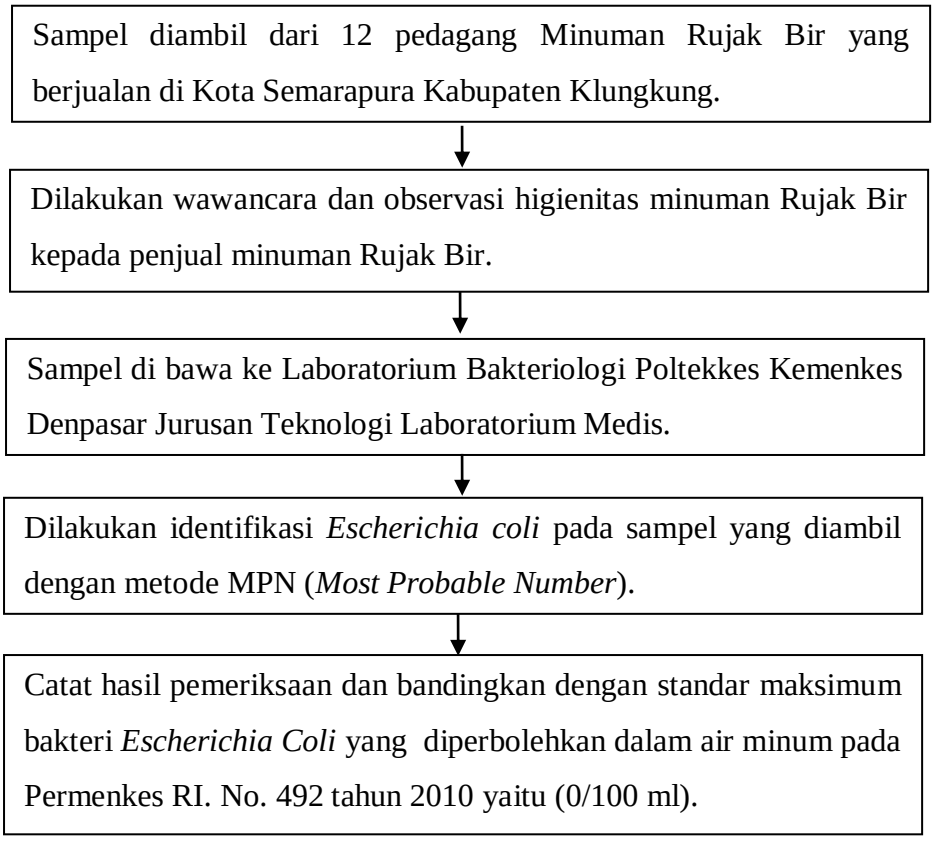
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian secara deskriptif. Penelitian deskriptif adalah suatu metode yang dilakukan untuk mendeskripsikan, menjelaskan, menemukan dan memaparkan sesuatu yang diteliti oleh peneliti (Santoso, 2016). Adapun penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh gambaran tentang bakteri *Escherichia coli* pada minuman Rujak Bir yang dijual di Kota Semarapura Kabupaten Klungkung.

B. Alur Penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Minuman Rujak Bir yang Dijual di Kota Semarapura Kabupaten Klungkung

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada 2 tempat yakni di Kota Semarapura sebagai tempat pengumpulan sampel dan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Denpasar, Jalan Sanitasi No.1, Sidakarya sebagai tempat melakukan pemeriksaan *Escherichia coli*.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai bulan Mei tahun 2022.

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian dapat diartikan sebagai wilayah generalisasi yang terdiri atas objek/ subjek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan dalam suatu penelitian untuk dipelajari dan kemudian dapat ditarik kesimpulannya (Imas dan Anggita, 2018). Populasi dalam penelitian ini adalah Seluruh minuman Rujak Bir yang dijual dari beberapa pedagang di Kota Semarapura yang meliputi Kelurahan Semarapura Kaja, Kelurahan Semarapura Tengah, Kelurahan Semarapura Kangin, Kelurahan Semarapura Kelod, Kelurahan Semarapura Kelod Kangin, dan Kelurahan Semarapura Kauh yang berjualan pada pagi hari. Jumlah populasi berdasarkan survei penulis berjumlah 12 Minuman Rujak Bir dari pedagang yang berbeda.

