

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain kuantitatif dengan pendekatan analitik *cross-sectional* dan deskriptif, dimana data mengenai faktor - faktor yang berhubungan dengan higiene sanitasi makanan kontaminasi E coli dikumpulkan pada satu waktu tertentu.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Lokasi penelitian ini yaitu di Wilayah Kerja Balai Kekarantinaan Kelas I Panjang yakni Pelabuhan Bakauheni.

2. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Juni 2025.

C. Subyek Penelitian

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah seluruh Tempat Pengelolaan Pangan (TPP) di wilayah kerja Balai Kekarantinaan Kelas Pelabuhan Bakauheni sejumlah 30 TPP.

2. Sampel

Sampel ditentukan dengan menggunakan metode *total sampling* seluruh Tempat Pengelolaan Pangan (TPP) di wilayah kerja Balai Kekarantinaan Kelas IPanjang Pelabuhan Bakauheni sejumlah 30 TPP.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Independen (x)

- a. Perilaku Penjamah Pangan
- b. Peralatan makanan

c. Keberadaan Vektor

d. Pengelolaan Air Bersih (variabel deskriptif)

2. Variabel Dependen (Y)

Kontaminasi bakteri patogen *E. coli* pada TPP (data sekunder dari hasil uji laboratorium)

E. Hipotesis

1. Hipotesis Alternatif (H_1)

Terdapat hubungan antara perilaku penjamah makanan dengan kontaminasi bakteri patogen *E. coli* pada Tempat Pengelolaan Pangan di Wilayah Kerja Balai Kekarantinaan Kesehatan Kelas I Panjang Provinsi Lampung tahun 2025.

F. Definisi Operasional

Tabel 3.1

Variabel	Definisi Operasional	Indikator	Keterangan	Kategori untuk Analisis Bivariat
Kontaminasi Bakteri <i>E.coli</i>	Keberadaan bakteri patogen <i>E. coli</i> pada makanan yang diuji di TPP berdasarkan hasil laboratorium	Hasil uji laboratorium	Positif / Negatif	Positif / Negatif
Perilaku Penjamah Makanan (X1)	Praktik kebersihan yang dilakukan oleh penjamah makanan dalam mengolah dan menyajikan makanan	1. Mencuci tangan sebelum dan sesudah mengolah makanan 2. Menggunakan sarung tangan atau alat bantu saat menangani makanan 3. Menutup makanan setelah dimasak 4. Menggunakan pakaian kerja yang bersih 5. Tidak merokok atau makan saat mengolah makanan	Ya, bila memenuhi syarat Tidak, bila tidak memenuhi syarat	Baik jika mendapatkan score ≥ 3 , Kurang Baik Jika mendapatkan score ≤ 3 Cara Ukur : Observasi Alat Ukur : Check List

Peralatan Makan (X2)	Kondisi kebersihan dan keamanan peralatan makan yang digunakan dalam proses penyajian makanan	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pencucian peralatan dengan sabun dan air mengalir 2. Penyimpanan peralatan makan di tempat tertutup 3. Penggunaan peralatan dalam kondisi tidak berkarat atau rusak 4. Pemisahan alat mentah dan matang 5. Penggunaan lap atau serbet yang bersih 	<p>Ya, bila memenuhi syarat</p> <p>Tidak, bila tidak memenuhi syarat</p>	<p>Baik jika mendapatkan score ≥ 3, Kurang Baik Jika mendapatkan score ≤ 3</p> <p>Cara Ukur : Observasi Alat Ukur : Check List</p>
Keberadaan Vektor (X3)	Keberadaan serangga atau hewan yang dapat menjadi sumber kontaminasi di lingkungan TPP	<ol style="list-style-type: none"> 1. Adanya alat di sekitar area penyajian 2. Adanya kecoa di dapur atau area pengolahan 3. Adanya tikus atau jejaknya di sekitar TPP 4. Kebersihan tempat sampah dan sistem pembuangannya 5. Frekuensi pembersihan area TPP 	<p>Ya, bila memenuhi Syarat</p> <p>Tidak, Bila tidak memenuhi syarat</p>	<p>Baik jika mendapatkan score ≥ 3, Kurang Baik Jika mendapatkan score ≤ 3</p> <p>Cara Ukur : Observasi Alat Ukur : Check List</p>

Tabel 3.1

G. Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian berupa kuesioner form checklist yang diisi saat melakukan pengamatan langsung ke TPP. Sedangkan untuk variabel kontaminasi e.coli data didapatkan dari data sekunder hasil pengujian laboratorium.

