

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah deskriptif untuk memperoleh gambaran bakteri *Coliform Fecal* pada minuman es kopi di *Cafe* Kecamatan Kedaton Kota Bandar Lampung.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel minuman es kopi dilakukan di *Cafe* Kecamatan Kedaton Kota Bandar Lampung, dan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Mei-Juni 2024.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi sampel pada penelitian ini adalah seluruh minuman es kopi yaitu 22 sampel yang dijual di *Cafe* Kecamatan Kedaton Kota Bandar Lampung.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah minuman es kopi yang dijual di *Cafe* yang berada di Kecamatan Kedaton Kota Bandar Lampung, dengan jumlah sampel yaitu sebanyak 22 sampel.

D. Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini adalah minuman es kopi yang dijual di *Cafe* Kecamatan Kedaton Kota Bandar Lampung menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN).

2. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil ukur	Skala
Bakteri <i>Coliform Fecal</i>	Adalah bakteri yang terdapat pada minuman es kopi menggunakan metode MPN (<i>Most Probable Number</i>).	Metode MPN (<i>Most Probable Number</i>)	BPOM RI Nomor 13 Tahun 2019.	Berdasarkan BPOM RI Nomor 13 Tahun 2019: 1. Memenuhi syarat jika $\leq 1,8$ APM/100 ml 2. Tidak memenuhi syarat jika $> 1,8$ APM/100 ml	Ordinal
Minuman Es Kopi	Minuman yang berasal dari kopi yang disajikan dengan ditambahkan es batu yang dijual di <i>Cafe</i> Kecamatan Kedaton.	Organoleptis	Indra penciuman: Hidung, Indra perasa: Lidah.	Tercium aroma khas kopi, mengandung rasa kopi	Ordinal

E. Pengumpulan Data

1. Prosedur Pengajuan 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: kode sampel, lokasi pengambilan sampel, tanggal pengambilan, waktu pengambilan dan waktu sampai di laboratorium.
- c. Diperiksa setiap kali melakukan pemeriksaan yaitu seminggu sekali, dengan banyaknya sampel yang akan diperiksa setiap kali melakukan pemeriksaan yaitu 2-6 sampel es kopi.
- d. Sampel diambil dengan cara berikut:
 - 1) Dilakukan pengambilan sampel pertama yaitu, Jl. Sultan Agung (2 sampel dijalan yang sama), Jl. ZA. Pagar Alam (2 sampel dijalan yang sama). Keseluruhan sampel diambil sekitar pukul 13.54-15.03, kemudian sampel langsung dibawa ke Laboratorium Bakteriologi.

- 2) Pengambilan sampel kedua yaitu, Jl. Sultan Agung (1 sampel), Jl. Teuku Umar No.1 (2 sampel dijalan yang sama), Jl. Teuku Umar No.9 (1 sampel), Jl. ZA. Pagar Alam No.115 (1 sampel). Keseluruhan sampel diambil pada pukul 11.44-12.50, kemudian sampel langsung dibawa ke Laboratorium Bakteriologi.
- 3) Pengambilan sampel ketiga yaitu, Jl. ZA Pagar Alam (1 sampel, pegulangan), Jl. Sultan Agung (1 sampel). Keseluruhan sampel diambil pada pukul 11.37-12.20, kemudian sampel langsung dibawa ke Laboratorium Bakteriologi.
- 4) Pengambilan sampel keempat yaitu, Jl. Pahlawan No.33 (1 sampel), Jl. Teuku Umar No.19 (1 sampel), Jl. Tupai No.20 (1 sampel), Jl. Cendana, Jl. Soekardi Hamdani (1 sampel), Jl. Dakwah No.12 (1 sampel). Keseluruhan sampel diambil pada pukul 09.20-10.30, kemudian sampel langsung dibawa ke Laboratorium Bakteriologi.
- 5) Pengambilan sampel kelima yaitu, Jl. Teuku Umar No.18 (1 sampel), Jl. ZA. Pagar Alam No.59 B (1 sampel), Jl. Teuku Umar No.24-F (1 sampel), Jl. Perdana Jaya 18 (1 sampel), Jl. Danau Toba No.19 (1 sampel), Jl. Sultan Agung No.17 (1 sampel). Keseluruhan sampel diambil pada pukul 09.20-10.30, kemudian sampel langsung dibawa ke Laboratorium Bakteriologi.

