

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis dan desain penelitian ini yaitu bersifat deskriptif yaitu tentang analisa bakteri *Coliform Fecal* pada minuman es berperisa rasa jeruk. Variabel penelitian ini adalah jumlah bakteri *Coliform Fecal* metode *Most Probable Number* (MPN) pada minuman es berperisa rasa jeruk yang dijual di sekitar UIN Raden Intan Lampung.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel minuman es berperisa rasa jeruk akan dilakukan pada penjual minuman es berperisa rasa jeruk yang dijual di sekitar UIN Raden Intan Lampung. Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Tanjung Karang.

2. Waktu Penelitian

Penelitian sampel minuman es berperisa rasa jeruk ini akan dilaksanakan pada bulan Juli 2024.

C. Populasi dan Sampel/Subyek Penelitian

1. Populasi

Populasi penelitian ini yaitu seluruh minuman es berperisa rasa jeruk yang dijual di sekitar UIN Raden Intan Lampung.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah minuman es berperisa rasa jeruk yang dijual di sekitar UIN Raden Intan Lampung, dengan jumlah sebanyak 27 sampel.

D. Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel

Variabel pada penelitian ini adalah minuman es berperisa rasa jeruk yang dijual di sekitar UIN Raden Intan Lampung menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*).

2. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala ukur
Minuman es berperisa rasa jeruk	Minuman es berperisa rasa jeruk kemasan sachet yang dilarutkan menggunakan air dan es batu yang dijual di sekitar UIN Raden Intan Lampung Tahun 2024.	Organoleptis	Indra Penglihatan	Minuman es berperisa rasa jeruk: 1. Minuman es berperisa rasa jeruk 2. Bukan minuman es berperisa rasa jeruk	Ordinal
Bakteri <i>Escherichia coli</i>	Pemeriksaan bakteri <i>Escherichia coli</i> pada sampel minuman es berperisa rasa jeruk menggunakan metode MPN.	Metode MPN (<i>Most Probable Number</i>)	Tabel Thomas Ragam 5 1 1	1. Memenuhi syarat jika bakteri <i>Escherichia coli</i> <3 APM/100 ml. 2. Tidak memenuhi syarat jika bakteri <i>Escherichia coli</i> <3 APM/100 ml. (BPOM RI no 13 tahun 2019).	Ordinal

E. Pengumpulan Data

1. Prosedur Penelitian

- Data diperoleh dengan mengajukan usulan pembuatan izin penelitian ke jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjung Karang.
- Setelah mendapatkan surat izin penelitian, peneliti mulai mempersiapkan formulir pengambilan sampel yang berisi : kode sampel, tanggal dan waktu pengambilan, serta lokasi pengambilan sampel.
- Peneliti melakukan pengambilan sebanyak 5 sampel minuman es berperisa rasa buah jeruk di sekitar UIN Raden Intan Lampung yang dilakukan secara bertahap setiap kali pengujian.

- d. Masing-masing sampel minuman es berperisa rasa buah jeruk yang telah diberi label dalam plastik yg di staples lalu dimasukkan ke dalam ice box/termos es, kemudian dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjung Karang.
- e. Teknik pengambilan sampel dilakukan selama \pm 10 menit dari warung pertama ke warung kedua dan seterusnya dengan cara sebagai berikut:
 - 1) pengambilan sampel pertama dilakukan di Jl. Pulau Sebesi diambil sebanyak 5 sampel yaitu Warung 1, warung 2, warung 3, warung 4, dan warung 5.
 - 2) Pengambilan sampel kedua dilakukan di Jl. Pulau Sebesi diambil sebanyak 3 sampel yaitu warung 6, warung 7, warung 8, dan di Jl. Endro Suratmin diambil sebanyak 2 sampel yaitu warung 9 dan warung 10.
 - 3) Pengambilan sampel ketiga dilakukan di Jl. Endro Suratmin diambil sebanyak 5 sampel yaitu warung 11, warung 12, warung 13, warung 14, warung 15.
 - 4) Pengambilan sampel keempat dilakukan di Jl. Endro Suratmin diambil sebanyak 2 sampel yaitu warung 16 dan warung 17. Di Jl. Pandawa Raya diambil sebanyak 4 sampel yaitu warung 18, warung 19, warung 20, warung 21.
 - 5) Pengambilan sampel kelima dilakukan di Jl. Pandawa Raya diambil sebanyak 4 sampel yaitu warung 22, warung 23, warung 24, warung 25, dan di Jl. Endro Suratmin diambil sebanyak 2 sampel yaitu warung 26, dan Warung 27. Kemudian sampel langsung dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjung Karang.

