesioner	Laki-laki Perempuan	Nominal
2.	Usia	Usia responden ketika dilakukan pengambilan sampel penelitian	kuesioner	2 tahun 3 tahun 4 tahun 5 tahun	Ordinal
3.	Pendidikan	Tingkat pendidikan terakhir orang tua responden ketika dilakukan pengambilan sampel penelitian	Kuesioner	Tidak tamat SD Tamat SD Tamat SMP Tamat SMA	Ordinal
4.	Keberadaan Bakteri <i>E. coli</i>	Hasil Identifikasi Keberadaan bakteri <i>E. coli</i> pada urin berdasarkan hasil inokulasi pada media MCA, EMBA, dan Uji Biokimia serta Pewarnaan Gram	Inokulasi pada media MCA, EMBA, Uji Biokimia (Indol, TSIA, MR-VP, Simmon citrate, SIM), dan Pewarnaan Gram	Hasil identifikasi bakteri dinyatakan positif <i>E. coli</i> apabila menunjukkan: MCA (+) dengan koloni merah muda, EMBA (+) dengan koloni hijau metalik, Gram negatif berbentuk basil/batang dan berwarna merah muda/merah. Pada TSIA menunjukkan A/A (slant dan butt	Nominal

				berwarna kuning) dengan gas (+) ditandai adanya gelembung/retakan pada media dan H₂S (-) ditandai tidak terbentuk warna hitam. MR (+) ditandai perubahan warna menjadi merah, VP (-) tidak terjadi perubahan warna menjadi merah, Citrate (-) media tetap berwarna hijau, serta SIM menunjukkan indol (+) dengan terbentuknya cincin merah, motil (+) dengan pertumbuhan menyebar dari garis tusukan. Identifikasi dinyatakan negatif apabila hasil pemeriksaan tidak sesuai dengan pola tersebut.		
5.	Kadar Hemoglobin (Hb)	Kadar Hb dalam darah anak stunting dengan temuan adanya bakteri <i>E.coli</i> pada urin	Hematology Analyzer	Normal: 11,5-15,5 g/dL Tidak normal (rendah): < 11,5 g/dL Tidak normal (tinggi): > 15,5 g/dL	Rasio	
6.	Kadar Leukosit	Kadar leukosit dalam darah anak stunting dengan temuan adanya bakteri <i>E.coli</i> pada urin	Hematology Analyzer	Normal: 5.500–17.000/μL Tidak normal (rendah): < 5.500 /μL Tidak normal (tinggi): > 17.000 /μL	Rasio	

7.	Kadar Trombosit	Kadar trombosit dalam darah anak stunting dengan temuan adanya bakteri <i>E.coli</i> pada urin	Hematology Analyzer	Normal: 150.000–450.000/ μ L Tidak normal (rendah): < 150.000 / μ L Tidak normal (tinggi): > 450.000 / μ L	Rasio
----	-----------------	--	---------------------	--	-------

F. Prosedur penelitian

1. Persiapan Penelitian

- a. Membuat surat keterangan layak etik
- b. Mengajukan permohonan ijin penelitian, untuk melakukan penelitian.
- c. Koordinasi dan Persiapan Lokasi Penelitian :
 - 1) Menghubungi dan berkoordinasi dengan petugas gizi serta petugas kesehatan anak di Puskesmas Oemasi, Kecamatan Nekamese untuk mendapatkan data anak stunting usia 2–5 tahun sesuai kriteria penelitian.
 - 2) Menjelaskan tujuan penelitian dan alur pengambilan sampel kepada petugas puskesmas.
- d. Menyiapkan seluruh alat dan bahan penelitian, seperti:
 - 1) Pot urin steril berlabel
 - 2) S spuit EDTA 3 mL / vacutainer EDTA
 - 3) Cooler box dengan ice pack
 - 4) APD
 - 5) Media MCA, EMBA, reagen Gram, reagen biokimia
 - 6) Lembar data identitas responden

2. Pelaksanaan Penelitian

a. Seleksi dan Identifikasi Responden

- 1) Identifikasi calon responden berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi.
- 2) Menjelaskan informasi penelitian kepada orang tua dan meminta persetujuan (informed consent).
- 3) Melakukan pengisian kuesioner oleh orang tua responden
- 4) Pengambilan Sampel Urin

a) Persiapan Alat & Responden

- (1) Menyiapkan pot urin steril yang sudah diberi kode sampel.
- (2) Menginstruksikan orang tua cara pengambilan urin anak midstream:
 - (a) Bersihkan area genital dengan air bersih.
 - (b) Tunggu aliran pertama urin keluar, tampung bagian tengah (midstream) ke pot steril.

