

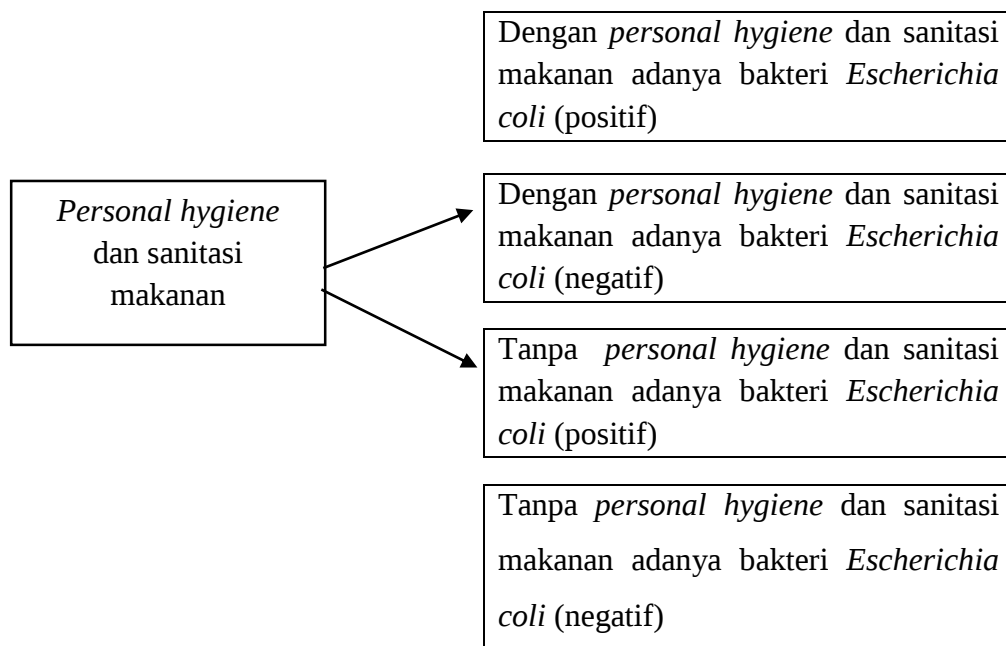
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian deskriptif analitik dikarenakan penelitian ini menjelaskan fenomena untuk menjawab pertanyaan penelitian. Penelitian deskriptif dapat dibagi menjadi beberapa desain penelitian salah satunya yang digunakan pada penelitian ini yaitu *cross-sectional* yang dimana penelitian ini dilakukan dengan pengumpulan data pada satu titik waktu (*at one point in time*). (Swarjana, 2014).

B. Rancangan Penelitian



Gambar 5. Rancangan Penelitian *cross-sectional*

Sumber : (Sastroasmoro, 2014)

Keterangan :

Menurut Sastroasmoro (2014) desain *cross sectional* yaitu suatu bentuk studi observasional yang sering dilakukan. Penelitian *cross sectional* yang dimana peneliti mencari hubungan antara variabel bebas dengan variabel tergantung dengan melakukan pengukuran sesaat (Sastroasmoro, 2014).

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Lokasi untuk pengambilan sampel dilakukan di Kawasan Wisata Ubud, Gianyar. Tahap analisis sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Denpasar.

2. Waktu penelitian

Waktu penelitian sampel dan pemeriksaan laboratorium untuk penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-April 2024.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi penelitian

Populasi merupakan bagian dari penelitian yang dapat diukur yang terdiri dari kumpulan yang meliputi individu atau objek atau fenomena (Swarjana, 2014). Populasi dalam penelitian ini ialah 20 penjual telur ayam rebus di Kawasan Wisata Ubud, Gianyar.

2. Sampel penelitian

a. Unit analisis

Hal yang terkait dengan fokus atau elemen yang diteliti (Sugiyono, 2013). Unit analisis yaitu bakteri *Escherichia coli* pada telur ayam rebus.

b. Besar sampel

Sampel merupakan bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi (Sugiyono, 2018). Pada penelitian ini memakai rumus slovin untuk memastikan besar sampel dari populasi yang telah diketahui jumlahnya yaitu sebanyak 20 penjual telur ayam rebus. Untuk tingkat presisi yang digunakan dalam pemilihan sampel yaitu 10%. Alasan peneliti memakai tingkat presisi 10% dikarenakan jumlah populasi pada penelitian ini kurang dari 1000.