H. Teknik Pengumpulan data

1. Data Primer

Dikumpulkan melalui observasi langsung menggunakan form kuesioner yang menilai perilaku penjamah makanan, kebersihan peralatan makan, dan keberadaan vektor

I. Teknik Analisis Data

1. Analisis Univariat:

Mendeskripsikan karakteristik responden dan distribusi jawaban kuesioner dalam bentuk tabel dan persentase.

2. Analisis Bivariat:

Menguji hubungan antara faktor-faktor yang berhubungan dengan kontaminasi bakteri patogen E. coli menggunakan uji **Chi-Square**.

3. Deskriptif

Mendeskripsikan hasil pengamatan bagaimana pengelolaan air bersih pada TPP subjek penelitian.

J. Etika Penelitian

- Responden diberikan **lembar persetujuan (informed consent)** sebelum mengisi kuesioner
- Data yang dikumpulkan dijamin kerahasiaanya dan hanya digunakan
- untuk Penelitian.
- Penelitian ini telah mendapat izin instansi terkait.

K. Prosedur Kerja

- Alat dan Bahan

1. 9 Pcs Tabung Reaksi
2. 9 Pcs Tabung Durham
3. 2 Pcs Beaker Glas
4. 1 Pcs Burner
5. 1 Pcs Pipet volum 5 ml
6. 1 Pcs Pipet volum 1 ml
7. 1 Pcs Penjepit Tabung

8. Neraca Analitik
9. Kapas Secukupnya
10. Alat Tulis
11. Kertas Label
12. 1 Pcs Jarum inokulum

Bahan

1. Media Lactose Broth (LB)
2. Media Brilliant Green Lactose Broth (BGLB)
3. Aquadest

L. Uji Pendugaan

1. Siapkan 9 tabung reaksi, 3 untuk double Strenght (DS), 3 untuk Single Strenght (SS 9 ml) dan 3 untuk Single Strenght (SS 9,9 ml)
2. Masukkan tabung durham ke masing - masing tabung reaksi dengan posisi terbalik
3. Buat Larutan LB untuk SS Sebanyak 6 Tabung dengan perhitungan
4. Buat Larutan LB untuk SS Sebanyak 6 Tabung dengan perhitungan
5. Panaskan hingga mendidih, tunggu hangat, tuang ke dalam masing - masing tabung yang sudah di beri label
6. Posisikan Tabung durham terendam larutan dan tidak ada gelembung gas yang Terperangkap di dalamnya
7. Sterilisasi menggunakan autoclave suhu 121°C pada tekanan 15 psi 1 atm selama 15 menit .
8. Masukkan 5 ml sampel kedalam tabung DS (seri satu)
9. Masukkan 1 ml sampel ke dalam tabung SS 9 ml (seri dua)
10. Masukkan 0,1 ml sampel ke dalam tabung SS (seri tiga)
11. Inkubasikan ketiga seri larutan pada suhu $35-37^{\circ}\text{C}$ selama 2 x 24 jam

12. Amati Tabung yang berbentuk gelembung gas. Adanya gelembung gas menunjukkan hasil reaksi positif sehingga dapat diperlakukan untuk uji selanjutnya

M. Uji Penguat (*Confirmed test*)

1. Siapkan Tabung reaksi dan tabung durham
2. Masukkan tabung durham ke dalam tabung reaksi dalam posisi terbalik
3. Buat Larutan BGLB dengan perhitungan
4. Panaskan hingga mendidih, biarkan hangat, dan isikan kedalam tabung reaksi sebanyak 9 ml
5. Sterilisasi menggunakan autoclave suhu 121°C pada tekanan 15 psi 1 atm selama 15 menit.
6. Pindahkan hasil biakan pada media LB ke dalam tabung BGLB dengan menggunakan ose sebanyak 2-3 ose
7. Lakukan sterilisasi ose menggunakan bunsen setiap akan memindahkan media serta plambir tabung reaksi
8. Inkubasikan pada suhu $35-37^{\circ}\text{C}$ selama 2 x 24 jam untuk test E. Coli
9. Amati tabung yang membentuk gelembung gas. Adanya gelembung gas Menunjukkan hasil reaksi positif sehingga dapat diperlakukan untuk uji selanjutnya.
10. Cara menghitung media *LB* dan *BGLB* untuk 30 sampel makanan yang diperiksa
 - a. Cara menghitung media *lactose broth (LB)*
 - 1) Double Strange

