

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang akan digunakan adalah deskriptif dengan pendekatan *cross sectional*. Tujuan dari penelitian deskriptif adalah untuk membuat deskripsi, gambaran atau lukisan secara sistematis, faktual dan akurat mengenai fakta-fakta, sifat-sifat serta hubungan antar fenomena yang diselidiki (Nazir, 2003). Pendekatan *cross sectional* merupakan suatu penelitian yang di mana melakukan observasi atau pengukuran variabel sekali dan sekaligus pada waktu yang sama. Arti dari “suatu saat” bukan berarti semua responden diukur atau diamati pada saat yang bersamaan, tetapi artinya dalam penelitian *cross sectional* setiap responden responden hanya diobservasi satu kali saja dan pengukuran variabel responden dilakukan pada saat pemeriksaan tersebut, kemudian peneliti tidak melakukan pemeriksaan lebih lanjut (Riyanto, 2011).

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di warung makan di Pantai Sanur. Tahap analisis dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2018 sampai dengan Mei 2018.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua warung makan yang ada di pantai sanur.

2. Sampel penelitian

a. Jumlah dan besar sampel

Jumlah sampel yang diteliti dalam penelitian ini adalah 30 sampel Warung Makan di Pantai Sanur.

b. Cara penentuan sampel

Cara penentuan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik *sampling* jenuh atau total *sampling* yang mana dilakukan jika populasi dianggap kecil atau kurang dari 100 (Noor, 2011). Sedangkan penentuan sampel peralatan makan menggunakan *simple random sampling* atau secara acak sederhana dimana setiap anggota atau unit populasi mempunyai kesempatan yang sama untuk diseleksi sebagai sampel (Notoatmodjo, 2012).

c. Bahan dan cara

1) Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: beaker glass 1000 ml, Erlenmeyer, gelas ukur 250 ml (merek *Iwaki Pyrex*), autoklaf 1 unit (merek Tomy ES-215, dengan spesifikasi: *range* suhu sterilisasi 105 – 123°C, *range* tekanan 0 – 127 kPa/max 147 kPa, sumber panas 1,5 kW, kapasitas *chamber* 248 × 543 mm/25 ℓ, berat 50 kg, dimensi unit utama 400/460/920 mm), *Bio Safety Cabinet* (merek Biobase), Oven (merek Wagtech), Waterbath, Inkubator (merek *Escho Isotherm* dengan spesifikasi: volume 110L (3,9 cu. ft), *range* suhu +7,5°C -

300°C, beban maksimal 30 kg, berat 75 kg, dimensi eksternal 710 × 587 × 785 mm, dimensi internal 560 × 400 × 490 mm)), *ice box*, lemari es, batang pengaduk, neraca analitik (merk Radwag), rak tabung, tabung reaksi steril (merk *Iwaki Pyrex*), *petridish* steril, pipet ukur steril 1,0 ml dan 10 ml (merk *Iwaki Pyrex*), *ball* pipet (merk d&n ball pipet), gunting, lampu spritus, ose steril, *magnetic* dan *stirrer* 1 unit (merk Jisico), spatula dan *Quibec Colony Counter* 1 unit. Sedangkan bahan yang digunakan adalah kapas berlemak, aluminium foil, *ice pack*, aquadest, bubuk media PCA (merk Oxoid), bubuk media EMB (merk Oxoid), bubuk media TSIA (merk Oxoid), bubuk media SC (merk Oxoid), bubuk NA (merk Oxoid), Media MRVP, indikator *Methyle Red*, reagen *Kovac*, reagen *barit A*, reagen *barit B*, kapas berlemak, media gula-gula (glukosa, laktosa, maltosa, manitol dan sukrosa), media (APW) (merk Oxoid), desinfektan (merk Bayclin), tissue (merk Nice), kapas lidi steril, spritus, media transport *buffer phosphate* steril, *handscoon* steril, masker, indikator pH, aluminium foil, dan kertas etiket.

