

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan metode observasional dengan pendekatan deskriptif. Penelitian deskriptif adalah penelitian yang dilakukan terhadap sekumpulan objek yang biasanya bertujuan untuk melihat gambaran atau kejadian yang terjadi di dalam suatu populasi tertentu (Notoatmodjo, 2010). Penelitian deskriptif yang dilakukan oleh peneliti adalah untuk memperoleh data faktual tentang gambaran kontaminasi bakteri pada alat makan pedagang bakso di Kelurahan Kedonganan Kecamatan Kuta yang akan dikumpulkan melalui instrumen penelitian berupa lembar observasi dan pemeriksaan laboratorium.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel untuk penelitian ini akan dilakukan pada pedagang bakso di Kelurahan Kedonganan Kecamatan Kuta. Tahap analisis dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai dari bulan April sampai bulan Mei 2020

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua alat makan pedagang bakso di Kelurahan Kedonganan Kecamatan Kuta yang berjumlah 9 pedagang bakso.

2. Sampel penelitian

a. Jumlah dan Besar Sampel

Sampel penelitian adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Sugiyono, 2018). Menurut Gay, Mills dan Airasian (2009: 133) untuk penelitian metode deskriptif, minimal besar sampel adalah 10% dari jumlah populasi. Jumlah pedagang yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 pedagang bakso di Kelurahan Kedonganan Kecamatan Kuta berdasarkan 30% dari total populasi pedagang bakso dengan 4 jenis alat makan yaitu mangkok, sendok, garpu, dan gelas dengan mengambil 2 sampel per masing-masing jenis alat makan.

b. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *probability sampling* dengan metode *simple random sampling* atau secara acak sederhana karena pengambilan anggota sampel dari populasi dilakukan secara acak yang memberikan peluang yang sama bagi setiap unsur (anggota) populasi tanpa memperhatikan strata yang ada dalam populasi itu (Sugiyono, 2018).

c. Unit analisis

Unit analisis yang digunakan pada penelitian ini adalah usapan alat makan pada pedagang bakso di Kelurahan Kedonganan Kecamatan Kuta.

1) Kriteria inklusi dalam penelitian :

- a) Alat makan setelah proses pencucian tetapi sebelum digunakan
- b) Alat makan yang kering
- 2) Kriteria eksklusi dalam penelitian :
 - a) Alat makan setelah proses pencucian yang masih basah
 - b) Alat makan setelah digunakan

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Data yang akan dikumpulkan pada penelitian ini adalah data primer yang diperoleh dari subjek penelitian meliputi data data hasil pemeriksaan laboratorium dan data hasil observasi terhadap pedagang bakso di Kelurahan Kedonganan Kecamatan Kuta.

2. Cara pengumpulan data

a. Observasi

Observasi berfungsi untuk melengkapi data dengan format atau blanko pengamatan. Format observasi alat makan yang disusun berisi tentang sanitasi tempat penyimpanan alat makan pedagang bakso dan fasilitas sanitasi.

b. Pemeriksaan Laboratorium

1) Prosedur pengambilan sampel

- a) Disiapkan lidi steril, rabung reaksi steril dan rak tabung serta *cool box*.
- b) Tabung reaksi steril diberi kode pengenceran 10^{-1} dan jenis sampel.
- c) Dibuka lidi steril kemudian dibuka kapas penutup tabung reaksi yang telah berisi cairan NaCl 0,9%, dimasukan lidi kapas steril ke dalamnya.

