

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang akan digunakan adalah penelitian deskriptif yang bertujuan untuk melihat keberadaan bakteri *Coliform* fekal pada minuman es cokelat di Kota Bandar Lampung.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang pada Mei-Juni 2024.

C. Subyek Penelitian

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah sebanyak 41 es cokelat dari pedagang pinggir jalan di Kota Bandar Lampung.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini berjumlah 41 es cokelat dari pedagang pinggir jalan yang berada di Kota Bandar Lampung.

a. Kriteria Inklusi

- 1) Pedagang yang berjualan di pinggir jalan
- 2) Pedagang yang berjualan menetap
- 3) Proses pembuatan es cokelat menggunakan *blender*
- 4) Pedagang berjualan di waktu pagi hari sampai malam hari

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Pedagang yang berjualan pada kafe
- 2) Pedagang yang berjualan tidak menetap
- 3) Proses pembuatan es cokelat tidak menggunakan *blender*
- 4) Pedagang berjualan hanya di waktu pagi hari

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan definisi operasional

Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Es coklat	Minuman es coklat yang dijual pada pedagang area pinggir jalan di Kota Bandar Lampung.	Organoleptik	Indra penglihatan: Mata, indra penciuman: Hidung, dan indra perasa: Lidah.	1. Minuman es coklat 2. Bukan minuman es coklat	Rasio
Bakteri <i>Coliform</i> fekal	Bakteri yang akan diperiksa dari es coklat pada pedagang area pinggir jalan di Kota Bandar Lampung.	Metode MPN (<i>Most Probable Number</i>)	Tabel Thomas ragam 5 1 1	1. Memenuhi syarat jika total bakteri <i>Coliform</i> fekal <1.8/100 ml sampel 2. Tidak memenuhi syarat jika total bakteri <i>Coliform</i> fekal >1.8/100 ml sampel (BPOM tahun 2019)	Interval

E. Pengumpulan Data

1. Prosedur Pengambilan Data

- a. Data yang dikumpulkan merupakan data primer yang diperoleh dengan cara melakukan pemeriksaan sampel es coklat.
- b. Melakukan permintaan izin kepada Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang untuk melakukan penelitian di Laboratorium Bakteriologi.
- c. Peneliti melakukan pengambilan sampel untuk penelitian yang dilakukan secara bertahap.
- d. Pengambilan dan pemeriksaan sampel dilakukan setiap minggu sebanyak dua kali.
- e. Data primer yang telah terkumpul disajikan dalam bentuk tabel.

2. Prosedur Identifikasi Bakteri *Coliform* fekal

a. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah tabung reaksi, *Bio Safety Cabinet* (BSC), rak tabung reaksi, batang pengaduk, spatula, neraca analitik, cawan arloji, *ice box*, *autoclave*, *hot plate*, inkubator, oven, kapas, pipet volume, erlenmeyer, pipet ukur, *vacuum pump*, tabung durham, ose, lampu spiritus, kapas, kertas label, dan spidol. Bahan-bahan yang akan digunakan yaitu sampel es cokelat, media bubuk *Lactose Broth single strength* (LBSS), Media bubuk *Lactose Broth Triple Strength* (LBTS), Media bubuk *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB), alkohol 70%, dan aquadest.

b. Prosedur Kerja

1) Sterilisasi alat

- a) Alat-alat yang akan digunakan disiapkan dalam keadaan bersih dan kering.
- b) Pipet volume dan pipet ukur dibungkus dengan kertas kopi.
- c) Alat-alat tersebut disterilisasi pada oven suhu 170°C selama 40 menit.

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

- a) Sampel yang akan diperiksa berjumlah 41 sampel sehingga dibutuhkan media bubuk *Lactose Broth* sebanyak 10,66 gram dan aquadest sebanyak 820 ml dengan total media LBSS sebanyak 82 tabung.
- b) Media bubuk *Lactose Broth* ditimbang sebanyak 10,66 gram.
- c) Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dituangkan aquadest sebanyak 820 ml.
- d) Media dipanaskan menggunakan *hot plate* sampai larut sempurna.
- e) Media *Lactose Broth* dimasukkan ke dalam 82 tabung reaksi dengan tabung durham terbalik sebanyak 10 ml dan tutup tabung reaksi menggunakan kapas.
- f) Media disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

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

- a) Sampel yang akan diperiksa berjumlah 41 sampel sehingga dibutuhkan media bubuk *Lactose Broth* sebanyak 39,975 gram dan aquadest sebanyak 1.025 ml dengan total media LBTS sebanyak 205 tabung.
- b) Media bubuk *Lactose Broth* ditimbang sebanyak 39,975 gram.
- c) Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dituangkan aquadest 1.025 ml.
- d) Media dipanaskan menggunakan *hot plate* sampai larut sempurna.
- e) Media *Lactose Broth* dituangkan ke dalam 205 tabung reaksi dengan tabung durham terbalik sebanyak 5 ml dan tutup tabung reaksi menggunakan kapas.
- f) Media disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

