

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian dalam kegiatan ini adalah penelitian yang bersifat deskriptif yaitu dengan menggambarkan atau mendeskriptifkan suatu kejadian yang terjadi di suatu populasi tersebut secara nyata (Notoatmodjo,2012). Penelitian ini dilakukan dengan tujuan menggambarkan angka lempeng total dan identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada cendol yang dijual di Kelurahan Panjer Kecamatan Denpasar Selatan.

#### **B. Tempat dan Waktu**

##### **1. Tempat**

Pengambilan sampel dilakukan di Kelurahan Panjer dan pemeriksaan di lakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Denpasar.

##### **2. Waktu**

Penelitian dilakukan pada bulan Pebruari sampai bulan Mei 2020.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi Penelitian**

Menurut Gunawan (2013), populasi adalah keseluruhan objek penelitian, baik hasil menghitung maupun pengukuran (kuantitatif atau kualitatif) dari karakteristik

tertentu. Populasi dalam penelitian ini adalah pedagang minuman cendol yang dijual di Kelurahan Panjer Kecamatan Denpasar Selatan dengan jumlah 10 pedagang cendol.

## **2. Sampel Penelitian**

Sampel adalah bagian yang terkandung dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Sugiyono, 2018). Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah isi dari minuman cendol yang dijual di Kelurahan Panjer Kecamatan Denpasar selatan.

### **a. Unit analisis**

Unit analisis merupakan sesuatu yang berkaitan dengan fokus atau komponen yang diteliti (Sugiyono, 2018). Unit analisis dari penelitian ini adalah isi minuman cendol yang dijual oleh pedagang di Kelurahan Panjer Kecamatan Denpasar Selatan.

### **b. Besar Sampel**

Berdasarkan hasil survei penulis, besar sampel yang didapatkan yaitu sebanyak 10 pedagang cendol dengan menggunakan teknik sampel jenuh (Juliansyah, 2016).

### **c. Teknik Pengambilan sampel**

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Teknik sampel jenuh. Menurut Juliansyah (2016), teknik sampel jenuh adalah teknik penentuan sampel bila semua populasi digunakan sebagai sampel. Hal ini sering dilakukan bila jumlah populasi relative kecil, kurang dari 30 orang atau penelitian

yang ingin membuat generalisasi dengan kesalahan yang sangat kecil. Pengambilan sampel cendol dilakukan pada 10 pedagang cendol di Kelurahan Panjer Kecamatan Denpasar Selatan dengan mengambil satu sampel pada setiap pedagang.

### **1. Jenis data yang dikumpulkan**

- a. Data primer adalah data yang diperoleh dan dikumpulkan sendiri oleh penulis secara langsung meliputi identitas sampel, kualitas *cendol* yang dijual dipinggir jalan, dan pemeriksaan laboratorium (uji angka lempeng total dan identifikasi bakteri *Escherichia coli*).
- b. Data sekunder adalah data yang diperoleh dari mengutip data dari pihak lain yaitu data yang berhubungan dengan usulan penelitian.

### **2. Cara pengumpulan data**

Pengumpulan data yang dilakukan yaitu melalui observasi yaitu dengan melakukan pengamatan secara langsung terhadap karakteristik cendol yang dijual, tempat penyimpanan, dan lokasi berjualan cendol. Selain itu pengumpulan data juga dilakukan dengan mengambil sampel cendol yang dijual di daerah Denpasar Selatan. Kemudian diuji di laboratorium untuk dicari angka lempeng total dan identifikasi bakteri *Escherichia Coli*. Hasil uji laboratorium dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia No.7388 tahun 2009 tentang batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan.

