

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 jumlah bakteri *Coliform* pada es batu penjual minuman di Pasar Kreneng Denpasar.

B. Tempat dan Waktu

1. Tempat

Pengambilan sampel dilakukan di Pasar Kreneng Denpasar dan pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Panureksa Utama Denpasar.

2. Waktu

Penelitian dilakukan pada bulan Februari – Maret 2021

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian, baik hasil menghitung maupun pengukuran (kuantitatif atau kualitatif) dari karakteristik tertentu (Gunawan, 2013). Populasi dalam penelitian ini adalah es batu yang dijual oleh penjual minuman es di Pasar Kreneng Denpasar dengan jumlah 12 penjual minuman.

2. Sampel

Sampel adalah bagian yang terkandung dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Sugiyono, 2018). Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah es batu yang digunakan dalam penambahan minuman dan aneka jenis jus pada pedagang minuman es di pasar Kreneng Denpasar.

a. Unit Analisis

Unit analisis merupakan sesuatu yang berkaitan dengan fokus atau komponen yang diteliti (Sugiyono, 2018). Unit analisis dari penelitian ini adalah es batu yang digunakan dalam penambahan minuman dan aneka jenis jus.

b. Besar Sampel

Berdasarkan hasil survei penulis, besar sampel yang didapatkan yaitu sebanyak 12 penjual minuman dengan menggunakan teknik sampel jenuh.

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 es batu dilakukan pada 12 penjual minuman di Pasar Kreneng Denpasar dengan mengambil satu sampel setiap penjual minuman.

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

- a. Data primer adalah data yang diperoleh dan dikumpulkan sendiri oleh penulis secara langsung meliputi identitas sampel, kualitas es batu penjual minuman di Pasar Kreneng dan pemeriksaan laboratorium (uji angka lempeng total dan jumlah bakteri *Coliform*).
- b. Data sekunder adalah data yang diperoleh dari mengutip data dari pihak lain yaitu data yang berhubungan dengan usulan penelitian yaitu data dari beberapa penelitian terdahulu terkait dengan es batu.

2. Teknik pengumpulan data

Pengumpulan data yang dilakukan yaitu melalui observasi yaitu dengan melakukan pengamatan secara langsung terhadap karakteristik es batu yang dijual, tempat penyimpanan, dan lokasi berjualan. Selain itu pengumpulan data juga dilakukan dengan mengambil sampel es batu yang dijual di Pasar Kreneng. Kemudian diuji di laboratorium untuk dicari angka lempeng total dan jumlah bakteri *Coliform*. Hasil uji laboratorium dibandingkan dengan berdasarkan peraturan BPOM RI Nomor 16 tahun 2016 tentang kriteria mikrobiologi dalam pangan olahan.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen dalam pengumpulan data pada penelitian adalah alat tulis untuk membantu pengisian data observasi dan kamera untuk dokumentasi.

E. 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 jumlah bakteri *Coliform* adalah sebagai berikut :

1. Alat yang digunakan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol steril (12 buah), tabung reaksi (*merk Pyrex*) (60 buah), rak tabung reaksi (10 buah), api bunsen (1 buah), ose bulat (3 buah), ose jarum (3 buah), pinset (2 buah), batang pengaduk (2 buah), erlenmeyer (*merk Pyrex*), ball pipet (1 buah), pipet ukur (*merk Pyrex*) (2 buah), mikropipet (*merk Terumo*) (2 buah), mikrotip, pipet tetes (2 buah), gelas beaker (*merk Iwaki*) (2 buah), gelas ukur (*merk Pyrex*) (2 buah) , petridish (48 buah), inkubator (*merk Esco Isotherm*) (1 buah), *cool box* (1 buah), *Bio Safety Cabinet* (*merk Biobase*) (1 buah), *hotplate* (1 buah), *magnetic stirrer* (1 buah), neraca analitik (*merk Radwag*) (1 buah), autoclave (*merk Tomy ES-215*) (1 buah), Quibec Colony Counter (1 buah), penangas air (1 buah), lemari pendingin (1 buah), korek api (1 buah), kamera (1 buah), spidol (1 buah), label (1 lembar), kertas buram (50 lembar), dan tissue (1 bungkus).

2. Bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel es batu, NaCl 0,9 %, media PCA (*Plate Count Agar*), akuades, Medium *Lactosa Broth* (LB), Medium *Brilliant Green Lactosa Bile Broth* (BGLBB).