2) Prosedur kerja

Prosedur kerja yang dilakukan dalam penelitian ini menurut Depkes (1991) adalah sebagai berikut (Sari, 2013).

a) Prosedur pembuatan media PCA

- (1). Bubuk PCA ditimbang sebanyak 22,5 gr dan dilarutkan dengan 1,0 L aquadest.
- (2). Kemudian dihomogenkan sambil sedikit dipanaskan dengan *hotplate* untuk memudahkan penghomogenan.
- (3). Diukur pH $7,0 \pm 0,2$ pada suhu 25°C.

- (4). Media disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.
- b) Prosedur pengambilan sampel pemeriksaan
 - (1). Sarung tangan yang steril disiapkan untuk mulai pengambilan sampel.
 - (2). Alat makan yang akan diperiksa diambil masing-masing empat sampai lima buah untuk tiap jenis yang diambil acak dari penyimpanan.
 - (3). Catatan formulir pemeriksaan alat makan disiapkan dengan membagi alat makan dalam kelompok-kelompok.
 - (4). Lidi kapas stereril disiapkan, kemudian dibuka tutup botol dan dimasukkan lidi kapas steril ke dalamnya.
 - (5). Lidi kapas steril dalam botol ditekan ke dinding botol untuk membuang airnya, kemudian diangkat dan diusapkan pada setiap alat-alat yang diusapkan sampai satu kelompok selesai diusap.
 - (6). Cara melakukan usapan
 - (a). Pada gelas dengan usapan mengelilingi bidang permukaan yaitu: permukaan luar dan dalam bagian bibir setinggi 6 mm.
 - (b). Pada sendok dilakukan usapan permukaan pada bagian luar dan dalam seluruh mangkok-sendok.
 - (c). Pada garpu dilakukan usapan permukaan pada bagian luar dan dalam alat penusuk.
 - (d). Pada piring dengan dua usapan seluruh permukaan tempat makanan dengan menyilang siku-siku antara garis usapan yang satu dengan garis usapan kedua.
- (7). Setiap bidang permukaan yang diusap dilakukan tiga kali berturut-turut, dan satu lidi digunakan untuk satu kelompok alat makan yang diperiksa.

- (8). Pada usapan peralatan makan setiap usapan alat harus mencapai luas sekitar 8 inchi persegi atau 50cm^2 dan dilakukan lima kali (tempat) sehingga cukup mencapai luas 40 inchi persegi atau 256 cm^2 permukaan (1,0 inchi persegi = $6,4\text{ cm}^2$)
- (9). Setiap selesai melakukan usapan pada satu alat dari satu kelompok jenis alat makan, lidi kapas steril harus dimasukkan ke dalam botol berisi cairan garam *buffer phosphate* pH 7,2 sebanyak 9,0 ml, diputar-putar dan ditekan ke dinding untuk membuang cairannya, demikian dilakukan berulang-ulang sampai semua kelompok diambil usapnya.
- (10). Setiap satu kelompok jenis alat makan menggunakan satu swab atau satu lidi kapas.
- (11). Setelah semua kelompok alat makan sudah diusap, lidi kapas dimasukkan ke dalam botol, lidinya dipatahkan atau diguting, dan bibir botol dipanaskan dengan api bunsen kemudian ditutup.
- (12). Kertas *cellotape* ditempel pada botol dan ditulis etiket dengan spidol yang menyatakan nama alat makan dan tempat yang diambil sampelnya, diberi nomor (kode) sesuai dengan lembar formulir.
- (13). Botol sampel dikirim segera ke laboratorium dengan suhu dingin untuk diperiksa. Bila tidak dapat dikirim segera, disimpan dalam tempat penyimpanan dingin $\pm 4^\circ\text{C}$.

c) Pemeriksaan di Laboratorium

Prosedur pemeriksaan angka kuman alat makan metode tuang antara lain:

- (1). Enam buah tabung steril disediakan dalam rak tabung. Masing-masing tabung diberi tanda 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} sebagai kode pengenceran dan tanggal pemeriksaan
- (2). Tujuh buah *petridish* steril disiapkan. Pada enam buah *petridish* diberi tanda pada bagian belakangnya sesuai dengan kode pengenceran dan tanggal pemeriksaan. Satu *petridish* lainnya diberi label “kontrol”
- (3). Tabung pertama sampai dengan tabung keenam diisi dengan 9,0 ml *buffer phosphate* dengan pH 7,2.
- (4). Bahan spesimen dikocok sampai homogen, selanjutnya diambil 1,0 ml dimasukkan ke dalam tabung pertama dengan pipet dan dibuat sampai homogen.
- (5). Dipindahkan 1,0 ml bahan dari tabung pertama ke dalam tabung kedua dengan pipet, dibuat sampai homogen. Demikian selanjutnya hingga tabung keenam dan dibuang kelebihan 1,0 ml pada tabung keenam.
- (6). Diambil 1,0 ml dari masing- masing tabung di atas dan dimasukkan ke dalam *petridish*, mulai dari tabung keenam, dengan menggunakan pipet steril, sesuai dengan kode pengenceran yang sama.
- (7). Plate Count Agar (PCA) cair yang telah dipanaskan dalam *waterbath* $\pm 45^{\circ}\text{C}$ dituang sebanyak 15-20 ml ke dalam masing-masing *petridish*. Masing-masing *petridish* digoyang perlahan-lahan hingga tercampur merata dan dibiarkan hingga dingin dan membeku.
- (8). Dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 2x24 jam dalam keadaan terbalik.

- (9). Kontrol dibuat dengan cara dimasukkan sebanyak 0,5 ml *buffer phosphate* ke dalam *petridish* “kontrol” yang kemudian diisi dengan media PCA dan dibiarkan memadat.
- (10). Dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 2x24 jam dalam keadaan terbalik. Pembacaan hasil dilakukan dengan cara menggunakan alat *colony counter*.

d) Pembacaan Hasil

- (1). Dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada *petridish*, koloni yang bergabung menjadi satu atau membentuk satu deretan yang terlihat sebagai garis tebal atau jumlah koloni meragukan dihitung sebagai garis tebal atau jumlah koloni meragukan dihitung sebagai satu koloni kuman.
- (2). Bila jumlah koloni pada *petridish* kontrol lebih dari 10 maka pemeriksaan harus diulang karena sterilisasi dianggap kurang baik.
- (3). Dilakukan perhitungan hanya pada *petridish* yang menghasilkan jumlah koloni antara 30-300 dan bila koloni pada *petridish* kontrol lebih kecil dari 10. Jumlah koloni pada masing-masing *petridish* ini harus lebih dahulu dikurangi dengan *petridish* kontrol.

e) Contoh perhitungan

Jumlah koloni yang tumbuh pada *petridish* :

| | |
|-----------------------|--------------|
| Kontrol | : 1 koloni |
| Pengenceran 10^{-1} | : 370 koloni |
| Pengenceran 10^{-2} | : 200 koloni |
| Pengenceran 10^{-3} | : 151 koloni |
| Pengenceran 10^{-4} | : 15 koloni |

Pengenceran 10^{-5} : 3 koloni

Pengenceran 10^{-6} : 0 koloni

$$\begin{aligned}\text{Angka kuman} &= \frac{(200-1) \times 100 + (151-1) \times 1000}{2} \\ &= \frac{19.900 + 150.000}{2} \\ &= \frac{84.950}{5 \times 256 \text{ cm}^2} \\ &= 66,367 \text{ koloni/cm}^2 \text{ (Agung, 2015)}\end{aligned}$$

f) Identifikasi Kuman *Escherichia coli*

Identifikasi bakteri *Escherichia coli* berdasarkan prosedur kerja dari buku Manual Laboratorium Mikrobiologi oleh Cappucino and Sherman (2009) yang dimodifikasi oleh peneliti. Adapun prosedur kerjanya adalah sebagai berikut:

(1) Penanaman sampel (inokulasi) pada media EMB.

(a). Disiapkan alat dan bahan.

(b). Dimasukkan ose bulat ke dalam sampel swab pada NaCl 0,9% dan ditanam pada media EMB, digoreskan sebanyak 4 kuadran secara aseptis.

(c). Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

(d). Koloni yang tumbuh pada media pertumbuhkan diamati bentuk, warna, dan tekstur koloni.

