

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Dan Rancangan Penelitian

Jenis dan rancangan penelitian ini adalah bersifat deskriptif yaitu untuk melihat bakteri *Coliform* fekal pada jus mangga yang dijual dipinggir jalan Kecamatan Rajabasa, Kemiling dan Kedaton Kota Bandar Lampung. Variabel penelitian ini adalah jus mangga.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Kecamatan Rajabasa, Kemiling dan Kedaton Kota Bandar Lampung dan penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkrang pada bulan Juni 2024.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi penelitian adalah 25 pedagang jus mangga di pinggir jalan Kecamatan Rajabasa, Kemiling dan Kedaton Kota Bandar Lampung.

2. Sampel

Sampel yang digunakan adalah seluruh populasi yang ada dan dijadikan sampel berjumlah 25 jus mangga yang dijual di pinggir jalan Kecamatan Rajabasa, Kemiling dan Kedaton Kota Bandar Lampung.

a) Kriteria Inklusi

1. Jus mangga yang dijual di area pinggir jalan Kecamatan Rajabasa, Kemiling dan Kedaton Kota Bandar Lampung.
2. Pedagang yang berjualan menetap

b) Kriteria Eksklusi

1. Jus mangga yang dijual di kafe
2. Pedagang yang berjualan tidak menetap

D. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

1. Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini adalah jus mangga yang dijual di pinggir jalan Kecamatan Rajabasa, Kemiling dan Kedaton Kota Bandar Lampung.

2. Definisi Operasional Penelitian

Tabel 3.1 Definisi Operasioanal Penelitian

No.	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Jus mangga	Jus mangga yang terbuat dari buah mangga , gula, air,es batu dan susu kental manis, yang dijual di pinggir jalan Kecamatan Rajabasa, Kemiling dan Kedaton Kota Bandar Lampung	Organaleptis	Indra penglihat: Mata, Indra penciuaman : Hidung, dan indra perasa : Lidah	Bentuk fisik : Berbau,berasa dan berwarna	Ordinal
2.	Bakteri <i>coliform</i>	Bakteri <i>Coliform</i> adalah bakteri yang akan diperiksa dan dihitung dalam jus mangga yang dijual di pinggir jalan Kecamatan Rajabasa, Kemiling dan Kedaton Kota Bandar Lampung	Metode MPN (<i>Most Probable Number</i>)	Tabel Thomas.	1. Memenuhi syarat yaitu ≤ 3 APM/ ml. 2. Tidak memenuhi syarat yaitu > 3 APM/ ml. (BPOM No.13 tahun 2019).	Ordinal

E. Pengumpulan Data

1. Prosedur Penelitian

- a. Melakukan pengajuan permohonan usulan pembuatan izin penelitian dari jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang untuk melakukan penelitian di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
- b. Disiapkan formulir pengambilan sampel yang berisi: waktu pengambilan sampel, tanggal pengambilan sampel, kode sampel dan lokasi pengambilan sampel.
- c. Teknik Pengambilan Sampel dilakukan dengan cara sebagai berikut:
 1. Siapkan *logbook* pengambilan sampel yang berisi: waktu pengambilan sampel, tanggal pengambilan sampel dan lokasi pengambilan sampel.
 2. Setiap pengambilan sampel dan pemeriksaan sampel berjumlah 6 dan dilakukan setiap 1 minggu sekali.
 - a) Pengambilan sampel pertama : Jl. Teuku Cik Ditiro Kec. Kemiling 2 sampel, Jl. Bukit Kemiling Permai Raya Kec.

Kemiling 2 sampel dan Jl. Keping, Kemiling Permai Kec. Rajabasa 1 sampel.

- b) Pengambilan sampel kedua : Jl. Keping, Kec. Rajabasa 2 sampel, Jl. Pramuka Kec. Rajabasa 1 sampel dan Jl. H. Komarudin dan Rajabasa Raya Kec. Rajabasa 2 sampel.
 - c) Pengambilan sampel ketiga : Jl. Kapten Abdul Haq No.51 Kec. Rajabasa 1 sampel dan Jl. Komaruddin Rajabasa Raya Kec. Rajabasa 4 sampel.
 - d) Pengambilan sampel keempat : Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro Kec. Kedaton 1 sampel dan Jl. H. Komarudin, Pasar Tempel Kec. Rajabasa 4 sampel .
 - e) Pengambilan sampel kelima : Jl. Bumimanti, Kp. Baru Kec. Kedaton 3 sampel dan Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro Kec Kedaton 2 sampel
3. Sampel yang sudah diambil diberi label kode sampel, waktu pengambilan dan tempat pengambilan sampel.
 4. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam *ice box* dan dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Tanjungkarang dengan memperhatikan hal-hal sebagai berikut:
 1. Sampel yang telah dibeli disimpan di dalam *ice box* untuk mencegah perubahan sifat sampel yang diambil, dikemas, dan dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
 2. Sampel harus diperiksa kurang dari 2 jam untuk mencegah kemungkinan yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Dalam waktu < 2 jam bakteri masih berada di dalam fase lag, yaitu fase adaptasi bakteri untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan baru dimana pada fase ini bakteri biasanya diperlukan waktu untuk mensintesis enzim-enzim. Apabila > 2 jam bakteri mulai memasuki fase eskponensial dimana pada fase ini bakteri membelah dengan cepat, ditandai dengan terjadinya penggandaan populasi dimana satu sel menjadi dua sel, menjadi empat sel dan