b) Transportasi Sampel Urin

- (1) Setelah sampel diperoleh, tutup pot dengan rapat.
- (2) Simpan pot urin ke dalam cooler box (4–8°C).
- (3) Transportasi sampel ke laboratorium maksimum 6 jam setelah pengambilan.

b. Identifikasi *E. coli*

1) Inokulasi Media

- a) Homogenkan urin.
- b) Ambil urin menggunakan ose.
- c) Goreskan urin pada:
 - (1) MacConkey Agar (MCA)
 - (2) Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)
- d) Inkubasi pada suhu 35–37°C selama 18–24 jam.

2) Pembacaan Koloni :

- a) MCA → koloni merah muda (laktosa positif) → ciri *E. coli*.
- b) EMBA → koloni hijau metalik → ciri khas *E. coli*.
- c) Koloni tersangka *E. coli* diambil 1–2 koloni untuk uji lanjut.

c. Pewarnaan Gram

- 1) Buat sediaan apus dari koloni.
- 2) Pewarnaan Gram standar.
- 3) Hasil positif *E. coli* jika:
 - a) Batang pendek
 - b) Warna merah/pink (Gram negatif)

d. Uji Biokimia (IMVIC + TSIA + SIM)

Tabel 3. 2. Uji Biokimia

Jenis Uji Biokimia	Hasil	Keterangan / Interpretasi
TSIA	A/A, Gas (+), H ₂ S (-)	Slant & butt kuning (fermentasi glukosa & laktosa), terdapat gas, tanpa endapan hitam.
SIM – H ₂ S	Negatif	Tidak ada endapan hitam pada media.
SIM – Indole	Positif	Terbentuk cincin merah setelah penambahan reagen Kovac.
SIM – Motility	Positif	Media keruh, bakteri bersifat motil.
MR (Methyl Red)	Positif	Larutan tetap merah setelah reagen MR → fermentasi asam kuat (mixed acid fermentation).
VP (Voges–Proskauer)	Negatif	Tidak terbentuk warna merah, media tetap kekuningan → tidak menghasilkan asetoin.
Simmons Citrate	Negatif	Media tetap hijau → tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

Keterangan:

Dikatakan positif E. coli jika semua pola biokimia sesuai tabel di atas.

Dikatakan negatif jika tidak menunjukkan pola khas E. coli.

e. Pengambilan Sampel Darah EDTA

1) Persiapan Alat & Pasien

- a) Menyiapkan tabung EDTA yang telah diberi kode.
- b) Mencuci tangan dan memakai APD.
- c) Menenangkan anak dan memilih vena yang terlihat (biasanya vena mediana cubiti).

2) Teknik Pengambilan

- a) Membersihkan area vena menggunakan alkohol 70%.
- b) Menggunakan spuit 1 cc.
- c) Memasukkan darah ke tabung EDTA perlahan.
- d) Membalik tabung 8–10 kali agar bercampur dengan antikoagulan.

3) Transportasi Sampel Darah

- a) Menyimpan tabung EDTA pada cool box
- b) Pemeriksaan hematologi harus dilakukan maksimal 6 jam setelah pengambilan.

f. Pemeriksaan Darah Lengkap

Dilakukan menggunakan Hematology Analyzer:

- 1) Menghomogenkan sampel dengan cara membalik tabung
- 2) Mengaspirasi sampel sesuai instruksi alat.
- 3) Hasil pemeriksaan berupa print out

3. Pasca penelitian

- a. Pengolahan data penelitian
- b. Menyusun laporan hasil

G. Analisis hasil

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah analisis secara univariat yang digunakan untuk menggambarkan karakteristik setiap variabel penelitian. Karakteristik responden yang meliputi jenis kelamin, usia, berat dan pendidikan terakhir orang tua disajikan dalam bentuk tabel distribusi dan narasi deskriptif.

Hasil identifikasi bakteri *E. coli* pada urin anak stunting disajikan dalam bentuk tabel hasil pemeriksaan, tabel distribusi, dan narasi deskriptif. Sementara itu, hasil pemeriksaan darah lengkap yang meliputi kadar Hb, kadar leukosit, dan kadar trombosit pada anak stunting dengan temuan bakteri *E. coli* pada urin disajikan dalam bentuk tabel distribusi dan narasi deskriptif.