2. Metode Pemeriksaan

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

3. Persiapan Alat

a. Alat

Alat yang digunakan adalah *biological safety cabinet* (BSC), neraca analitik, oven, inkubator, *autoclave*, rak tabung, tabung reaksi, tabung durham, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, aluminium foil, batang pengaduk, pipet ukur, cawan arloji, spatula, vacuum pump, hotplate, ose, vortex, lampu spiritus, kapas alkohol, *ice cool box*, kertas kopi, benang nilon, kertas label, spidol.

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel minuman es berperisa rasa jeruk, media LBSS (*Lactose Broth Single Strength*), media LBTS (*Lactosa Broth Triple Strength*), media BGLB (*Brilliant Green Lactose Bile Broth*), media EMBA (*Eosin Methylen Blue Agar*), media SIM (*Sulfide Indole Motility*), media SC (*Simmons Cytrate*), media MRVP (*Methyl Red–Voges Proskauer*) dan aquadest.

4. Sterilisasi Alat

- a) Siapkan Oven dan alat gelas bersih dan kering yang akan digunakan.
- b) Bagian mulut erlenmeyer dan tabung reaksi ditutup menggunakan kapas dan dilapisi aluminium foil kemudian masing-masing alat dibungkus dengan kertas kopi dan menggunakan benang nilon.
- c) Susun seluruh alat ke dalam oven dan sterilkan pada suhu 160°C selama 60 menit.
- d) Setelah selesai keluarkan dan buka bungkus agar dingin, alat siap digunakan.

5. Pembuatan Media *Lactose Broth Single Strength* (LBSS)

- a) Timbang serbuk media *Lactose Broth* sebanyak 1,3 gr.
- b) Masukkan media ke dalam erlenmeyer dan tambahkan sebanyak 100 ml aquadest secara perlahan lalu homogenkan.
- c) Masukkan media *Lactose Broth* yang sudah homogen sebanyak 10 ml ke dalam 2 tabung reaksi yang terdapat tabung durham posisi terbalik dan ditutup kapas.
- d) Atur suhu dan waktu sterilisasi autoclave suhu 121°C selama 15 menit.

- e) Setelah selesai, keluarkan dan dinginkan, media siap digunakan (Atlas, 2010).

6. Pembuatan Media *Lactose Broth Triple Strength* (LBTS)

- a) Timbang serbuk media *Lactose Broth* sebanyak 4,875 gr.
- b) Masukkan Media ke dalam erlenmeyer dan tambahkan sebanyak 125 ml aquadest secara perlahan lalu homogenkan.
- c) Masukkan media *Lactose Broth* yang telah homogen sebanyak 5 ml ke dalam 5 tabung reaksi yang terdapat tabung durham posisi terbalik dan ditutup kapas.
- d) Atur suhu dan waktu sterilisasi autoclave suhu 121°C selama 15 menit.
- e) Setelah selesai keluarkan dan dinginkan, media siap digunakan (Atlas, 2010).

7. Pembuatan Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB)

- a) Timbang serbuk media BGLB (*Brilliant Green Lactose Bile Broth*) sebanyak 7 gr.
- b) Masukkan media ke dalam erlenmeyer dan tambahkan sebanyak 175 ml aquadest secara perlahan lalu homogenkan.
- c) Masukkan media tersebut sebanyak 5 ml ke dalam 7 tabung reaksi yang terdapat tabung durham posisi terbalik dan ditutup kapas.
- d) Atur suhu dan waktu sterilisasi autoclave suhu 121°C selama 15 menit.
- e) Setelah selesai keluarkan dan dinginkan, media siap digunakan (Atlas, 2010).

8. Persiapan Sampel

- a) Seluruh sampel yang telah diambil, dikeluarkan dari kotak *ice cool box*.
- b) Kocok secara perlahan masing-masing sampel hingga homogen.
- c) Sterilkan masing-masing mulut plastik sampel dengan kapas alkohol dan dilewatkan diatas api spiritus sekilas supaya terhindar dari kontaminasi.
- d) Sampel dalam plastik dimasukkan ke dalam erlenmeyer steril sebanyak ±100 ml kemudian lewatkan mulut erlenmeyer di atas lampu spiritus.
- e) Mulut erlenmeyer ditutup kapas yang dilapisi aluminium foil.