2. Metode Pemeriksaan

Penelitian ini menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) dengan ragam pengenceran 5:1:1

3. Persiapan Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan yaitu pipet ukur, rak tabung, tabung reaksi, tabung durham, batang pengaduk, *beaker glass*, gelas ukur, *aluminium foil*, erlenmeyer, *vacuum pump*, ose, lampu *spirtus*, *hot plate*, neraca analitik, vortex, kapas *alcohol*, kertas kopi, kertas label, spidol, *iced cool box*, oven, *incubator*, *autoclave*.

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel es kopi, LBSS (*Lactose Broth Single Strength*), LBTS (*Lactose Broth Triple Strength*), BGLBB (*Brilliant Green Lactose Bile Broth, Aquadest*).

5. Prosedur Kerja

a. Sterilisasi Alat

- 1) Sterilisasi dilakukan dengan metode kering menggunakan alat oven, alat yang terbuat dari kaca oven diatur pada suhu 160°C.
- 2) Alat dicuci hingga bersih setelah itu dikeringkan,
- 3) Kemudian dibungkus alat yang telah bersih tadi menggunakan kertas kopi,
- 4) Dimasukkan kedalam oven dengan suhu 160°C selama 2 jam, kemudian setelah selesai keluarkan alat-alat tersebut dari oven (Muklis & Rini, 2019).

b. Cara Pembuatan Media

- 1) Pembuatan media *Lactose Broth Single Strength* (LBSS)
 - a) Menimbang media *Lactose Broth* sebanyak 5,72 gr berupa serbuk.
 - b) Kemudian dimasukkan media kedalam erlenmeyer dan ditambahkan 440 ml *aquadest* lalu diaduk hingga homogen.
 - c) Dimasukkan media *Lactose Broth* ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml yang sudah berisi tabung durham dengan posisi terbalik dan tabung reaksi ditutup menggunakan kapas.
 - d) Menggunakan alat *autoclave* media *Lactose Broth* yang sudah berada dalam tabung reaksi, disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.
 - e) Dikeluarkan media setelah 15 menit proses sterilisasi di *autoclave*, kemudian didinginkan lalu media siap untuk digunakan.
- 2) Pembuatan media *Lactose Broth Triple Strength* (LBTS)
 - a) Ditimbang media *Lactose Broth* sebanyak 21,45 gr berupa serbuk.
 - b) Kemudian dimasukkan media kedalam erlenmeyer lalu ditambahkan 550 ml *aquadest* lalu diaduk hingga homogen.

- c) Dimasukkan media *Lactose Broth* ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml yang sudah berisi tabung durham dengan posisi terbalik dan tabung reaksi ditutup menggunakan kapas.
 - d) Menggunakan alat *autoclave* media *Lactose Broth* yang sudah berada dalam tabung reaksi, disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.
 - e) Dikeluarkan media setelah 15 menit proses steriliasi di *autoclave*, kemudian didinginkan lalu media siap untuk digunakan.
- 3) Pembuatan media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB)
- a) Ditimbang media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* sebanyak 30,8 gr berupa serbuk.
 - b) Kemudian dimasukkan media kedalam erlenmeyer dan ditambahkan 770 ml *aquadest* lalu diaduk hingga homogen.
 - c) Dimasukkan media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml yang hanya berisi tabung durham dengan posisi terbalik dan tabung reaksi ditutup menggunakan kapas..
 - d) Menggunakan alat *autoclave* media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* yang sudah berada dalam tabung reaksi, disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.
 - e) Dikeluarkan media setelah 15 menit proses steriliasi di *autoclave*, kemudian didinginkan dan media siap digunakan (Muklis & Rini, 2019).
- c. Persiapan Sampel
- 1) Sampel yang telah dibeli sebelumnya diberi label yang berisi nomor kode serta tanggal pengambilan dan jam pengambilan lalu dimasukkan kedalam *ice cool box*, dengan waktu kurang dari 2 jam (untuk mencegah terjadinya kemungkinan yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan) sampel harus sudah sampai di Laboratorium Bakteriologi Analis Kesehatan.
 - 2) Dikeluarkan sampel yang sudah dibeli dari *ice cool box*.
 - 3) Kemudian sampel dikocok secara perlahan hingga tercampur rata/homogen.