(2) Peremajaan isolat ke media NA

(a). Disiapkan alat dan bahan.

(b). Diambil satu koloni menggunakan ose bulan dari media EMB dan ditanam ke media NA, digoreskan sebanyak 4 kuadran secara aseptis.

(c). Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

(d). Koloni yang tumbuh pada media NA dilakukan uji biokimia.

(3) Uji biokimia TSIA

- (a). Satu koloni dari media NA diambil dengan menggunakan ose jarum.
 - (b). Koloni tersebut ditusuk sekali pada bagian dasar media TSIA, lalu digoreskan pada media TSIA dibagian miringnya (*slant*).
 - (c). Hasil goresan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1x24 jam.
 - (d). Amati reaksi yang terjadi.
- (4) Uji biokimia gula-gula (glukosa, laktosa, maltosa, manitol, dan sukrosa)
- (a). Satu koloni dari media NA diambil dengan menggunakan ose bulat.
 - (b). Koloni tersebut dimasukkan ke dalam media gula-gula dan dihomogenkan.
 - (c). Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1x24 jam.
 - (d). Diamati reaksi yang terjadi.
- (5) Uji biokimia SIM
- (a). Satu koloni dari media NA diambil dengan menggunakan ose jarum.
 - (b). Koloni tersebut ditusuk ke media SIM sedalam $\pm \frac{1}{4}$ bagian (tidak sampai ke dasar).
 - (c). Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1x24 jam.
 - (d). Ditambahkan 250 μ l reagen kovac dalam media kemudian kocok perlahan dan biarkan dalam posisi tegak.
 - (e). Diamati permukaan media.
- (6) Uji biokimia SC
- (a). Satu koloni dari media NA diambil dengan menggunakan ose bulat.
 - (b). Koloni tersebut ditaman ke media SC dengan teknik streak (goresan) dengan menggunakan ose bulat pada bagian miring.
 - (c). Hasil goresan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1x24 jam.
 - (d). Diamati reaksi yang terjadi.

(7) Uji biokimia metil merah

(a). Satu koloni dari media NA diambil dengan menggunakan ose bulat.

(b). Inokulasikan pada media metil merah dengan dihomogenkan.

(c). Inkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.

(d). Ditambahkan 6 tetes indikator metil merah

(e). Diamati reaksi yang terjadi.

(f). Uji biokimia *Voges-Proskauer*

(a). Satu koloni dari media NA diambil dengan menggunakan ose bulat.

(b). Inokulasikan pada media *Voges-Proskauer* dengan dihomogenkan.

(c). Inkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.

(d). Ditambahkan 12 tetes reagen barit A dan 6 tetes reagen barit B.

(e). Diamati reaksi yang terjadi.

D. Jenis dan Cara Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer yang diperoleh dari subjek penelitian meliputi data hasil pemeriksaan laboratorium yaitu angka kuman alat makan dengan metode hitung cawan cara tuang (*pour plate*) dan data hasil observasi berupa catatan mengamatan langsung terhadap Warung Makan di Pantai Sanur

2. Cara pengumpulan data

Pengumpulan data dilakukan dengan mengambil sampel usap alat makan kemudian diuji di laboratorium untuk dicari angka kuman dan identifikasi keberadaan *Escherichia coli*. Hasil uji laboratorium dibandingkan dengan Permenkes RI Nomor 1096/MENKES/PER/VI/2011 tentang higiene dan sanitasi

jasa boga untuk mengetahui apakah sampel memenuhi persyaratan atau tidak. Selain itu dilakukan observasi dan wawancara terhadap kebersihan pedagang.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen pengumpulan data dalam penelitian ini adalah lembar observasi dan wawancara.

E. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data-data dari hasil penelitian ini dikumpulkan dan diolah menggunakan teknik pengolahan data dalam bentuk tabel dan narasi.

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah membandingkan kenyataan di lapangan atau hasil penelitian dengan teori serta standar yang ada yaitu Permenkes RI Nomor 1096/Menkes/Per/VI/2011 tentang *hygiene* sanitasi jasa boga.