9. Pemeriksaan Sampel

Pemeriksaan sampel dilakukan dengan dua pengujian yaitu Tes Penduga (Presumptive Test) dan Tes Penegas (Confirmed Test).

a) Tes Penduga (Presumptive Test).

- (1) Siapkan media *Lactose Broth* dalam 7 tabung reaksi membentuk ragam 5:1:1.
- (2) Pada 5 tabung reaksi disiapkan media *Lactose Broth* sebanyak 5 ml (beri identitas tabung).
- (3) Pada 2 tabung reaksi disiapkan media *Lactose Broth* sebanyak 10 ml (beri identitas tabung).
- (4) Sampel dalam erlenmeyer dikocok perlahan sehingga homogen.
- (5) Lewatkan di atas lampu spiritus masing-masing mulut tabung reaksi yang akan di masukkan sampel.
- (6) Pipet sampel dan masukkan ke dalam tabung yang berisi media menggunakan pipet volume sebanyak:
 - (a) Pipet sebanyak 10 ml sampel ke dalam 5 tabung yang berisi media *Lactose Broth Triple Strength*.
 - (b) Pipet sebanyak 1 ml sampel ke dalam 1 tabung yang berisi media *Lactose Broth Single Strength*.
 - (c) Pipet sebanyak 0,1 ml sampel ke dalam 1 tabung yang berisi media *Lactose Broth Single Strength*.
- (7) Lewatkan kembali di atas lampu spiritus masing-masing mulut tabung reaksi.
- (8) Tutup kapas tabung reaksi yang sudah berisi sampel.
- (9) Inkubasi tabung reaksi yang berisi sampel tersebut dengan suhu 37°C selama 2 x 24 jam.
- (10) Pembacaan hasil :

Positif (+) : Jika pada tabung terjadi keruh, dan berbentuk gas (gelembung udara) pada tabung Durham.

Negatif (-) : Jika pada tabung jernih, jernih terbentuk gas, atau keruh saja.

(11) Apabila hasil tabung positif, maka dilanjutkan ke tes penegasan (Soemarno, 2000).

b) Tes Penegas (Confirmed Test)

Apabila didapatkan dari tes penduga terdapat yang positif, dilanjutkan ke tes penegas.

(1) Ose dipanaskan hingga pijar diatas api spirtus lalu dinginkan sejenak.

(2) Masing-masing mulut tabung reaksi hasil positif Lewatkan di atas api spirtus.

(3) Setiap tabung reaksi yang positif diambil sebanyak satu mata ose.

(4) Ditanam pada media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* dalam tabung reaksi.

(5) Lewatkan kembali mulut tabung reaksi di atas api spirtus.

(6) Tutup tabung reaksi dengan kapas.

(7) Inkubasi satu seri media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* dengan suhu 37°C selama 48 jam (Soemarno, 2000).

(8) Interpretasi hasil :

Positif (+) : Jika pada tabung terjadi kekeruhan dan terbentuk gas (gelembung udara) pada tabung durham.

Negatif (-) : Jika pada tabung jernih, jernih terbentuk gas, atau keruh saja.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan jumlah bakteri *Escherichia coli* metode *Most Probable Number* (MPN) pada minuman es berperisa rasa jeruk yang dijual di sekitar UIN Raden Intan Lampung berupa data primer yang kemudian dikonfirmasi dengan tabel *Thomas* yang disesuaikan dengan seri tabung yang digunakan dan disajikan dalam bentuk tabel yang dinarasikan.

2. Analisis Data

Analisis data pada sampel minuman es berperisa rasa jeruk yang dijual di sekitar UIN Raden Intan Lampung diolah dengan analisa

univariat, yaitu untuk mendapatkan persentase minuman es berperisa rasa jeruk yang dijual di sekitar UIN Raden Intan Lampung yang memenuhi syarat yaitu ≤ 3 APM /ml dan tidak memenuhi syarat yaitu > 3 APM/ml BPOM RI no 13 tahun 2019 tentang batas maksimal cemaran mikroba dalam pangan olahan.

Rumus perhitungan persentase sampel :

$$\frac{\text{Jumlah sampel yang tidak memenuhi syarat}}{\text{Jumlah sampel yang diuji}} \times 100$$

Tabel 3.2 Perhitungan Jumlah Bakteri

Kode Sampel	Jumlah Tabung (+) Pada Penanaman			Indeks MPN per 100 ml	Ket
	5x10 ml	1x1 ml	1x0,1 ml		

Keterangan :

Mengacu pada BPOM RI No 13 Tahun 2019

MS : Memenuhi syarat

TMS : Tidak memenuhi syarat