Rumus Slovin :

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

Keterangan (Kriyantono, 2008) :

n = Ukuran sampel

N = Ukuran populasi

e = Kelonggaran ketidaktelitian karena kesalahan pengambilan sampel kemudian dikuadratkan.

Berdasarkan rumus Slovin, maka besar sampel pada penelitian ini adalah :

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

$$n = \frac{20}{1 + 20(0,1)^2}$$

$$n = \frac{20}{1,2}$$

$$n = 16.67 \text{ (dibulatkan jadi 17)}$$

Sampel pada penelitian ini telur ayam rebus yang diperoleh dari 17 penjual telur ayam rebus di kawasan wisata Ubud, Gianyar.

c. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel yaitu *non probability sampling* yaitu *purposive sampling* ialah peneliti menetapkan kriteria tertentu untuk memilih sampel (Swarjana, 2014). Alasan teknik ini digunakan karena keterbatasan waktu dan biaya sehingga tidak dapat menjangkau sampel yang besar dan jauh. Adapun kriteria inklusi dan eksklusi :

1) Kriteria inklusi :

- a) Telur ayam rebus tidak retak
- b) Telur ayam rebus tidak pecah
- c) Telur ayam rebus tidak kotor
- d) Telur ayam rebus yang dibuat oleh penjual makanan dan dijual di kawasan wisata Ubud, Gianyar
- e) Bersedia diteliti

2) Kriteria eksklusi :

- a) Telur ayam rebus yang sudah rusak seperti basi dan bau
- b) Penjual makanan yang tidak berjualan lagi di kawasan wisata Ubud, Gianyar.

d. Alat dan bahan

1) Alat

Alat yang digunakan yaitu tabung Durham, cawan petri, tabung reaksi, mikropipet dan tip biru, botol media, ose, *stomacher*, pembakar bunsen, timbangan, *magnetic stirrer*, inkubator, *hotplate*, *autoclave*, *clean bench*,

refrigerator, freezer, coolbox, tabung sentrifugasi, beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, dan cawan petri.

2) Bahan, media, dan reagensia

Bahan yang digunakan yaitu aquades, alkohol 70%, larutan α -naphthol, KOH 40%, reagen kovac dan indikator MR. Untuk media dan reagensia yang digunakan yaitu *Buffered Pepton Water 0,1%, Laury Sulfate Tryptose Broth, M-Escherichia Coli Broth, Eosine Methylene Blue Agar, Methyl Red-Voges Proskauer, Plate Count Agar, Koser Citrate Broth, Tryptone Soya Broth.*

e. Prosedur kerja

1) Pra analitik

- a) Penjual diberikan penjelasan mengenai penelitian yang dilakukan.
- b) Persiapan petugas seperti menggunakan APD (alat pelindung diri) sebelum melakukan pengambilan sampel.
- c) Pengambilan sampel yang dimana sampel diambil dengan persetujuan pedagang kemudian sampel yang telah diambil disimpan ke dalam *coolbox*, langsung dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Denpasar dan di hari itu juga dilakukan pemeriksaan.
- d) Sterilisasi alat dan media menggunakan suhu 121°C untuk membebaskan alat dan media dari kuman.
- e) Pembuatan media BPW 0,1% yaitu masukkan BPW sebanyak 0,74 gram dan di larutkan dengan 2.210 mL aquades.
- f) Pembuatan media LSTB yaitu masukkan LSTB sebanyak 27,59 gram dan di larutkan dengan 1.550 mL aquades.

- g) Pembuatan media M-ECB yaitu media di timbang sebanyak 10,9 gram dan di tambahkan aquades sebanyak 500 mL.
- h) Pembuatan media EMBA yaitu media EMBA ditimbang sebanyak 15 gram dengan 350 mL aquades.
- i) Pembuatan media PCA yaitu media PCA ditimbang sebanyak 4,4 gram dengan 250 mL aquades.
- j) Pembuatan media TB yaitu media TB ditimbang sebanyak 1,3 gram dengan 45 mL aquades.
- k) Pembuatan media MR-VP yaitu media MRVP ditimbang sebanyak 1,5 gram dengan 90 mL aquades..
- l) Pembuatan media KCB yaitu media KCB ditimbang sebanyak 0,3 gram dengan 45 mL aquades.