### **3. Instrument pengumpulan data**

- a. Alat Tulis, untuk membantu proses pengisian data observasi
- b. Kamera, untuk dokumentasi

### **D. Instrumen Penelitian**

Instrumen penelitian adalah alat bantu maupun fasilitas yang akan digunakan oleh peneliti dalam metode pengambilan dan pengumpulan data yang dilakukan oleh peneliti agar pekerjaannya lebih mudah dan hasilnya lebih baik (cermat, lengkap dan sistematis) sehingga lebih mudah diolah (Sugiyono,2018). Pada penelitian ini instrument yang digunakan untuk pemeriksaan angka lempeng total dan bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

#### **1. Alat yang digunakan:**

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi (*merk Pyrex*), rak tabung reaksi, api bunsen, ose bulat, ose jarum, pinset, batang pengaduk, erlenmeyer (*merk Pyrex*), ball pipet, neraca analitik, pipet ukur (*merk Pyrex*), mikropipet (*merk Terumo*), mikrotip, pipet tetes, gelas beaker (*merk Iwaki*), gelas ukur (*merk Pyrex*), petridish, inkubator (*merk Esco Isotherm*), *cool box*, *Bio Safety Cabinet* (*merk Biobase*), *hotplate*, *magnetic stirrer*, neraca analitik (*merk Radwag*), autoclave (*merk Tomy ES-215*), Quibec Colony Counter, penangas air, lemari pendingin, korek api, kamera, spidol, label, kertas buram, dan tissue.

## **1. Bahan yang digunakan:**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel cendol, NaCl 0,9 %, media CCA (*Chromocult Coliform Agar*) media PCA (*Plate Count Agar*), akuades, SIM.

## **2. Prosedur Penelitian**

### **Uji Angka Lempeng Total**

#### a. Sterilisasi alat penelitian

- 1) Disiapkan alat yang terbuat dari kaca dibungkus dengan kertas buram
- 2) Disterilkan dalam oven dengan suhu  $160^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit.

#### b. Pembuatan Media NaCl

- 1) Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan
- 2) Menyiapkan akuades
- 3) Pipet 9 mL untuk masing-masing tabung reaksi yang digunakan untuk pengenceran dan 90 mL pada botol kaca untuk melarutkan sampel.
- 4) Tutup botol dan tabung yang sudah berisi NaCl dan sterilkan pada autoclave sampai suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 90 menit
- 5) Simpan pada kulkas sampai waktunya digunakan

#### c. Pembuatan Media PCA (*Plate Count Agar*)

- 1) Siapkan alat dan bahan yang diperlukan
- 2) Timbang PCA 17,6 gram
- 3) Larutkan dengan akuades 750 ml tempatkan pada erlenmeyer
- 4) Homogenkan dengan stirrer

- 5) Tutup dan sterilkan pada autoclave sampai suhu  $121^{\circ}\text{C}$
  - 6) Simpan pada kulkas sampai waktunya digunakan.
- d. Pemeriksaan angka lempeng total dengan metode tuang berdasarkan prosedur kerja dari buku Bakteriologi 1 oleh Kuswiyanto (2017) dan buku ajar Mikrobiologi oleh Radji (2016) sebagai berikut:
- 1) Preparasi sampel
    - a) Sampel diambil pada pedagang cendol
    - b) Ditimbang sampel 1 gram
    - c) Dimasukkan dalam botol yang sudah berisi akuades steril
  - 2) Pengenceran sampel dan penuangan dengan media PCA. Sampel diencerkan dengan menggunakan akuades steril. Pengenceran dilakukan  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$ . Adapun caranya sebagai berikut:
    - a) Disiapkan 1 buah botol dan 2 buah tabung reaksi pada masing-masing kode sampel dan diisi label pengenceran ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$ ).
    - b) Disiapkan 4 buah petridish, dimana 3 buah petridish diberi label ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$ ) dan 1 petridish diberi label kontrol.
    - c) Api Bunsen disiapkan dan sebelum melakukan pengenceran mulut tabung selalu dipanaskan terbelah dahulu pada api bunsen.
    - d) Pada botol diisi 90ml NaCl 0,9%, sedangkan tabung kedua dan ketiga diisi NaCl 0,9% sebanyak 9 ml
    - e) Sampel yang sudah ditimbang dimasukkan dalam botol yang sudah berisi akuades steril sebanyak 90 ml dan dikocok.
    - f) Dari tabung pertama diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung kedua