3. Prosedur penelitian

a. Pengambilan sampel

- 1) Difiksasi terlebih dahulu tempat sampel steril diatas api bunsen.
- 2) Sampel es batu diambil dan dimasukkan ke dalam tempat sampel steril minimal 250 ml.
- 3) Diberi label pada botol kaca steril.
- 4) Dimasukkan ke dalam cool box.

b. Sterilisasi alat

Bahan kaca dan logam (tabung reaksi, tabung Durham, erlenmeyer, mikropipet 1 mL dan Cawan petri) dibungkus dengan kertas dan kapas, lalu dimasukkan ke dalam *autoclave* kemudian disterilkan dengan suhu 121°C selama 30 menit dengan tekanan 1 atm (Sukawaty dkk, 2017)

c. Pembuatan media

- 1) Ditimbang masing – masing media yang diperlukan, seperti NaCl 0,9 %, media PCA (*Plate Count Agar*), akuades, Medium *Lactosa Broth* (LB), Medium *Brilliant Green Lactosa Bile Broth* (BGLBB).
- 2) Dilarutkan dengan aquadest dan dihomogenkan menggunakan kompor listrik.
- 3) Dilakukan pengecekan pH.
- 4) Disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 5) Disiapkan media untuk pengujian dan untuk control. Media untuk control diikuti dalam setiap tahap pengujian hingga inkubasi, namun tidak ditambahkan sampel.

Uji Angka Lempeng Total

a) Prosedur Angka Lempeng total menurut Mursalim (2018) :

- (1) Sampel dipipet secara aseptik sebanyak 10 ml ke dalam botol steril yang didalamnya telah berisi sebanyak 90 ml NaCl 0,9% steril lalu dihomogenkan dengan cara dipipet keluar masuk sebanyak 25 kali, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} .
- (2) Dipipet 1 ml dari pengenceran 10^{-1} lalu dimasukkan ke dalam tabung pertama yang berisi 9 ml NaCl 0,9% steril dan di homogenkan dengan cara memipet keluar masuk sebanyak 25 kali dan tabung pertama disebut pengenceran 10^{-2} .
- (3) Di pipet 1 ml tabung pertama dan dimasukkan kedalam tabung kedua dan dihomogenkan dengan cara dipipet keluar masuk sebanyak 25 kali dan tabung kedua disebut pengenceran 10^{-3} .
- (4) Perlakuan yang sama dilakukan pada tabung ke dua sampai tabung ke lima.
- (5) Pada tabung ke lima dibuang sebanyak 1 ml dan tabung ke enam tidak di isikan sampel sebagai control negative.
- (6) Dipipet sebanyak 1 ml dari pengenceran 10^{-1} dan di masukkan kedalam cawan petri.
- (7) Perlakuan yang sama dilakukan pemipetan dari 10^{-2} sampai pengenceran 10^{-6}

b) Inokulasi pada media PCA

- (1) Disiapkan alat dan bahan
- (2) Dihidupkan api Bunsen

- (3) Difiksasi mulut tabung sebelum sampel diambil
 - (4) Dipipet sampel sebanyak 1 ml dan dituangkan pada cawan petri untuk masing-masing pengenceran. Kemudian tuang media PCA dan ratakan hingga merata pada cawan petri.
 - (5) Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam.
- c) Hitung koloni pada Media PCA
- (1) Dihitung koloni yang tumbuh pada media PCA dengan menggunakan colony counter.
 - (2) Jumlah koloni yang sesuai syarat masuk hitungan adalah berjumlah 30 – 300 koloni dalam satu media.

Jumlah bakteri *Coliform* dengan menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*) (A. R. Setiawan dkk, 2019)

a. Uji Praduga (*Presumptive test*)

- 1) Menyiapkan 5 tabung media LB II dan 10 tabung LB I.
- 2) Memipet secara steril 10 ml sampel air kemudian dimasukkan kedalam masing-masing tabung LB II.
- 3) Memipet secara steril 1 ml sampel, dimasukkan pada 5 tabung media LB I yang pertama dan sebanyak 0,1 ml (2 tetes) sampel air dimasukkan kedalam tabung LB I yang kedua.
- 4) Kemudian dihomogenkan dengan cara dikocok perlahan-lahan sampel air hingga tercampur merata ke seluruh media.
- 5) Kemudian diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 37°C.

- 6) Setelah diinkubasi diamati perubahan yang terjadi pada masing masing tabung, dilihat ada atau tidaknya kekeruhan dan terbentuknya gas pada tabung durham.
- 7) Agar memperjelas ada atau tidaknya gas pada tabung durham, dilakukan pengocokan tabung reaksi secara perlahan.
- 8) Jika pada media LB hasil positif ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung durham dan perubahan dari bening menjadi keruh pada media. Apabila hasil positif dilanjutkan ke test penegasan (*confirmative test*).

b. Uji Penegasan (*Confirmative test*)

- 1) Menyiapkan tabung berisi media BGLBB sesuai tabung yang positif gas pada uji *presumptive test* (disiapkan duplo atau dua seri).
- 2) Kemudian biakan yang positif pada *presumptive test* dipindahkan ke dalam media BGLBB menggunakan jarum ose sebanyak 1 hingga 2 ose.
- 3) Kemudian tabung yang berisi biakan yang telah dimasukkan pada media BGLBB diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 37°C untuk melihat adanya bakteri *Coliform*.
- 4) Kemudian melakukan pembacaan dengan melihat jumlah tabung BGLBB yang menunjukkan kekeruhan dan positif gas.

F. 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 jumlah bakteri *Coliform* dibandingkan dengan standar BPOM RI Nomor 16 tahun 2016.