2) Analitik

a) Penyiapan contoh

- (1) Timbang contoh padat dan semi padat sebanyak 25 gram atau ukur contoh cair sebanyak 25 mL secara aseptik kemudian masukkan ke dalam wadah steril.
- (2) Untuk contoh telur tambahkan 225 mL larutan BPW 0,1% ke dalam kantong steril yang berisi contoh, homogenkan dengan *stomacher* selama 1 menit – 2 menit.

b) Pengujian MPN

- (1) Lakukan uji pendugaan

- (a) Pindahkan 1 mL larutan pengenceran 10^{-1} dengan pipet steril ke dalam larutan 9 mL BPW 0,1% untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Lakukan cara yang sama lalu dibuat pengenceran 10^{-3} .
 - (b) Pipet masing-masing 1 mL dari setiap pengenceran ke dalam 3 seri tabung LSTB yang berisi tabung durham.
 - (c) Inkubasi dengan suhu 35°C selama 24 jam sampai dengan 48 jam.
 - (d) Perhatikan terbentuknya gas di dalam tabung durham.
 - (e) Hasil uji dinyatakan positif jika terbentuk gas di dalam tabung durham.
- (2) Lakukan uji konfirmasi (peneguhan)
- (a) Pengujian harus selalu disertai dengan menggunakan kontrol positif.
 - (b) Pindahkan biakan hasil yang positif dari uji pendugaan menggunakan jarum inokulasi dari setiap tabung LSTB ke dalam tabung M-ECB.
 - (c) Inkubasi M-ECB pada suhu $45,5^{\circ}\text{C}$ selama $24 \text{ jam} \pm 2 \text{ jam}$ apabila hasilnya negatif lakukan inkubasi kembali selama $48 \text{ jam} \pm 2 \text{ jam}$.
 - (d) Perhatikan adanya perubahan warna menjadi biru.
 - (e) Selanjutnya gunakan tabel MPN untuk menentukan nilai MPN berdasarkan jumlah tabung M-ECB yang positif menandakan terjadinya perubahan warna menjadi biru sebagai jumlah bakteri *Escherichia coli* per mililiter atau per gram.

Tabel 2
MPN Seri Tiga Tabung

Jumlah tabung positif (3 tabung)			MPN / g	Batas kepercayaan 95 %	
0,1 g	0,01 g	0,001 g		Bawah	Atas
0	0	0	< 3,6	-	9,5
0	0	1	3	0,15	9,6
0	1	0	3	0,15	11
0	1	1	6,1	1,2	18
0	2	0	6,2	1,2	18
0	3	0	9,4	3,6	38
1	0	0	3,6	0,17	18
1	0	1	7,2	1,3	18
1	0	2	11	3,6	38
1	1	0	7,4	1,3	20
1	1	1	11	3,6	38
1	2	0	11	3,6	42
1	2	1	15	4,5	42
1	3	0	16	4,5	42
2	0	0	9,2	1,4	38
2	0	1	14	3,6	42
2	0	2	20	4,5	42
2	1	0	15	3,7	42
2	1	1	20	4,5	42
2	1	2	27	8,7	94
2	2	0	21	4,5	42
2	2	1	28	8,7	94
2	2	2	35	8,7	94
2	3	0	29	8,7	94
2	3	1	36	8,7	94
3	0	0	23	4,6	94
3	0	1	38	8,7	110
3	0	2	64	17	180
3	1	0	43	9	180
3	1	1	75	17	200
3	1	2	120	37	420
3	1	3	160	40	420
3	2	0	93	18	420
3	2	1	150	37	420
3	2	2	210	40	430
3	2	3	290	90	1.000
3	3	0	240	42	1.000
3	3	1	460	90	2.000
3	3	2	1.100	180	4.100
3	3	3	> 1.100	420	--

Sumber: (SNI 2897, 2008)

c) Isolasi-identifikasi

- (1) Buat goresan pada media EMBA atau VRBA dari tabung M-ECB yang positif, lalu inkubasi pada suhu 35°C selama 18 jam sampai 24 jam.
- (2) Koloni yang diduga *Escherichia coli* berdiameter 2 mm sampai 3 mm, pada bagian pusat koloni berwarna hitam atau gelap, dengan atau tanpa metalik kehijauan yang mengkilat pada media EMBA.
- (3) Kemudian ambil koloni yang diduga *Escherichia coli* dari masing-masing media EMBA menggunakan ose dan pindahkan ke PCA miring.