4) Sebelum diperiksa, mulut cup sampel dibersihkan dengan menggunakan kapas alkohol 70%. Perlakuan ini dilakukan untuk seluruh sampel dengan cara yang sama.

d. Prosedur Pemeriksaan Sampel

Pemeriksaan sampel dengan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) dengan ragam 5 1 1, pada penelitian ini dilakukan tahap pemeriksann yaitu Tes Penduga (*Presumptive Test*), dan Tes Penegasan (*Confirmed Test*).

1) Tes Pendugaan (*Presumptive Test*)

- a) Penanaman dilakukan dengan ragam 5:1:1
- b) Sebelumnya tabung harus sudah diberi tanda angka 1-7 agar tidak terjadi kesalahan pada saat memasukkan sampel.
- c) Disiapkan pembanding yang hanya berisi sampel didalam tabung
- d) Kemudian sampel yang telah disiapkan dipipet menggunakan pipet volume steril:
 - (1) Dimasukkan sampel kedalam 5 tabung sebanyak 10 ml
 - (2) Dimasukkan sampel kedalam 1 tabung sebanyak 1 ml
 - (3) Dimasukkan sampel kedalam 1 tabung sebanyak 0,1 ml
- e) Sampel tadi dimasukkan kedalam tabung reaksi yang sudah berisi tabung durham terbalik sebelumnya.
- f) Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam.
- g) Interpretasi Hasil:

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

Negatif (-) : Jernih atau keruh tidak terbentuk gas.
- h) Jika tidak ada tabung yang menunjukkan hasil positif, maka langsung dibuat hasil kesimpulan.
- i) Dilanjutkan pada tes penegasan jika didapatkan hasil positif.

2) Tes Penegasan (*Confirmed Test*)

- a) Tiap-tiap tabung tes penduga yang positif diambil 2 mata ose kedalam tabung reaksi yang berisi 5 ml media *Brilliant Green Lactose Bile*

Broth untuk *Colifecal* ditanam pada suhu 44,5°C selama 24-48 jam, kemudian hasil dibaca.

Interpretasi Hasil:

Positif (+) : Terbentuk gas dalam tabung durham dan terlihat kekeruhan dalam tabung.

Negatif (-) : Jernih atau keruh tidak terbentuk gas.

b) Baca hasil, jumlah tabung yang positif di konfirmasi pada tabel *Thomas*, untuk menentukan indeks MPN.

c) Menuliskan hasil dan membuat kesimpulan (Dewi & Gusnita, 2019).

Interpretasi Hasil:

(1) Memenuhi syarat menurut Peraturan BPOM RI Nomor 13 Tahun 2019 yaitu $\leq 1,8$ APM/100 ml.

(2) Tidak memenuhi syarat menurut Peraturan BPOM RI Nomor 13 Tahun 2019 yaitu $> 1,8$ APM/100 ml.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Data yang diolah diperoleh dari hasil pemeriksaan jumlah bakteri *Coliform Fecal* pada minuman es kopi di *Cafe* Kecamatan Kedaton Kota Bandar Lampung menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) di Laboratorium yang dikonfirmasi dengan tabel *Thomas* yang disesuaikan dengan seri tabung, selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel kemudian di narasikan.

2. Analisis Data

Data diolah dengan menggunakan analisis univariat, untuk mendapatkan persentase minuman es kopi di *Cafe* Kecamatan Kedaton Kota Bandar Lampung yang memenuhi syarat menurut Peraturan BPOM RI Nomor 13 Tahun 2019 yaitu $\leq 1,8$ APM/100 ml dan tidak memenuhi syarat menurut Peraturan BPOM RI Nomor 13 Tahun 2019 yaitu $> 1,8$ APM/100 ml.