

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah Penelitian Deskriptif, populasi dan sampel yaitu salah satu penelitian dengan menggambarkan serta menginterpretasi suatu objek sesuai dengan kenyataan atau tidak melakukan manipulasi variabel dan juga selalu mengutamakan fakta (Ridwan 2012).

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat pengambilan sampel air rendaman tahu yaitu di Pasar Mandonga Kota Kendari dan penelitian telah dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Kendari.
2. Waktu penelitian telah dilaksanakan pada tanggal 26 juni sampai 6 Agustus 2020.

C. Populasi dan sampel

- a. Populasi adalah keseluruhan dari semua variabel yang menyangkut masalah yang diteliti (Nursalam,2003). Populasi dari penelitian ini adalah 20 tempat penjual tahu yang di jual di Pasar Mandonga Kota Kendari.
- b. Sampel adalah bagian dari populasi yang dipilih dengan teknik sampling tertentu untuk bisa mewakili atau memenuhi populasi (Nursalam,2003). Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan *purposive sampel* yaitu dalam memilih sampel dari populasi dilakukan secara tidak acak dan didasarkan dalam suatu pertimbangan tertentu yang dibuat oleh peneliti sendiri berdasarkan ciri atau sifat populasi yang sudah diketahui sebelumnya (Moleong,2004). Sampel dari penelitian ini adalah 3 sampel air tahu yang diperoleh dengan memperhatikan keadaan hygiene dan sanitasi tempat berjualan tahu dan memperhatikan keadaan air tahu yang keruh di pasar Mandonga Kota Kendari. Kriteria sampel meliputi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi, dimana kriteria tersebut menentukan

dapat atau tidaknya sampel digunakan.

Adapun kriteria Inklusi dan kriteria Eksklusi adalah sebagai berikut :

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah kriteria dimana subjek penelitian dapat mewakili dalam sampel penelitian yang memenuhi syarat sebagai sampel (Notoatmodjo, 2002), yaitu :

Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah :

- Air tahu yang keruh
- sanitasi tempat berjualan

b. Kriteria Eksklusi

Kriteria inklusi adalah kriteria dimana subjek penelitian tidak dapat mewakili sampel karena tidak memenuhi syarat sebagai sampel (Notoatmodjo, 2002), yaitu :

Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah :

- Baunya Tidak asam
- Permukaannya tidak licin.

D. Jenis data

1. Data primer yaitu data yang diperoleh langsung dari hasil penelitian indentifikasi bakteri *E. coli* pada sampel air tahu yang dijual di pasar Mandonga Kota Kendari
2. Data Skunder yaitu data yang dikumpulkan dari buku, jurnal-jurnal penelitian dan hasil penelitian terdahulu
3. Tabulasi, yaitu mempersiapkan tabel yang diperoleh langsung dari hasil penelitian indentifikasi bakteri *E. coli* pada sampel air tahu yang dijual di pasar Mandonga Kota Kendari

E. Prosedur Pengambilan Data

Data dikumpulkan mulai dari awal penyusunan proposal yaitu data primer yaitu data yang berasal dari jurnal dan Karya Tulis Ilmiah (KTI), dan data

sekunder yaitu data yang berasal dari buku yang berkaitan dengan variabel penelitian.

F. Instrument penelitian

1. Alat yang digunakan :

- 1) Botol Sampel
- 2) Gelas Ukur
- 3) Pipet tetes & Pipet ukur
- 4) Tabung Reaksi
- 5) Tabung Durham
- 6) Rak Tabung
- 7) Erlenmeyer
- 8) Inkubator
- 9) Autoclave
- 10) Lampu spiritus
- 11) Beaker Glass
- 12) Batang pengaduk
- 13) Ose
- 14) Cawan Petri
- 15) Oven
- 16) Kaki Tiga
- 17) Kawat Kasa

2. Bahan yang digunakan :

- 1) Air tahu
- 2) Aquadest
- 3) Kapas/aluminium Foil
- 4) PH Universal
- 5) Media *Lactose Broth* (LB)

6) Media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB)

7) Media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA)

G. Prosedur kerja

1. Pra Analitik

a. Persiapan Sampel : Air tahu yang akan diteliti dimasukkan pada botol sampel yang steril, kemudian diberi kode pada masing-masing wadah.

b. Persiapan alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini dicuci bersih dan dikeringkan kemudian dibungkus dengan kertas.

c. Pengambilan Sampel Penelitian :

- 1) Di Siapkan botol sampel yang steril
- 2) Di Masukan sampel air tahu kedalam wadah tersebut
- 3) Di beri label, kemudian dibawah kelaboratorium
- 4) Siap untuk diperiksa

d. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilisasi dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 1 jam.

e. Pembuatan media

1) *Lactose Broth* (LB)

- a) Disiapkan alat dan bahan
- b) Ditimbang *Lactose Broth* sebanyak 2,73 gram untuk media *Lactose Broth*, kemudian masing – masing masukkan dalam erlenmeyer yang sesuai, larutkan dengan aquades lalu kocok hingga homogen.
- c) Dihomogenkan menggunakan Waterbath sampai serbuk larut sempurna.
- d) Di Cek pH $7,0 \pm 0,2$, kemudian tutup dengan kapas dan kertas perkamen atau alumunium foil.
- e) Di Sterilkan dalam Autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit

f) Dinginkan hingga suhu 40 – 50⁰C, kemudian disimpan dilemari Es

2) *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB)

a) Disiapkan alat dan bahan.

b) Ditimbang 4,8 gram n, masukan dalam Erlenmeyer yang sesuai, lalu kocok hingga homogen.