- d) Lidi kapas steril dalam tabung reaksi ditekan ke dinding tabung untuk membuang cairannya, kemudian dilakukan usapan pada sampel.
 - e) Cara melakukan usapan :
 - 1. Pada mangkok: usapan dilakukan pada bagian permukaan dalam dengan mengusap seluruh permukaan sampel dan bagian tepi mangkok.
 - 2. Pada sendok: usapan dilakukan pada seluruh permukaan luar dan dalam sendok.
 - 3. Pada garpu: usapan dilakukan pada seluruh permukaan luar dan dalam sendok.
 - 4. Pada gelas: usapan dilakukan dengan mengelilingi permukaan luar dan dalam bagian bibir gelas (Agung, 2015).
 - f) Satu lidi kapas steril dipergunakan untuk satu jenis sampel.
 - g) Setiap selesai mengusap satu alat makan, lidi steril harus dimasukkan ke dalam botol yang berisi NaCl 0,9%, kemudian lidi steril di inokulasi dan dibuang kemudian tabung reaksi ditutup kembali menggunakan kapas berlemak.
- 2) Pemeriksaan angka kuman
- a) Disiapkan 1 buah tabung reaksi steril yang telah berisi 9 ml NaCl 0,9%. Tabung reaksi steril diberikan kode pengenceran 10^{-2} dan tanggal pemeriksaan.
 - b) Disiapkan 1 buah petridish steril dan diberikan tanda dengan kode pengenceran dan tanggal pemeriksaan. Satu petridish lainnya diberikan tanda “kontrol”.
 - c) Bahan atau sampel dikocok sampai homogen kemudian dibuka secara aseptis di dekat nyala api spiritus.

- d) Pindahkan 1 ml bahan specimen pada tabung 10^{-1} secara aseptis di dekat nyala api spiritus kemudian dimasukkan ke dalam pengenceran 10^{-2} yang berisikan 9 ml NaCl 0,9%, sesuai dengan kode pengenceran yang telah tercantumkan, dan campuran dihomogenkan.
- e) Dari masing – masing tabung diatas, pipet 1 ml bahan specimen menggunakan pipet steril secara aseptis di dekat nyala api spiritus, dimasukkan ke dalam masing – masing petridish steril, sesuai dengan kode pengenceran yang sama.
- f) Kemudian, ke dalam masing – masing petridish dituang media *Plate Count Agar* sebanyak 15-20 ml.
- g) Masing – masing petridish digoyangkan perlahan – lahan hingga tercampur merata dan dibiarkan hingga dingin dan membeku.
- h) Kontrol dibuat dengan NaCl 0,9%, pipet 1 ml NaCl 0,9% secara aseptis di dekat nyala api spiritus kemudian dimasukkan ke dalam petridish “kontrol” dan dituangi *Plate Count Agar* sebanyak 15-20 ml.
- i) Setelah itu, petridish dimasukkan ke dalam incubator dengan suhu 37°C selama 2x24 jam dalam keadaan terbalik.
- j) Pembacaan dilakukan selama 2x24 jam dengan cara menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada tiap petridish (SNI, 2006).
- k) Pembacaan hasil :
 - 1) Cawan yang dipilih adalah yang yang mengandung jumlah koloni 30 – 300 koloni.
 - 2) Hasil yang dilaporkan terdiri dari dua angka, yaitu angka pertama didepan koma dan dua angka dibelakang koma. Jika angka ketiga lebih besar dari 5, harus dibulatkan satu angka lebih tinggi dari angka kedua.

- 3) Jika semua pengenceran menghasilkan angka kurang dari 30 koloni, hanya koloni pengenceran terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai kurang dari 30 koloni dikalikan dengan faktor pengencer, tetapi jumlah sebenarnya harus dicantumkan dengan tanda kurung.
- 4) Jika semua pengenceran menghasilkan angka lebih dari 300 koloni, hanya koloni pada pengenceran tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih dari 300 koloni dikalikan dengan faktor pengenceran, tetapi jumlah sebenarnya harus dicantumkan dengan tanda kurung.
- 5) Jika semua pengenceran menghasilkan angka 30 – 300 koloni, harus dibuatkan perbandingan. Jika perbandingan <2 , yang dilaporkan adalah rata – rata pengenceran. Akan tetapi, jika perbandingannya <2 , yang dilaporkan adalah pengenceran terendah.
- 6) Jika menggunakan dua cawan petri (duplo) per pengenceran, data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut meskipun salah satu dari cawan duplo tidak memenuhi syarat 30 – 300 koloni (Sahli & Kurniawan, 2016).