- g) Begitu seterusnya sampai dengan tabung ke tiga, sehingga pengenceran yang diperoleh yaitu  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$  sesuai dengan label pengenceran yang sudah tercantum sebelumnya.
  - h) Dari masing – masing tabung di atas di mulai dari tabung ke tiga dengan menggunakan pipet steril, di ambil 1 ml dimasukkan ke dalam masing-masing petri dish steril, sesuai dengan kode pengenceran yang sama.
  - i) Kemudian ke dalam masing-masing petri dish di tuang ke Plate Count Agar cair yang telah dipanaskan dalam waterbath  $\pm 45^{\circ}\text{C}$  sebanyak 15-20 ml.
  - j) Digoyangkan masing-masing petri dish secara perlahan-lahan hingga tercampur merata dan biarkan hingga dingin dan membeku.
  - k) Dimasukkan ke dalam incubator dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 2x24 jam dalam keadaan terbalik.
  - l) Kontrol dibuat dengan larutan NaCl 0,9%, dan dituangi PCA (*Plate Count Agar*) sebanyak 15-20 ml.
  - m) Pembacaan dilakukan setelah 2x24 jam dengan cara menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada tiap petri dish.
- 3) Hitung koloni pada PCA (*Plate Count Agar*)
- a) Dihitung koloni yang tumbuh pada media PCA dengan menggunakan colony counter.
  - b) Koloni yang bergabung menjadi satu atau membentuk satu deretan yang terlihat sebagai garis tebal atau jumlah koloni meragukan dihitung sebagai satu koloni kuman.

- c) Hitung jumlah koloni yang tumbuh pada petridish berisi kontrol. Apabila jumlah koloni pada petridish kontrol lebih dari 10 maka pemeriksaan harus diulang karena sterilisasi dianggap kurang baik.
- d) Jumlah koloni yang sesuai syarat masuk hitungan adalah berjumlah 30 – 300 koloni dalam satu media.

Contoh Perhitungan

Pengenceran	Jumlah Koloni
Kontrol	1 koloni
Pengenceran $10^{-1}$	347 koloni
Pengenceran $10^{-2}$	162 koloni
Pengenceran $10^{-3}$	98 koloni

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

$$\begin{aligned}
 \text{Angka lempeng total} &= \frac{((162-1) \times 100 + ((98-1) \times 1000)}{2} \\
 &= \frac{16.100 + 97.000}{2} \\
 &= 56.550 \text{ koloni/g}
 \end{aligned}$$



## **Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*** (Mastra dkk, 2018)

- 1) Pembuatan Media CCA
  - a) Siapkan alat dan bahan yang diperlukan
  - b) Timbang serbuk media CCA 28,1 gram
  - c) Larutkan dengan akuades
  - d) Homogenkan dengan stirrer
  - e) Tutup dan sterilkan pada autoclave sampai suhu 121<sup>0</sup>C
  - f) Setelah selesai langsung tuang media yang sudah jadi tersebut ke dalam *disposable plate*.
- 2) Pemeriksaan laboratorium penanaman sampel (inokulasi) pada media CCA
  - a) Dari pengenceran 10<sup>-1</sup> sampel diambil sebanyak 1 ose kemudian distreak pada media CCA
  - b) Diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam.
  - c) Diamati pertumbuhan bakteri dengan melihat warna koloni apabila positif maka akan terbentuk koloni warna ungu
- 3) Uji biokimia *Indol* ( Penanaman pada media SIM )
  - a) Satu koloni tunggal dari media CCA diambil dengan menggunakan ose jarum.
  - b) Koloni tersebut ditusuk ke media SIM sedalam ± ¼ bagian (tidak sampai ke dasar).

- c) Diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 1x24jam.
- d) Ditambahkan 250 µl reagen kovac dalam media kemudian kocok perlahan dan biarkan dalam posisi tegak.
- e) Diamati permukaan media, menghasilkan lapisan pereaksi berwarna merah muda maka positif indol.

## **E. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Teknik Pengolahan Data**

Data primer yang diperoleh selanjutnya dikumpulkan, dikelompokkan, diolah dan disajikan dalam bentuk tabel serta diberi narasi.

### **2. Analisis Data**

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif, dimana dengan cara membandingkan kenyataan yang terjadi di lapangan (Notoatmodjo, 2012). Hasil dari pemeriksaan terhadap angka lempeng total dan identifikasi bakteri *Escherichia coli* dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia No.7388 tahun 2009.