$$13 \text{ gram} / 1000 \text{ ml} \times 5 \text{ ml} \times 30 \text{ sampel} = 1,95 \text{ gram}$$

$$1,95 \text{ gram} \times 3 = 5,85 \text{ gram} \times 2 = 11,7 \text{ gram}$$
 - 2) Single Strange Seri 1

$$13 \text{ gram} / 1000 \text{ ml} \times 9 \text{ ml} \times 30 \text{ sampel} = 3,51 \text{ gram}$$

$$3,51 \text{ gram} \times 3 = 10,53 \text{ gram}$$

3) Single Strange Seri 2

$$13 \text{ gram} / 1000 \text{ ml} \times 9,9 \text{ ml} \times 30 \text{ sampel} = 3,861 \text{ gram}$$

$$3,861 \text{ gram} \times 3 = 11,583 \text{ gram}$$

b. Cara menghitung media *Briliant Green lactose bile broth (LB)*

4) Double Strange

$$40 \text{ gram} / 1000 \text{ ml} \times 5 \text{ ml} \times 30 \text{ sampel} = 6 \text{ gram}$$

$$6 \text{ gram} \times 3 = 18 \text{ gram} \times 2 = 36 \text{ gram}$$

5) Single Strange Seri 1

$$40 \text{ gram} / 1000 \text{ ml} \times 9 \text{ ml} \times 30 \text{ sampel} = 10,8 \text{ gram}$$

$$10,8 \text{ gram} \times 3 = 32,4 \text{ gram}$$

6) Single Strange Seri 2

$$40 \text{ gram} / 1000 \text{ ml} \times 9,9 \text{ ml} \times 30 \text{ sampel} = 11,88 \text{ gram}$$

$$11,88 \text{ gram} \times 3 = 35,64 \text{ gram}$$

N. Uji Penegasan

1. Alat dan Bahan

a. Alat

- 1) Cawan
- 2) Tabung Reaksi
- 3) Rak Tabung
- 4) Gelas Ukur
- 5) Beaker Glass
- 6) Batang Pengaduk
- 7) Sendok Reagent
- 8) Oven

- 9) Pipet ukur
- 10) Bunsen
- 11) Bulp
- 12) Cawan Arloji
- 13) Neraca Analitik
- 14) Kompor Listrik
- 15) Kertas Buram
- 16) Kapas
- 17) Autoclave
- 18) Aluminium Foil

A. Bahan

- 1) Sampel Makanan
- 2) Aquadest
- 3) Media PCA
- 4) Alkohol

B. Prosedur Kerja

- 1) Siapkan alat dan Bahan yang akan digunakan
- 2) Siapkan tabung reaksi untuk pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-5} dan 1 tabung reaksi sebagai blanko
- 3) Pipet 10 ml aquadest kemudian ke dalam tabung reaksi sebagai blanko dan pipet 9 ml aquadest kemudian masukan ke dalam Setiap tabung reaksi pengenceran,
- 4) Masing - masing tabung reaksi di tutup dengan kapas,
- 5) Sterilisasi tabung reaksi ke dalam autoclave suhu 121°C selama 15

menit

- 6) Bungkus pipet volume 10 ml, cawan petridis, gelas ukur 10 ml, batang pengaduk, dengan kertas buram lalu sterilisasi di dalam oven dengan suhu 170 - 180°C selama 1 jam.

C. Pembuatan Media PCA

- 1) $\text{PCA} = (22,5 \text{ gram} : 1000 \text{ ml}) \times 60 \text{ ml} = 1,35 \text{ gram} \times 30 \text{ sample} = 40,5 \times 2 = 81 \text{ gram}$
- 2) Masukkan PCA yang sudah ditimbang ke dalam beaker glass
- 3) Tambahkan 60 ml aquadest dan aduk menggunakan batang pengaduk
- 4) Masak hingga PCA mendidih, menggunakan kompor listrik,
- 5) Setelah mendidih, angkat lalu tutup menggunakan aluminium foil
- 6) Sterilisasi larutan PCA kedalam autoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C