

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis dan rancangan penelitian ini adalah bersifat deskriptif dan *cross sectional* yang bertujuan untuk mengetahui gambaran nilai MPN *Coliform* fekal pada air minum yang disediakan rumah makan di Kecamatan Rajabasa.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Tekonologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang pada bulan Februari-Juni 2022.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah sebanyak 52 air minum dari setiap rumah makan di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini berjumlah 36 air minum dari rumah makan yang berada di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung.

D. Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Air Minum Rumah Makan	Air yang disediakan rumah makan di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung.	Organoleptis	Indra penglihatan : Mata, Indra penciuman : Hidung, dan Indra perasa : Lidah.	Bentuk fisik : tidak berbau, tidak berasa, dan tidak berwarna	Ordinal
2	Bakteri <i>Coliform</i>	Bakteri yang akan diperiksa dari air minum rumah makan di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung	Metode MPN (<i>Most Probable Number</i>)	Tabel Thomas Ragam 5:1:1	1. Memenuhi syarat Permenkes RI No.492/Menkes /Per/IV2010 yaitu 0/100 ml sampel 2. Tidak Memenuhi syarat Permenkes RI No.492/Menkes /Per/IV2010 yaitu 0/100 ml sampel	Ordinal

E. Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer yang diperoleh dengan pengambilan sampel pada rumah makan di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung. Sampel berjumlah 36 air minum yang telah diketahui melalui hasil survey. Pengambilan data dilakukan sebagai berikut:

1. Prosedur Pengajuan Penelitian

- a. Mengajukan permohonan izin penelitian dari Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang untuk melakukan penelitian di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
- b. Pengambilan sampel penelitian.

2. Prosedur Identifikasi bakteri *Coliform* fekal

Prosedur identifikasi dilakukan untuk mengetahui gambaran bakteri *Coliform* fekal pada air minum rumah makan di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung. Pemeriksaan ini dilakukan dengan metode makroskopis.

a. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan seperti botol sampel steril, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *autoclave*, *oven*, *vortex*, erlenmeyer, inkubator, neraca analitik, pipet volume, pipet ukur, kapas alkohol, alumunium foil, vacuum pump, kapas, tabung durham, kertas kopi, hot plate, lampu spiritus, beaker glass, spidol, kertas label,. Bahan yang digunakan yaitu sampel air minum, media *Lactose Broth Single Strength* (LBSS), media *Lactose Broth Triple Strength* (LBTS), media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB), air kran (untuk *autoclave*), aquadest.

b. Pengambilan Sampel

Botol atau wadah steril, lampu spiritus atau lilin, kertas label, dan spidol untuk sampel disiapkan terlebih dahulu, sebelum pengambilan sampel, tangan dibersihkan terlebih dahulu menggunakan alkohol 70% atau kapas alkohol agar steril, kemudian dilewatkan mulut botol diatas lampu spiritus, lalu dimasukkan air minum atau sampel ke dalam botol steril, setelah itu dilewatkan kembali mulut botol diatas lampu spiritus dan ditutup dengan rapat, diberi identitas sampel berupa nama pengambil

sampel, nama atau kode sampel, lokasi pengambilan sampel, tanggal dan waktu pengambilan sampel, dimasukkan botol yang berisi sampel ke dalam kotak yang berisi es atau *ice box* (agar suhu terjaga selama dari tempat pengambilan sampel sampai Laboratorium), setelah itu, sampel segera dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang dan sampel siap digunakan untuk pemeriksaan.

c. Prosedur Kerja

1) Sterilisasi Alat

- a) Alat yang ingin digunakan dicuci terlebih dahulu hingga bersih dengan sabun dan dikeringkan.
- b) Pipet volume dan cawan petri dibungkus menggunakan kertas copy atau kertas buram. Untuk mulut erlenmeyer dan tabung reaksi ditutup menggunakan kapas dan dilapisi aluminium foil.
- c) Alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam *oven* selama 60 menit dengan suhu 160°C.
- d) Setelah 60 menit, alat yang berada di dalam *oven* di keluarkan lalu didinginkan dan alat siap digunakan (Soemarno, 2000).

2) Pembuatan Media *Lactose Broth Single Strength* (LBSS)

- a) Media *Lactose Broth* berupa serbuk ditimbang sebanyak 3,25 gr.
- b) Media dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 250 ml aquadest lalu diaduk hingga homogen.
- c) Media *Lactose Broth* dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi yang berisi tabung durham saja dengan posisi terbalik sebanyak 10 ml dan ditutup tabung reaksi dengan kapas.
- d) Media *Lactose Broth* yang berada di tabung reaksi disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
- e) Setelah 15 menit proses sterilisasi di *autoclave*, media tersebut dikeluarkan lalu didinginkan dan media siap digunakan (Atlas, 2010).

3) Pembuatan Media *Lactose Broth Triple Strength* (LBTS)

- a) Media *Lactose Broth* berupa serbuk ditimbang sebanyak 9,75 gr.