2. Sampel Penelitian

Sampel merupakan bagian dari jumlah yang dimiliki oleh populasi penelitian yang akann diteliti (Garaika dan Darmanah, 2019). Dalam Penelitian ini sampel penelitiannya adalah Minuman Rujak Bir yang dijual di Kota Semarapura Kabupaten Klungkung.

a. Besar Sampel

Menurut Garaika dan Darmanah (2019) apabila jumlah populasi relatif kecil yaitu kurang dari 30, maka seluruh populasi dalam penelitian akan dijadikan sampel dalam penelitian. Adapun jumlah besar sampel dalam penelitian ini adalah 12 Minuman Rujak Bir yang diambil dari 12 pedagang Minuman Rujak Bir yang berjualan di Kota Semarapura Kabupaten Klungkung.

b. Unit Analisis

Unit analisis merupakan sesuatu yang berkaitan dengan fokus atau komponen yang diteliti (Sonia, 2020). Adapun unit analisis dari penelitian ini adalah *Escherichia coli* dalam Minuman Rujak Bir.

c. Teknik Sampling

Teknik pengumpulan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik Sampling Jenuh. Sampling jenuh adalah teknik penentuan sampel yang dimana semua anggota dari populasi digunakan sebagai sampel. Hal ini dikarenakan jumlah populasi relatif kecil, yaitu kurang dari 30. Istilah lain sampel jenuh adalah sensus, dimana semua anggota populasi dijadikan sampel. (Garaika dan Darmanah, 2019).

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Data yang Dikumpulkan

a. Data Primer

Data primer meliputi data hasil wawancara, observasi higenitas minuman Rujak Bir, dan pemeriksaan jumlah angka MPN (*Most Probable Number*) bakteri *Escherichia coli* pada Minuman Rujak Bir yang akan diteliti di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Denpasar.

b. Data sekunder

Data sekunder adalah data yang diperoleh dari sumber lain, misalnya dengan mengutip data dalam bentuk yang sudah jadi dalam situs resmi dan terpercaya, seperti data tentang kasus diare di Indnesia secara keseluruhan dan di masing-masing provinsi hingga tingkat kecamatan dengan mengutip di laman Kementerian Kesehatan RI (Kemenkes RI), lalu mencari nilai rujukan kandungan *Escherichia coli* maksimum dalam air minum yang dikutip dalam Permenkes RI No: 492/MENKES/PER/IV/2010.

2. Cara Pengumpulan Data

Cara pengumpulan data pada penelitian ini adalah dengan melakukan wawancara dengan penjual minuman Rujak Bir dan observasi higienitas minuman Rujak Bir. Selain itu, pengumpulan data juga dilakukan dengan mengambil sampel minuman Rujak Bir yang dijual. Kemudian diuji di laboratorium untuk mencari total bakteri *Escherichia coli* dengan metode MPN (*Most Probable Number*). Hasil uji laboratorium dibandingkan dengan Permenkes RI No: 492/MENKES/PER/IV/2010 tentang standar baku total bakteri *Escherichia coli* dalam air minum.