c) Dihomogenkan menggunakan waterbath sampai serbuk larut sempurna.

d) Di Cek pH 7,2 ± 0,2 kemudian tutup dengan kapas dan kertas perkamen atau almunium foil.

e) Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

f) Dinginkan hingga suhu 40 – 50⁰C, kemudian disimpan dilemari Es

.3) *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA)

a) Disiapkan alat dan bahan.

b) Ditimbang 6,8 gram, masukan dalam erlenmeyer yang sesuai kemudian larutkan dengan aquades hingga 180 mL, lalu homogenkan.

c) Diukur pH 7,1 ± 0,2 kemudian tutup dengan kapas dan kertas perkamen atau almunium foil.

d) Dipanaskan menggunakan *waterbath* sampai serbuk larut sempurna.

e) Dipipet media kedalam tabung reaksi sebanyak 10 ml menggunakan pipet ukur dan di tutup dengan menggunakan kapas.

f) Disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

g) Didinginkan pada suhu ruang kemudian disimpan di lemari Es.

2. Analitik

Cara pemeriksaan yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode MPN (*Most Prprobable Number*) dengan ragam 5 1 1 .

a. Uji penduga (*Presumptive Test*)

1) Disiapkan alat dan bahan

- 2) Disiapkan 5 tabung berisi 5 mL media LB Double Strength diberi kode T1D, kemudian 1 tabung berisi 5 mL media LB Single Strength di beri kode T1S 1 Ml dan 1 tabung berisi 5 mL media LB Single Strength diberi kode T1S 0,1 mL.
- 3) Diletakkan pada rak tabung secara berderetan. Sampel air tahu dipipet secara steril dan di masukkan dalam tabung kode T1D masing-masing 10 mL, tabung kode T1S 1 mL sebanyak 1,0 mL dan tabung kode T1S 0,1 mL sebanyak 0,1 mL.
- 4) Tabung perlahan-lahan dikocok agar sampel menyebar rata ke seluruh bagian medium atau sampel homogen, kemudian inkubasi pada inkubator dengan suhu 35⁰C-37⁰C selama 1 X 24 jam Kemudian mengamati timbulnya gas pada setiap tabung Durham. Jika tidak timbulnya gas pada setiap tabung maka di inkubasi lagi 1 X 24 jam.
- 5) Setiap tabung yang mengalami kekeruhan dan menghasilkan gas dalam tabung Durham (adanya gas menunjukkan tes perkiraan positif).
- 6) Catat jumlah tabung yang positif lalu lanjutkan ke uji konfirmasi atau uji penguat.

Tabel 2. uji penduga (Fardiaz, 1993)

Jumlah tabung & tabung durham	Volume media pertabung	Volume sampel pertabung
5	10 ml (kosentrasi ganda)	10 ml
1	10 ml (kosentrasi biasa)	1,0 ml
1	10 ml (kosentrasi biasa)	0,1 ml

Fardiaz, 1993

- b. Uji penguat (*confirmed Test*)
 - a. Dsiapkan alat dan bahan
 - b. Disiapkan 7 tabung berisi media BGLB sebanyak 9 mL

- c. Dari masing-masing tabung yang positif pada media LB diambil sebanyak 1-2 ose dari setiap tabung dan di inokulasikan pada media BGLB.
 - d. Semua tabung di inkubasi pada inkubator dengan suhu 35 0C- 37 0 C selama 24-48 jam.
 - e. Pengamatan dilakukan pada setiap tabung BGLB. Tabung yang menghasilkan gas pada tabung Durham dinyatakan positif
- c. Uji Pelengkap
- 1) Menyiapkan cawan petri berisi media EMBA sebanyak tabung positif pada media BGLB.
 - 2) Tabung positif pada media BGLB diambil masing-masing 1 ose dan diinokulasikan pada media EMBA dengan goresan.
 - 3) Semua cawan petri Media Emba diinkubasikan di incubator pada suhu 37 0C selama 24-48 jam.
 - 4) Mengamati perubahan warna pada media EMBA. Warna hijau metalik menunjukkan koloni *Coliform Fekal (Escherichia coli)*, warna merah menunjukkan koloni *Coliform Non Fekal*.

3. Pasca Analitik

- a) Positif (+) : Ada *Escherichia coli* jika terdapat koloni berwarna hijau metalik pada uji pelengkap.
- b) Negative (-) : Tidak ada *Escherichia coli* jika tidak terdapat koloni berwarna hijau metalik pada uji pelengkap

Sampel yang positif kemudian dicatat dan di sesuaikan dengan tabel MPN (*Most Probable Number*) menurut Formula Thomas

H. Pengolahan data

1. Entry, yaitu masukan data dalam program computer untuk dilakukan analisis lanjut
2. Editing, mengkaji dan meneliti data yang telah terkumpul

3. Coding, yaitu memberikan kode pada data untuk memudahkan dalam memasukan data ke program computer.

I. Penyajian data

Data disajikan dalam bentuk tabel kemudian di jabarkan dalam bentuk narasi.

J. Etika penelitian

Dalam penelitian ini, masalah etika sangat diperhatikan dengan menggunakan metode :

1. *Ananomy* (tanpa nama)

Dilakukan dengan cara tidak memberikan nama hanya menuliskan kode pada sampel

2. *Confidentiality* (kerahasiaan)

Menjamin kerahasiaan hasil penelitian baik informasi maupun masalah – masalah lainnya. Informasi yang dikumpulkan dijamin kerahasiaannya oleh peneliti, hanya kelompok data tertentu yang akan dilaporkan pada hasil riset.