(4) Inkubasi PCA miring pada suhu 35°C selama 18 jam sampai 24 jam untuk dilakukan uji biokimia.

d) Uji biokimia dengan uji IMViC

(1) Uji produksi indole

(a) Inokulasikan koloni dari tabung PCA pada TB (*Tryptose Soya Broth*) lalu inkubasikan pada suhu 35°C selama 24 jam $\pm$ 2 jam.

(b) Tambahkan 0,2 mL sampai 0,3 mL reagen kovac.

(c) Adanya bentuk cincin merah pada lapisan atas media dinyatakan hasil positif, sedangkan ditandai dengan terbentuknya cincin kuning dinyatakan hasil negatif.

(2) Uji VP (*Voges-Proskauer*)

(a) Ambil biakan dari media PCA lalu inokulasikan ke tabung yang berisi 10 mL media MR-VP dan inkubasikan pada suhu 35°C selama 48 jam $\pm$ 2 jam.

(b) Pindahkan 5 mL MR-VP ke tabung reaksi kemudian tambahkan 0,6 mL larutan α -naphthol dan 0,2 mL KOH 40% lalu digoyangkan.

(c) Adanya warna merah muda eosin dalam waktu 2 jam menandakan hasil reaksi positif.

(3) Uji MR (*Methyl Red*)

(a) Ambil biakan dari media PCA lalu inokulasikan ke tabung yang berisi 10 mL media MR-VP dan inkubasikan pada suhu 35°C selama 48 jam $\pm$ 2 jam.

(b) Tambahkan 2 tetes sampai 5 tetes indikator MR pada tabung.

(c) Adanya warna merah dinyatakan hasil reaksi positif, sedangkan adanya warna kuning dinyatakan hasil reaksi negatif.

(4) Uji citrate

(a) Inokulasikan koloni dari media agar miring PCA ke dalam media KCB lalu inkubasikan pada suhu 35°C selama 96 jam.

(b) Terbentuknya kekeruhan pada media dinyatakan hasil uji positif.

3) Post analitik

a) Interpretasi hasil uji pendugaan dan uji konfirmasi yaitu mencocokkan kombinasi jumlah tabung yang memperlihatkan hasil positif. Kombinasi yang diambil terdiri dari tiga pengenceran yang dimana dimulai dari pengenceran tertinggi yang semua tabung masih memperlihatkan hasil positif, sedangkan pengenceran berikutnya terdapat hasil negatif.

Rumus :

$$\text{MPN (mL/g)} = \frac{\text{nilai MPN tabel}}{100} \times \text{Faktor pengenceran yang ditengah}$$

b) Interpretasi hasil uji biokimia yang memiliki pola + + - - atau - + - -

Tabel 3
Hasil reaksi uji biokimia (IMViC)

Type Organisme	Indol	MR	VP	Citrate
<i>E. coli</i> spesifik	+	+	-	-
<i>E. coli</i> non spesifik	-	+	-	-
<i>Typical intermediate</i>	N/A	+	-	+
<i>Atypical intermediate</i>	-	+	-	+
<i>Typical Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	+
<i>Atypical Enterobacter aerogenes</i>	+	-	+	+

Sumber: (SNI 2897, 2008)

c) Interpretasi hasil akhir yaitu jumlah *Escherichia coli* dinyatakan berdasarkan hasil MPN, isolasi-identifikasi, dan uji biokimia (SNI 2897, 2008).

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data yang dikumpulkan secara *independen* oleh penulis secara langsung dari subjek penelitian seperti identitas penjual telur ayam rebus dan sampel, kualitas sampel, dan pemeriksaan laboratorium.

b. Data sekunder

Dari data yang dikumpulkan dari sumber atau pihak lain yang dapat memanfaatkan informasi yang diperoleh dari instansi yang bersangkutan. Data sekunder pada penelitian ini seperti Dinas Kesehatan Kabupaten Gianyar yang meliputi pasien penyakit diare dan berbagai sumber lainnya yaitu jurnal, skripsi ataupun buku.

2. Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini yaitu observasi dan wawancara yang merupakan mengamati dan mencatat sebuah objek dengan sistematis kejadian yang diteliti yang dimana observasi dan wawancara dilakukan secara langsung mengenai telur ayam rebus yang dijual di Kawasan Wisata Ubud, Gianyar. Selanjutnya diuji di Laboratorium Bakteriologi untuk mengetahui cemaran bakteri *Escherichia coli* pada telur ayam rebus.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen pengumpulan data ialah alat yang diperlukan untuk mengumpulkan data yang meliputi :

a. Kamera yang digunakan untuk merekam aktivitas pengambilan data.

- b. Alat tulis dipakai untuk menulis data pada lembar observasi.
- c. Alat pelindung diri seperti *handscoon* dan masker digunakan untuk melindungi diri dari bahaya.
- d. *Coolbox* digunakan untuk menyimpan sampel.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Teknik pengolahan data pada penelitian ini yaitu tabulating yang dimana data yang didapatkan kemudian dikumpulkan, dikelompokkan, diolah, dan disajikan dalam bentuk tabel dan dibahas secara naratif terkait cemaran bakteri *Escherichia coli* pada telur ayam rebus yang dijual di Kawasan Wisata Ubud, Gianyar.

2. Analisis data

Setelah dilakukan pengolahan data, selanjutnya dilakukan analisis data dengan menggunakan SPSS dan dilakukan analisis data.

a. Analisis univariat

Analisis univariat yang biasanya disebut juga dengan statistik deskriptif yang digunakan untuk menganalisis data dengan memberikan gambaran umum atau mendeskripsikan data yang didapatkan kemudian dihitung persentase data yang didapatkan lapangan dan hasil pemeriksaan laboratorium seperti jumlah cemaran bakteri *Escherichia coli* dengan metode MPN (uji praduga, uji konfirmasi, dan uji pelengkap), isolasi-identifikasi, dan uji biokimia yang dibuat dalam bentuk narasi yang telah dikumpulkan melalui penyajian data dalam bentuk tabel agar mudah dipahami dan dimengerti oleh masyarakat awam.

b. Analisis bivariat

Analisis bivariat menggunakan uji *Chi square* (X^2) untuk melihat hubungan yang signifikan antara variabel bebas yaitu *personal hygiene* dan sanitasi makanan dengan variabel terikat yaitu keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada sampel telur ayam rebus dengan kriteria skala data kedua variabel yaitu nominal yang dimana tingkat signifikan dengan derajat kepercayaan ($\alpha < 0,05$). Adapun hipotesis yang digunakan yaitu :

- 1) Apabila $p \leq 0,05$ maka H_0 ditolak H_a diterima, artinya ada hubungan antara *personal hygiene* dan sanitasi makanan dengan keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada telur ayam rebus di kawasan wisata Ubud, Gianyar.
- 2) Apabila $p > 0,05$ maka H_0 diterima H_a ditolak, artinya tidak ada hubungan antara *personal hygiene* dan sanitasi makanan dengan keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada telur ayam rebus di kawasan wisata Ubud, Gianyar.

3. Etika penelitian

Etika penelitian yaitu serangkaian aturan yang berlaku dalam semua aktivitas penelitian, melibatkan peneliti, subjek penelitian, dan masyarakat yang berpotensi berpengaruh oleh hasil penelitian (Notoatmodjo, 2012). Etika penelitian yang digunakan:

1. Tanpa nama (*Anonymity*)

Anonymity merujuk pada praktik menjaga kerahasiaan identitas responden dengan tidak mengungkapkan nama mereka secara lengkap, melainkan hanya menggunakan inisial. Subyek memiliki hak untuk menyembunyikan data pribadi mereka, sehingga tidak diperlukan untuk memberikan identitas lengkap dalam laporan atau analisis (Nursalam, 2011).

2. Kerahasiaan (*Confidentiality*)

Confidentiality ini menunjukkan bahwa subyek memiliki hak untuk menjaga kerahasiaan data yang mereka berikan. Peneliti menjamin bahwa informasi yang diberikan oleh responden akan tetap dirahasiakan, meskipun data tersebut dapat dilaporkan kepada kelompok-kelompok terkait dalam penelitian (Nursalam, 2011).