3. Instrumen Pengumpulan Data

a. Alat tulis yang digunakan untuk mengisi lembar wawancara, pelabelan, dan pencatatan hasil pemeriksaan MPN minuman Rujak Bir.
b. Label yang digunakan untuk pelabelan sampel
c. *Cool box* yang digunakan untuk meletakkan sampel yang telah terkumpul.
d. Lembar wawancara kepada penjual minuman Rujak Bir.
e. Lembar observasi kondisi higienis minuman Rujak Bir
f. Kamera digunakan untuk dokumentasi.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Erlenmeyer (*Iwaki-Pyrex*®) 500 mL, erlenmeyer (*Iwaki-Pyrex*®) 1000 mL, gelas ukur (*Iwaki- Pyrex*®) 500 mL, gelas ukur (*Iwaki- Pyrex*®) 1000 mL, tabung reaksi (*Iwaki-Pyrex*®), tabung durham, rak tabung, pipet ukur (*Iwaki- Pyrex*®) 10 mL, ballpipet, spatula, ose cincin, neraca analitik (*Radwag*), incubator suhu 37°C (T01892-*Esco*), incubator suhu 44°C (T01892-*Esco*), *autoclave* (*Tomysx-500*), *hotplate* (*Jisico*), *magnetic stirrer* (*Jisico*), *bluetip*, mikropipet (*Socorex*) 100 – 1000 µl, oven (*elos heat), petri disk disposable*, lampu Bunsen, *ice pack*, coolbox, *refrigerator* , aluminium foil, benang gulung, kapas berlemak, korek api.

2. Bahan

Sampel Minuman Rujak Bir, Aquadest, Media *Lactose Broth Single Strength*, Media *Lactose Broth Doubel Strength*, Media *Brilliant Green lactose Bile Broth*, dan Media *Eosin Methylene Blue Agar*, Alkohol 98%.

G. Prosedur Kerja

1. Pengumpulan Sampel

Sampel dikumpulkan dengan cara dibeli dari pedagang Minuman Rujak Bir dengan menggunakan plastik kemasan, kemudian dimasukkan kedalam *cool box* berpendingin untuk mencegah kerusakan pada sampel, lalu sampel dibawa Laboratorium Bakteri Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Denpasar.

2. Sterilisasi Alat

a. Disiapkan alat yang terbuat dari kaca dan dibungkus dengan aluminium foil, lalu dibungkus lagi dengan kertas buram dan diikat

b. Disterilkan dalam oven dengan suhu 160°C selama 2 jam.

3. Pembuatan Media

a. Pembuatan Media *Lactosa Broth Single Stength* (LBSS)

1) *Lactosa broth* ditimbang sebanyak 3,38 gram

2) Dilarutkan dengan 260 mL akuades didalam erlenmeyer

3) Dipanaskan diatas *hotplate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga larut

4) Dipipet sebanyak 10 ml kedalam masing-masing tabung reaksi yang telah ditempatkan tabung durham secara terbalik.

5) Ditutup dengan kapas steril dan aluminium foil

6) Disterilisasi ke dalam *Autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit, proses sterilisasi dihitung saat suhu telah mencapai 121°C.

7) Media yang telah disterilisasi, didiamkan sampai suhu media turun menjadi ± 40 – 50°C.

8) Apabila media tidak langsung digunakan, disimpan didalam *refrigerator*

b. Pembuatan Media *Lactosa Broth Double Stength* (LBDS)

1) *Lactosa broth* ditimbang sebanyak 16,14 gram

2) Dilarutkan dengan 620 mL akuades didalam erlenmeyer

3) Dipanaskan diatas *hotplate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer*

4) Dipipet sebanyak 10 ml kedalam masing-masing tabung reaksi yang telah ditempatkan tabung durham secara terbalik.

5) Di tutup dengan kapas steril dan aluminium foil

6) Disterilisasi ke dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit, proses sterilisasi dihitung saat suhu telah mencapai 121°C.

7) Media yang telah disterilisasi, didiamkan sampai suhu media turun menjadi ± 40 – 50°C.

8) Apabila media tidak langsung digunakan, disimpan didalam *refrigerator*

c. Pembuatan Media *Brillian Green Lactose Bile Broth* (BGLBB)

1) *Brillian green lactose bile broth* ditimbang sebanyak 28 gram

2) Dilarutkan dengan 700 mL akuades didalam erlenmeyer

3) Dipanaskan diatas *hotplate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer*

4) Dipipet sebanyak 10 ml kedalam masing-masing tabung reaksi yang telah di tempatkan tabung durham secara terbalik.

5) Di tutup dengan kapas steril dan aluminium foil

9) Disterilisasi ke dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 30 menit, proses sterilisasi dihitung saat suhu telah mencapai 121°C.

10) Media yang telah disterilisasi, didiamkan sampai suhu media turun menjadi ± 40 – 50°C.