seterusnya. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi di beberapa kondisi lingkungan seperti suhu dan kelembaban udara (Hamdiyati, 2012).

2. Metode Pemeriksaan

Pemeriksaan ini dilakukan dengan metode MPN (*Most Probable Number*) ragam 5:1:1.

3. Prinsip Pemeriksaan

Proses pertumbuhan bakteri dalam media cair dilakukan dengan mengitung jumlah tabung yang menunjukkan pertumbuhan positif setelah diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu.

4. Persiapan Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan yaitu pipet ukur (0,1 mL;1,0mL;10mL), rak tabung, tabung durham, tabung reaksi, Erlenmeyer, spatula, batang pengaduk, gelas ukur, cawan arloji, ose, lampu spiritus, inkubator, autoclave, oven, hotplate, pipet controller, neraca analitik, beker glass, *ice box*, kertas kopi, benang nilon, label, spidol, kapas, handscoon, vacuum pump, korek api.

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah spiritus,, alkohol 70%, aquadest, media *Loctose Broth Triple Streng* (LBTS), media *Lactose Broth Single Streng* (LBSS), media *Brilliant Lactose Bile Broth* (BGLBB), dan sampel jus mangga.

5. Sterilisasi Alat

Batang pengaduk dan pipet ukur (10mL;1,0mL;0,1mL) yang dibungkus dengan kertas kopi kemudian dimasukkan kedalam oven

untuk di sterilkan dengan suhu 160°C selama 60 menit. setelah selesai, alat tersebut siap digunakan.

6. Prosedur Kerja Pemeriksaan Metode MPN

1) Pembuatan Media

Pembuatan media terbagi menjadi 2 yaitu *Lactose Broth* dan *Brilliant Green* untuk setiap pemeriksaan.

(A) Media *Lactose Broth Single Strength* (LBSS)

1. Sampel yang akan diperiksa menggunakan ragam 5:1:1.
2. Timbang sebanyak 1,56 gr serbuk media *Lactose Broth*.
3. Kemudian timbang aquadest sebanyak 120 ml, setelah itu masukan media LB yang telah ditimbang dan aquadest kedalam Erlenmeyer lalu dihomogenkan.
4. Kemudian dipanaskan diatas hot plate sampai larut sempurna.
5. Tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dimasukkan media *Lactose Broth* yang telah dilarutkan dimana setiap tabung berisi 10 ml dan tabung reaksi ditutup dengan kapas.
6. Tabung reaksi yang telah berisi media *Lactose Broth* disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C yang selama 15 menit
7. Setelah disterilkan di autoclave dalam waktu 15 menit, media tersebut dikeluarkan, didiamkan samapi dinginkan dan media siap di gunakan. (Atlas, 2010)

(B) Media *Lactose Broth Triple Streng* (LBTS)

1. Sampel yang akan diperiksa menggunakan ragam 5:1:1.
2. Timbang sebanyak 5,85 gr serbuk media *Lactose Broth*.
3. Kemudian timbang aquadest sebanyak 150 ml, setelah itu masukan media LB yang telah ditimbang dan aquadest kedalam Erlenmeyer lalu dihomogenkan.
4. Setelah media dihomogenkan, media dipanaskan di atas hot plate sampai larut sempurna.
5. Tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dimasukkan media *Lactose Broth* yang telah dilarutkan dimana setiap tabung berisi 5 ml dan tabung reaksi ditutup dengan kapas.
6. Tabung reaksi yang telah berisi media *Lactose Broth* disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
7. Setelah disterilkan di autoclave dalam waktu 15 menit, media tersebut dikeluarkan, didiamkan sampai dingin dan media siap di gunakan. (Atlas, 2010)

(C) Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB)

1. Sampel yang akan diperiksa ragam 5:1:1.
2. Timbang sebanyak 9,5 gr serbuk media *Brilliant Green Lactose Bile Broth*.
3. Kemudian timbang aquadest sebanyak 210 ml, setelah itu masukan media BGLBB yang telah ditimbang dan aquadest ke dalam Erlenmeyer lalu di homogenkan.
4. Setelah media dihomogenkan, media di larutkan di atas hot plate sampai larut sempurna.
5. Tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dimasukkan media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* yang telah di larutkan, dimana setiap tabung berisi 10 ml dan ditutup dengan kapas.
6. Tabung yang telah berisi media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
7. Setelah disterilkan diautoclave dalam waktu 15 menit, media tersebut dikeluarkan, didiamkan sampai dingin dan media siap digunakan (Atlas, 2010).

