

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah survei yang bersifat deskriptif dengan uji Laboratorium, yaitu untuk melihat keberadaan bakteri *Coliform* pada es jeruk di rumah makan Kecamatan Rajabasa Bandar Lampung.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes Tanjungkarang. Pengambilan sampel es jeruk akan dilakukan di rumah makan Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2021.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah sebanyak 30 rumah makan yang menjual es jeruk di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung.

2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah sebanyak 30 es jeruk di rumah makan di Kecamatan Rajabasa Bandar Lampung yang berlokasi di Jl ZA Pagar Alam, Jl Kepayang, Jl Pramuka, Jl Prof Dr Ir Sumantri Brojonegoro, dan Jl H Komarudin.

D. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

1. Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini adalah es jeruk yang dijual di Rumah Makan di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung.

2. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Es jeruk	Es jeruk merupakan minuman sari buah dari jeruk yang ditambahkan air minum, gula dan es batu yang dijual di Rumah Makan di Kecamatan Rajabasa Bandarlampung	Organoleptis	Indra penglihatan	Minuman es jeruk: 1. Berisi perasan buah jeruk 2. Terdapat gula dan es batu	Ordinal
Bakteri <i>Coliform</i>	<i>Coliform</i> merupakan bakteri indikator pencemaran air. Pemeriksaan bakteri <i>Coliform</i> pada sampel es jeruk menggunakan metode MPN	Metode MPN	Tabel Thomas 5 1 1	Berdasarkan Permenkes No. 492/MENKES/PE R/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum yaitu 1. Memenuhi syarat jika total bakteri <i>Coliform</i> 0/100 mL sampel 2. Tidak memenuhi syarat jika total bakteri <i>Coliform</i> >0/100mL sampel	Ordinal

E. Pengumpulan Data

1. Prosedur Penelitian

Data diperoleh dengan mengajukan usulan pembuatan izin penelitian ke Direktur Poltekkes Tanjung Karang, setelah mendapatkan surat izin penelitian, peneliti mulai melakukan pengambilan sampel di Rumah Makan di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung yang dilakukan secara bertahap. Masing-masing sampel es jeruk diberi label dengan mencantumkan nama atau kode sampel, tanggal pemeriksaan dan jam pengambilan, lalu dimasukkan ke dalam ice box/termos es, kemudian dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan.

2. Metode Pemeriksaan

Pemeriksaan bakteri dilakukan menggunakan metode Most Probable Number (MPN) dengan penanaman 5:1:1.

3. Prinsip Pemeriksaan

Metode MPN menggunakan medium cair di dalam tabung reaksi, perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung yang positif, yaitu yang ditumbuhi oleh mikroba setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam pada media. Pengamatan tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan, atau terbentuknya gas di dalam tabung Durham untuk mikroba pembentuk gas. Lebih banyak tabung yang digunakan menunjukkan ketelitian yang lebih tinggi, tetapi alat gelas yang digunakan juga lebih banyak (Irianto, 2013).

4. Persiapan Alat

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung durham, Erlenmeyer, pipet ukur (0,1 mL;1,0 mL;10 mL), beaker glass, gelas ukur, alumunium foil, batang pengaduk, kapas, vacum pump, jarum ose, timbangan, incubator, *autoclave*, oven, hotplate, lampu spirtus, *ice box* (*styrofoam box* dan *dry ice*).

5. Sterilisasi Alat

Pipet ukur (0,1 mL;1,0 mL;10 mL) yang akan disterilkan dibungkus dengan kertas copy dan dimasukkan ke dalam HOA (*Hot Air Oven*) dengan suhu 160°C selama 1 jam. Setelah selesai, alat-alat tersebut didinginkan dan siap digunakan (Soemarno, 2000).

6. Bahan

Bahan yang digunakan adalah media *Lactose Broth* (LB), media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB), alkohol 70%, aquadest, dan sampel es jeruk yang dijual di rumah makan di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung.

7. Prosedur Kerja Pemeriksaan

a. Pembuatan Media

Pembuatan media *Lactose Broth* dan *Brilliant Green* untuk setiap pemeriksaan 15 sampel.

1. Lactose Broth

a. *Lactose Broth Single Strenght*

- (1).Ditimbang sebanyak 3,9gram media *lactose broth*, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer
- (2).Ditambahkan aquades sebanyak 300mL kemudian dipanaskan di atas hot plate sampai larut sempurna
- (3).Larutan tersebut dimasukkan ke dalam 30 tabung reaksi yang telah diberi tabung durham, masing-masing tabung sebanyak 10 mL larutan media *lactose broth*
- (4).Tabung reaksi ditutup dengan kapas dan disterilkan dengan autoclave selama 15 menit pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C (Merck, 1992).

b. *Lactose Broth Triple Strenght*

- (1).Ditimbang sebanyak 14,6gram media *lactose broth*, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer
- (2).Ditambahkan aquades sebanyak 375mL kemudian dipanaskan di atas hot plate sampai larut sempurna
- (3).Larutan tersebut dimasukkan ke dalam 75 tabung reaksi yang telah diberi tabung durham, masing-masing tabung sebanyak 5 mL larutan media *lactose broth*
- (4).Tabung reaksi ditutup dengan kapas dan disterilkan dengan autoclave selama 15 menit pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C (Merck, 1992).