11) Apabila media tidak langsung digunakan, disimpan didalam *refrigerator*

d. Pembuatan Media *Eosin Methylene Blue Agar* **(**EMBA)

1) Ditimbang *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) sebanyak 9,02 gram

2) Dilarutkan dengan 240 mL akuades didalam erlenmeyer
3) Dipanaskan diatas *hotplate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer*
4) Disterilisasi ke dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit, proses sterilisasi dimulai saat suhu telah mencapai suhu 121°C
5) Dituang ke dalam *petri disk disposible* ± 15 ml dan didiamkan sampai memadat.

4. Uji Pendugaan

Prosedur uji pendugaan berdasarkan langkah kerja dari (Nurmalasari *et al.*, 2019) yang disesuaikan dengan penelitian ini.

a. Disiapkan 5 tabung yang masing-masing berisi 10 ml *Lactose broth double strength* (a1-a5), dan 2 tabung yang berisi masing – masing 10 ml *Lactose broth single strength* (b1,c1), masing - masing tabung dimasukkan tabung durham dengan posisi terbalik.
b. Kedalam tabung a1-a5 ditambahkan 10 ml sampel, tabung b1 ditambahkan 1 ml sampel, tabung c1 ditambahkan 0,1 ml sampel.
c. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 ºC.
d. Diamati apakah terbentuk gas pada tiap-tiap tabung, terbentuknya gas menandakan tes perkiraan positif dan dilanjutkan ke tes penegasan.
e. Bila dalam kurun waktu 24-48 jam tidak terbentuk gas, tes perkiraan dinyatakan negatif, dan tidak perlu dilanjutkan ke tes penegasan.

5. Uji Penegasan

Prosedur uji penegasan berdasarkan langkah kerja dari Imanuel (2019) yang disesuaikan dengan penelitian ini.

a. Dari tiap – tiap tabung pada uji penduga yang hasilnya positif, dipindahkan 1-2 ose ke dalam tabung uji penegasan yang berisi 10 ml BGLBB
b. diinkubasi pada suhu 44°C selama 24 jam
c. Pembacaan dilakukan setelah 24 – 48 jam dengan melihat jumlah tabung BGLBB yang menunjukkan positif gas.

6. Uji Pelengkap

Prosedur uji pelengkap berdasarkan langkah kerja dari Yuliana dan Amin (2016) yang disesuaikan dengan penelitian ini.

a. Dari tiap tabung yang positif pada media BGLBB, dipindahkan 1 ose ke dalam cawan petri dengan melakukan streak pada media EMB
b. Diinkubasi pada suhu 37℃ selama 24 jam. Hasil positif mengandung *Escherichia coli* ditandai dengan terbentuknya koloni berwarna hijau metalik pada media EMB.

7. Pembacaan Hasil

Dicatat jumlah tabung yang positif pada uji penegasan (*confirmative test*), dan hasil positif pada uji pelengkap (*completed test*). Angka yang diperoleh dicocokkan dengan tabel MPN Formula Thomas, maka akan diperoleh nilai MPN bakteri *Escherichia coli* dalam Minuman Rujak Bir.

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Data yang terkumpul dari penelitian ini baik dari hasil pemeriksaan MPN total *Escherichia coli*, wawancara dengan penjual minuman Rujak Bir, dan observasi tempat berjualan akan dikumpulkan dan diolah kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan uraian kalimat.

2. Analisis Data

Analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif dengan mendeskriptifkan data yang diperoleh baik data kuantitatif angka MPN *Escherichia coli* pada Minuman Rujak Bir maupun data kualitatif hasil dari wawancara dan obseravsi dengan penjual Minuman Rujak Bir yang dijadikan sampel. Angka MPN lalu dibandingkan dengan persyaratan mikrobiologi air minum yang terdapat dalam Permenkes RI No: 492/MENKES/PER/IV/2010. Dinyatakan sudah memenuhi syarat apabila dalam air minum jumlah maksimum bakteri *Escherichia coli* yaitu 0/100 mL.