Tabel 3
Contoh Hasil Perhitungan Angka Kuman

Pengenceran	Jumlah Koloni
Kontrol	1 koloni
Pengenceran 10^{-1}	350 koloni
Pengenceran 10^{-2}	167 koloni
Pengenceran 10^{-3}	95 koloni
Pengenceran 10^{-4}	53 koloni
Pengenceran 10^{-5}	20 koloni

Perhitungan :

Kontrol dari hasil tersebut memenuhi syarat dan hasil yang dapat dihitung adalah pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} Cara menghitung angka kuman:

$$\begin{aligned} &= \frac{(167 - 1) \times 100 + (95 - 1) \times 1000 + (53 - 1) \times 10.000}{3} \\ &= \frac{16600 + 94000 + 520.000}{3} \\ &= \frac{630.600}{3} = 210.200 \text{ koloni tiap gram} \end{aligned}$$

3) Identifikasi kuman *Escherichia coli*

a. Kultur Media CCA

Identifikasi bakteri *Escherichia coli* berdasarkan prosedur kerja dari buku Manual Laboratorium Mikrobiologi oleh Cappuccino dan Sherman, (2013), yang di modifikasi oleh peneliti. Adapun prosedur kerjanya adalah sebagai berikut:

- 1) Masing-masing sampel pada pengenceran 10^{-1} ditanam dengan mencelupkan ose bulat secara aseptis di dekat nyala api spiritus kemudian di *streak* pada media *Chromocult Coliform Agar*.
- 2) Setelah itu, petridish dimasukan ke dalam incubator dengan suhu 37°C selama 1x24 jam dalam keadaan terbalik.
- 3) Pembacaan dilakukan selama 1x24 jam.
- 4) Koloni yang tumbuh pada media diamati warna, bentuk dan ukuran.

b. Uji *Indol*

- 1) Satu koloni bakteri dari media CCA diambil dengan menggunakan ose jarum secara aseptis di dekat nyala api spiritus
- 2) Koloni tersebut ditusuk ke media SIM sedalam $\pm\frac{1}{4}$ bagian (tidak sampai ke dasar)
- 3) Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam

- 4) Amati reaksi yang terjadi
- 5) Menambahkan reagen Kovac's sebanyak 250 μ m ke dalam media SIM.
- 6) Diamkan dalam beberapa menit dan biarkan tabung dalam posisi tegak.
- 7) Amati perubahan yang terjadi, jika terbentuk cincin merah pada permukaan medium menunjukkan indol positif.

E. Instrumen Penelitian

a. Instrument pengumpulan data

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah alat tulis, alat dokumentasi, lembar observasi dan lembar hasil pemeriksaan laboratorium.

b. Peralatan laboratorium yang digunakan

1. Alat penelitian yang diperlukan antara lain : 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 – 123oC, *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 +7,5oC - 300oC, 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 (merek *Iwaki Pyrex*), *petridish* steril, pipet ukur steril 1,0 ml dan 10 ml (merek *Iwaki Pyrex*), *ball* pipet (merek d&n ball pipet), gunting,

lampu spritus, ose steril, *magnetic* dan *stirrer* 1 unit (merek Jisico), spatula dan *Quibec Colony Counter* 1 unit.

2. Media yang digunakan antara lain : kapas berlemak, aluminium foil, *ice pack* aquadest (*BRATACO*), NaCl (*MERCK*) 0.9%, PCA, Media *Chromocult Coliform Agar* (*OXOID*), media SIM (*OXOID*), media Kovac's, desinfektan (merk Bayclin), kapas lidi steril, dan spritus.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data-data dari hasil observasi dan hasil pemeriksaan laboratorium dikumpulkan dan diolah menggunakan teknik pengolahan data dalam bentuk tabel dan narasi.

2. Analisis data

Analisis data hasil observasi dan hasil pemeriksaan laboratorium yang digunakan dalam penelitian ini adalah membandingkan kenyataan dilapangan atau hasil penelitian dengan teori serta persyaratan yang ada yaitu Permenkes RI Nomer 1096/MENKES/PER/VI/2011 tentang higiene sanitasi jasa boga.