1) Persiapan Sampel Untuk Pemeriksaan

1. Sampel yang telah diambil, dikeluarkan dari dalam *ice box*.
2. Sampel kemudian dihomogenkan.
3. Sampel yang telah dihomogenkan dimasukan kedalam bio safety cabinet untuk meminimalisir kontaminasi pada sampel
4. Atas sampel atau sekitar bagain sampel yang akan di gunakan saat pengambilan sampel di steril menggunakan alkohol.
5. Kemudian sampel dipipet dengan pipet steril yang telah disiapkan

2) Pemeriksaan Sampel

Pemeriksaan sampel dilakukan dengan dua tes yaitu tes Penduga (*Persumtive Test*) dan Tes Penegas (*Confirmed Test*).

(1) Tes Pendugaan (*Persumtive Test*)

- a) Siapkan tabung reaksi yang berisi *Lactose Broth* dengan ragam 5:1:1.

- b) Pada media *Lactose Broth* disiapkan 5 tabung reaksi yang berisi media *Lactose Broth Triple Strength* sebanyak 5 ml kemudian beri identitas menggunakan label pada tabung.
- c) Pada media *Lactose Broth* disiapkan 2 tabung reaksi yang berisi media *Lactose Broth Single Strength* sebanyak 10 ml kemudian beri identitas menggunakan label pada tabung.
- d) Sampel di homogenkan, kemudian ambil sampel dengan pipet steril yang telah disiapkan dan masukkan sampel kedalam tabung yang sudah disusun.
- e) Sampel yang dipipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, berisikan media dengan volume :
1. Sampel sebanyak 10 ml dimasukkan kedalam 5 tabung yang berisi media *Lactose Broth Triple Strength*.
 2. Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam 1 tabung yang berisi media *Lactose Broth Single Strength*.
 3. Sampel sebanyak 0,1 ml dimasukkan kedalam 1 tabung yang berisi media *Lactose Broth Single Strength*.
- f) Sampel yang telah dimasukkan ke dalam tabung, kemudian mulut tabung reaksi dilewatkan diatas lampu spiritus agar tidak terkontaminasi lalu ditutup menggunakan kapas,
- g) Sampel yang telah dimasukkan kedalam tabung kemudian dihomogenkan secara perlahan agar sampel dan media bercampur rata dan diinkubasi pada suhu 44°C selama 48 jam.
- h) Interpretasi Hasil :
- 1) Positif (+) : Keruh, dan terbentuk gas.
 - 2) Negatif (-) : Jernih tidak terbentuk gas, jernih terbentuk gas, dan keruh tetapi tidak terbentuk gas (Pradika, 2014).
- i) hasil positif pada tes penduga, maka dilanjutkan tes penegasan.
- (2) Tes Penegasan (*Confirmed Test*)
1. Siapkan tabung reaksi yang berisi sampel positif.
 2. Ose dipanaskan terlebih dahulu diatas lampu spiritus kemudian di diamkan sejenak agar ose dingin.

3. Mulut tabung reaksi yang ditutup dengan kapas dibuka.
4. Sampel positif dalam tabung reaksi diambil dua mata ose.
5. Kemudian ditanamkan kedalam tabung reaksi yang berisi media *Brilliant Green Lactose Bile Borth* 5 ml.
6. Kemudian tabung reaksi di tutup dengan kapas dan diinkubasi pada suhu 44°C selama 48 jam.
7. Interpretasi Hasil :
 - a) Positif (+) : Keruh dan terbentuk gas.
 - b) Negatif (-) : Jernih tidak terbentuk gas, jernih terbentuk gas, dan keruh tetapi tidak terbentuk gas(Pradika, 2014).
8. Hasil tabung BGLB ynag menunjukkan hasil positif, selanjutnya dikonfirmasi menggunakan tabel MPN Thomas ragam 5:1:1.

F. Pengolahan Dan Analisis Data

a) Pengolahan Data

Data yang didapat berupa data primer. Data diolah dengan mencatat jumlah bakteri *coliform* pada sampel jus mangga yang dijual di Kecamatan Rajabasa, Kemiling dan Kedaton Kota Bandar Lampung dengan metode MPN (*Most Probable Number*).

b) Analisis Data

Analisis data menggunakan analisa univariat, yang dibuat dalam bentuk tabel untuk menghitung persentase jus mangga yang dijual di Kecamatan Rajabasa, Kemiling dan Kedaton Kota Bandar Lampung yang memenuhi syarat dan tidak memenuhi syarat berdasarkan BPOM No.13 Tahun 2019 dan disertakan tabel