2. Brilliant Green Lactose Broth (BGLB)

- a) Media BGLB ditimbang sebanyak 21gram, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer
- b) Ditambahkan aquades sebanyak 525mL kemudian dipanaskan di atas hot plate sampai larut sempurna
- c) Larutan tersebut dimasukkan ke dalam 105 tabung reaksi yang telah diberi tabung durham, masing-masing tabung sebanyak 5 mL larutan media BGLB

d) Tabung reaksi ditutup dengan kapas dan disterilkan dengan autoclave selama 15 menit pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C (Merck, 1992).

b. Cara Pengambilan Sampel

- 1) Pengambilan sampel dilakukan dengan membeli es jeruk pada 30 rumah makan di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung secara bertahap, yaitu dua kali dengan jumlah 15 sampel setiap kali melakukan penelitian.
- 2) Es jeruk dibeli dari setiap rumah makan. Sampel dibungkus dengan wadah plastic dan diikat dengan karet. Sampel diberi label dengan mencantumkan kode sampel, tanggal pengambilan, asal lokasi, dan waktu. Sampel dimasukkan ke dalam *ice box* yang tertutup rapat.
- 3) Sampel dalam waktu maksimal 2 jam sudah sampai di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan.
- 4) Sampel yang terkumpul dikeluarkan dari *ice box*
- 5) Sebelum diperiksa, plastik sampel didesinfeksi dengan kapas alcohol 70%. Perlakuan yang sama untuk seluruh sampel.

c. Prosedur Pemeriksaan

Pemeriksaan sampel dengan metode MPN (Most Probable Number) menggunakan ragam 5 1 1, pada penelitian ini dilakukan 2 tahap pemeriksaan yaitu:

- 1) Tes Perkiraan
 - a. Disiapkan 7 tabung reaksi yang pada 5 tabung berisi media *Lactose broth Triple Strenght* sebanyak 5mL dan pada 2 tabung berisi media *Lactose Broth Single Strenght* sebanyak 10mL. Tabung disusun pada rak tabung reaksi.
 - b. Sampel dihomogenkan, kemudian dengan pipet steril diambil sampel yang telah disiapkan
 - (1).Masukkan ke dalam 5 tabung yang berisi media *Lactose broth Triple Strenght* masing-masing sebanyak 10,0 mL sampel

(2).Masukkan ke dalam 1 tabung yang berisi media *Lactose Broth Single Strenght* sebanyak 1,0 mL

(3).Masukkan ke dalam 1 tabung yang berisi media *Lactose Broth Single Strenght* sebanyak 0,1 mL

c. Tabung dihomogenkan secara perlahan agar sampel dan media bercampur rata

d. Inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam

e. Interpretasi Hasil :

Positif (+) : Terbentuk gas dalam tabung durham dan kekeruhan pada tabung reaksi

Negatif (-) : Tidak terbentuk gas pada tabung durham dan tidak terjadi kekeruhan pada tabung reaksi

f. Bila didapatkan hasil positif, maka dilanjutkan dengan tes penegasan.

2) Tes Penegasan

a) Tiap-tiap tabung tes perkiraan yang positif dipindahkan 1 ose ke dalam 1 tabung yang berisi 5 mL media *brilliant green lactose broth*

b) Inkubasi selama 24 jam pada suhu 48°C

c) Interpretasi Hasil :

Positif (+) : Terbentuk gas dalam tabung durham dan kekeruhan pada tabung reaksi

Negatif (-) : Tidak terbentuk gas pada tabung durham dan tidak terjadi kekeruhan pada tabung reaksi

d) Hasil tabung BGLB yang menunjukkan hasil positif kemudian dikonfirmasi dengan tabel MPN Thomas ragam 5.1.1 (Soemarno, 2000).

e) Interpretasi Hasil:

- (1) Memenuhi syarat berdasarkan Permenkes No.492/MENKES/PER/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum jika total bakteri *Coliform* 0/100 mL sampel.
- (2) Tidak memenuhi syarat berdasarkan Permenkes No.492/MENKES/PER/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum jika total bakteri *Coliform* >0/100mL sampel.

F. Pengolahan dan Analisa Data

1. Pengolahan Data

Data diolah dengan mencatat hasil pemeriksaan MPN di laboratorium yang dikonfirmasi dengan tabel thomas yang disesuaikan dengan seri tabung yang digunakan untuk mengetahui jumlah bakteri *Coliform* pada es jeruk di rumah makan Kecamatan Rajabasa Bandar Lampung.

2. Analisis Data

Analisis data menggunakan analisa univariat yaitu untuk mendapatkan persentase es jeruk di Rumah Makan Kecamatan Rajabasa Bandar Lampung yang memenuhi syarat Permenkes No.492/MENKES/PER/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum yaitu total bakteri *Coliform* 0/100 mL sampel.