- b) Media dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 250 ml aquadest lalu diaduk hingga homogen.
 - c) Media *Lactose Broth* dimasukkan ke dalam 5 tabung reaksi yang berisi tabung durham saja dengan posisi terbalik sebanyak 5 ml dan ditutup tabung reaksi dengan kapas.
 - d) Media *Lactose Broth* yang berada di tabung reaksi disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
 - e) Setelah 15 menit proses steriliasi di *autoclave*, media tersebut dikeluarkan lalu didinginkan dan media siap digunakan (Atlas, 2010).
- 4) Pembuatan Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB)
- a) Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* berupa serbuk ditimbang sebanyak 14 gr.
 - b) Media dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 350 ml aquadest lalu diaduk hingga homogen.
 - c) Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* dimasukkan ke dalam 7 tabung reaksi yang berisi tabung durham saja dengan posisi terbalik sebanyak 5 ml dan ditutup tabung reaksi dengan kapas.
 - d) Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* yang berada di tabung reaksi disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
 - e) Setelah 15 menit proses steriliasi di *autoclave*, media tersebut dikeluarkan lalu didinginkan dan media siap digunakan (Atlas, 2010).
- 5) Persiapan Sampel
- a) Sampel-sampel yang telah diambil, di keluarkan dari dalam *ice box*.
 - b) Sampel dihomogenkan dengan cara dikocok secara perlahan.
 - c) Mulut botol sampel dilewatkan di atas lampu spiritus agar terhindar dari kontaminasi.

- d) Sampel yang berada di botol di masukkan ke dalam erlenmeyer steril ± 100 ml lalu mulut erlenmeyer dilewatkan di atas lampu spiritus.
 - e) Tutup erlenmeyer menggunakan kapas dan dilapisi aluminium foil.
- 6) Pemeriksaan Sampel
- Pemeriksaan sampel dilakukan dua pengujian yaitu Tes Penduga (*Persumptive Test*) dan Tes Penegas (*Confirmed Test*).
- a) Tes Penduga (*Persumptive Test*).
 - (1) Media *Lactose Broth* yang berada di dalam 7 tabung reaksi disiapkan dengan membentuk ragam 5:1:1.
 - (2) Media *Lactose Broth* yang berada di dalam 5 tabung reaksi disiapkan sebanyak 5 ml (beri identitas tabung).
 - (3) Media *Lactose Broth* yang berada di dalam 2 tabung reaksi disiapkan sebanyak 10 ml (beri identitas tabung).
 - (4) Sampel yang berada di erlenmeyer secara perlahan dikocok agar homogen.
 - (5) Mulut tiap tabung reaksi yang akan di masukkan sampel dilewatkan di atas lampu spiritus.
 - (6) Sampel dipipet dan di masukkan ke dalam media yang berisi tabung menggunakan pipet volume sebanyak:
 - (a) 10 ml sampel ke dalam 5 tabung yang berisi *Lactose Broth Triple Strength*.
 - (b) 1 ml sampel ke dalam 1 tabung yang berisi *Lactose Broth Single Strength*.
 - (c) 0,1 ml sampel ke dalam 1 tabung yang berisi *Lactose Broth Single Strength*.
 - (7) Mulut tabung reaksi dilewatkan kembali diatas lampu spiritus.
 - (8) Tabung reaksi yang sudah di masukkan sampel ditutup menggunakan kapas.

(9) Tabung reaksi yang berisi sampel diinkubasi selama 2 x 24 jam dengan suhu 37°C.

b) Tes Penegas (*Confirmed Test*)

Apabila dari tes penduga ada yang positif, dilanjutkan tes penegas.

- (1) Ose dipijarkan diatas lampu spiritus lalu dinginkan sejenak.
- (2) Mulut tabung reaksi yang berisi hasil positif dilewatkan di atas lampu spiritus.
- (3) Tabung reaksi yang positif diambil masing-masing satu mata ose.
- (4) Ditanamkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media *Brilliant Green Lactose Bile Broth*.
- (5) Mulut tabung reaksi dilewatkan kembali di atas lampu spiritus.
- (6) Tabung reaksi ditutup dengan kapas.
- (7) Satu seri media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 44,5°C (Soemarno, 2000).

F. Pengolahan Data dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Data yang diperoleh menggunakan berdasarkan bakteri *coliform* fekal pada air minum rumah makan di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung dengan metode *Most Probable Number* (MPN) yang memenuhi atau tidak memenuhi persyaratan Permenkes RI No. 492/Menkes/Per/IV/2010 yaitu 0/100ml sampel.

2. Analisis Data

Data berupa sampel air minum rumah makan yang terkontaminasi oleh bakteri *Coliform* fekal dianalisis dengan analisa univariat yaitu dengan tabel persentase yang menggambarkan penyajian data untuk tiap variabel yaitu gambaran bakteri *Coliform* fekal pada air minum rumah makan di Kecamatan Rajabasa Kota Bandar Lampung.