4) Pembuatan Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB)

- a) Sampel yang akan diperiksa berjumlah 41 sampel sehingga dibutuhkan media bubuk *Brilliant Green Lactose Bile Broth* sebanyak 57,4 gram dan aquadest sebanyak 1.435 ml dengan total media BGLB sebanyak 287 tabung.
- b) Media bubuk BGLB ditimbang sebanyak 57,4 gram.
- c) Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dituangkan aquadest sebanyak 1.435 ml.
- d) Media BGLB dituangkan ke dalam 287 tabung reaksi dengan tabung durham posisi terbalik sebanyak 5 ml dan ditutup tabung reaksi dengan kapas.
- e) Media pada *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C.

5) Rencana Pengambilan Sampel

- a) Pengambilan dan pemeriksaan sampel direncanakan seminggu dua kali.
- b) Setiap kali dilakukan pemeriksaan sebanyak 6 sampel dan sampel pada minggu terakhir sebanyak 9 sampel.

6) Cara Pengambilan Sampel

a) Pengambilan sampel dilakukan setiap pekan sebanyak dua kali pada lokasi berikut:

- (1) Pengambilan minggu pertama
 - (a) Pengambilan hari pertama: Jl. H. Komarudin, Jl. Perum Bukit Kemiling Permai
 - (b) Pengambilan hari kedua: Jl. Imam Bonjol, Jl. Panglima Polim, Jl. Purnawirawan Raya
- (2) Pengambilan minggu kedua
 - (a) Pengambilan hari pertama: Jl. Pangeran Tirtayasa, Jl. Letnan Kolonel. H. Endro Suratmin, Jl. Ryacudu, Jl. Griya Zamrud
 - (b) Pengambilan hari kedua: Jl. Hayam Wuruk, Jl. Ade Irma Suryani, Jl. Untung Suropati
- (3) Pengambilan minggu ketiga:
 - (a) Pengambilan hari pertama Jl. Sriwijaya, Jl. Cendana, Jl. Wolter Monginsidi, Jl. Pangeran Antasari, Jl. Ir. H. Juanda
 - (b) Pengambilan hari kedua: Jl. Yos Sudarso, Jl. R.E. Martadinanta, Jl. W.R. Supratman, Jl. Dr. S. Budi

7) Pemeriksaan Sampel

- a) Uji Perkiraan (*Presumptive Test*)
 - (1) Disiapkan 5 tabung reaksi yang berisi media LBTS sebanyak 5 ml.
 - (2) Lalu, siapkan 2 tabung reaksi yang telah berisi media LBSS sebanyak 10 ml.
 - (3) Setiap tabung reaksi diberi label: Nomor urut, volume, tanggal pemeriksaan.
 - (4) Dengan menggunakan pipet ukur steril diambil sampel sebanyak 10 ml lalu masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media LBTS sebanyak 5 tabung.
 - (5) Pipet sampel sebanyak 1 ml masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media LBSS sebanyak 1 tabung.
 - (6) Kemudian pipet sampel sebanyak 0,1 ml masukkan ke dalam

tabung yang berisi media LBSS sebanyak 1 tabung.

- (7) Tabung dikocok menggunakan *vortex* agar sampel dan media bercampur rata. Inkubasi pada suhu 37°C selama 2×24 jam.

Interpretasi Hasil;

(+) : Terbentuk kekeruhan pada media dan gas (gelembung udara pada tabung durham.

(-) : Jernih/jernih terbentuk gas/keruh saja

b) Uji Penegasan (*Confirmed Test*)

- (1) Setiap tabung uji perkiraan yang positif diambil 2 mata ose kemudian dimasukkan ke dalam tabung media BGLB yang berisi 5 ml.

- (2) Tabung diinkubasi suhu 44°C selama 48 jam untuk *Coliform* fekal.

Interpretasi Hasil;

(+) : Terbentuk kekeruhan pada media dan gas (gelembung udara pada tabung durham.

(-) : Jernih/jernih terbentuk gas/keruh saja

Hasil tabung BGLB yang positif dikonfirmasi pada tabel Thomas untuk menentukan indeks MPN (Soemarno, 2000).

F. Pengolahan dan Analisis Data

a. Pengolahan Data

Pengolahan data dilakukan dengan mencatat hasil pemeriksaan MPN di laboratorium yang dikonfirmasi menggunakan tabel Thomas seri 5 1 1 untuk mengetahui jumlah bakteri *Coliform* fekal pada es cokelat di Kota Bandar Lampung.

b. Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah analisis distribusi frekuensi untuk menghitung persentase sampel yang diperiksa memenuhi syarat dan tidak memenuhi syarat berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 13 Tahun 2019 yaitu 1.8/100 ml sampel.