

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu deskriptif untuk mengamati ada atau tidaknya bakteri *coliform* pada minuman *Thai Tea* Di Wilayah Pesisir Desa Toronipa Kecamatan Soropia.

B. Tempat Penelitian dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

- a) Tempat pengambilan sampel

Tempat pengambilan sampel penelitian ini Di Wilayah Pesisir Desa Toronipa Kecamatan Soropia.

- b) Tempat penelitian

Tempat Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Kendari.

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada tanggal 01 April- 25 Mei 2023

C. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah minuman *Thai tea* yang diperjual-belian di wilayah pesisir Desa Toronipa Kecamatan Soropia dengan jumlah 5 sampel. Pada penelitian ini sampel di dapatkan dengan teknik total sampling.

D. Jenis Data

1. Data Primer

Data primer didapatkan penelitian ini merupakan data yang didapati langsung melalui hasil pemeriksaan dilaboratorium untuk Identifikasi Bakteri *Coliform* pada minuman *Thai Tea* Di Wilayah Pesisir Desa Toronipa Kecamatan Soropia.

2. Data Sekunder

Data sekunder pada penelitian ini merupakan data yang dikumpulkan dari buku, jural dan penelitian-penelitian terdahulu yang dipublikasikan kemudian dijadikan landasan teori.

E. Teknik Pengumpulan Data

Sampel yang dikumpulkan secara keseluruhan yang berjumlah 5 sampel dari 5 pedagang minuman *Thai Tea*, selanjutnya data diambil dari hasil pemeriksaan laboratorium dengan menggunakan metode *MPN Coliform*.

F. Instrumen Penelitian

Pada penelitian ini instrumen yang digunakan adalah mengamati secara langsung objek yang diteliti dalam hal ini mengidentifikasi bakteri *coliform* pada media LB dengan menggunakan ragam 5 1 1 pada pemerikssan MPN.

G. Prosedur penelitian

1. Pra Analitik

a. Persiapan sampel : Minuman *Thai Tea* yang akan diteliti dimasukkan pada botol kaca coklat yang steril, kemudian diberi kode pada masing-masing wadah.

b. Persiapan alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat pemeriksaan sampel secara bakteriologis yang ada di laboratorium, antara lain:

a) Alat

a)Alat yang digunakan dalam pengambilan sampel

1) Alat tulis

2) Kertas label

3) Botol kaca coklat steril

b). Alat yang digunakan pada pemeriksaan laboratorium yaitu :

- 1) Gelas ukur
- 2) Pipet tetes
- 3) Pipet volume
- 4) Tabung reaksi
- 5) Tabung durham
- 6) Erlenmeyer
- 7) Timbangan analitik
- 8) Autoclave
- 9) Incubator
- 10) Ose
- 11) Waterbath
- 12) Batang pengaduk

b) Bahan

- a) Aquades
- b) Minuman *Thai Tea*
- c) *Lactose Broth*
- d) *Brilliant Green Lactose Broth*
- e) Kapas/ aluminium foil

c. Pengambilan sampel penelitian

- a. Siapkan botol kaca coklat yang steril
- b. Masukkan sampel Minuman *Thai Tea* kedalam botol sampel
- c. Diberi label, kemudian dibawa ke laboratorium
- d. Siap untuk diperiksa.

d. Sterilisasi Alat

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

e. Pembuatan Media

a. *Lactose Broth* (LB)

- a) Siapkan alat dan bahan
- b) Timbang media *Lactose Broth* sebanyak 4,55 gram, larutkan kedalam aquades sebanyak 350 mL lalu homogenkan.
- c) Di homogenkan menggunakan waterbath sampai serbuk larut sempurna.
- d) Cek pH $7,0 \pm 0,2$, kemudian tutup dengan kapas atau aluminium foil. Jika kurang asam tambahkan HCl 0,1 N dan jika kurang basa ditambahkan NaOH 0,1 N.
- e) Tuang kedalam tabung reaksi kemudian sterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- f) Dinginkan hingga suhu 40-50 °C.

b. *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB)

- a) Siapkan alat dan bahan
- b) Timbang 2,8 gram, masukkan dalam erlenmeyer yang sesuai kemudian larutkan dengan aquadest hingga 70 ml, lalu homogenkan.
- c) Di homogenkan menggunakan waterbath sampai serbuk larut sempurna.
- d) Cek pH $7,0 \pm 0,2$, kemudian tutup dengan kapas atau aluminium foil. Jika kurang asam tambahkan HCl 0,1 N dan jika kurang basa ditambahkan NaOH 0,1 N.
- e) Tuang kedalam tabung reaksi kemudian sterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- f) Dinginkan hingga suhu 40-50 °C.

2. Analitik

Cara pemeriksaan yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode MPN ragam 5 1 1.

a. Uji penduga

- a) Siapkan alat dan bahan
- b) Menyiapkan 5 tabung berisi 10 mL media LB *Double Strength* diberi kode DS, kemudian 1 tabung berisi 10 ml media LB *Single Strength* diberi kode SS1 dan 1 tabung berisi 10 mL media LB *Single Strength* diberi kode SS2. Diletakkan pada rak tabung secara berderetan.
- c) Bahan uji miunan *Thai Tea* dipipet secara steril dimasukkan dalam tabung kode DS masing-masing 10 mL, tabung SS1 sebanyak 1 mL dan tabung kode SS2 sebanyak 0,1 mL.
- d) Tabung perlahan-lahan dihomogenkan, kemudian inkubasi pada incubator dengan suhu 35-37°C selama 1x24 jam.
- e) Kemudian diamati timbulnya gas pada setiap tabung Durham.
- f) Setiap tabung yang mengalami kekeruhan dan menghasilkan gas dalam tabung Durham (adanya gas menunjukkan tes perkiraan positif). Catat jumlah tabung yang positif lalu lanjutkan ke uji konfirmasi atau uji penguat.

b. Uji Konfirmasi

- a) Siapkan alat dan bahan
- b) Menyiapkan tabung berisi media BGLB sebanyak 10 mL.
- c) Dari masing-masing tabung yang positif pada media LB diambil sebanyak 1-2 ose dari setiap tabung yang positif pada media BGLB.
- d) Semua tabung diinkubasi pada incubator pada suhu 35-37°C selama 1x24 jam.
- e) Pengamatan dilakukan di waktu 1x24 jam. Tabung yang menghasilkan gas pada tabung Durham dinyatakan positif.

3. Pasca analitik

a. Uji penduga

a) Pada uji penduga dikatakan positif bakteri *Coliform* apabila dalam tabung durham terbentuk gas.

b) Negatif bakteri *Coliform* apabila dalam tabung durham tidak terbentuk gas.

b. Uji konfirmasi

a) Positif bakteri *Coliform* apabila dalam tabung durham terbentuk gas.

b) Negatif bakteri *Coliform* apabila dalam tabung durham tidak terbentuk gas.

H. Pengolahan Data

Pengolahan data pada penelitian yaitu dengan Pemberian kode (*Coding*) yang bertujuan untuk memudahkan dalam hal melakukan pengolahan data.

I. Analisis Data

Data dianalisis menggunakan analisis data deskriptif, untuk memberikan gambaran mengenai subjek penelitian yang ditampilkan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi.

J. Penyajian Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini disajikan dalam bentuk tabel disertai dengan penjelasan pada tabel.