

BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Deskriptif yaitu memberikan gambaran ada tidaknya Bakteri *Coliform* yang terkontaminasi pada sampel Es Pisang Ijo yang berada di wilayah Pesisir Desa Bokori Kecamatan Soropia.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

a. Tempat Pengambilan Sampel

Tempat pengambilan sampel dalam penelitian yaitu Di Wilayah Pesisir Desa Bokori Kecamatan Soropia.

b. Tempat penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kendari.

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 21 Mei – 25 Mei 2023.

C. Bahan Uji

Berdasarkan hasil observasi yang telah dilakukan bahan Uji yang digunakan pada penelitian ini adalah Es Pisang Ijo yang di perjual belikan dari 5 pedagang di Wilayah Pesisir Desa Bokori Kecamatan Soropia.

D. Jenis Data

Jenis Data Jenis data yang digunakan pada penelitian ini yaitu:

a. Data Primer

Jenis data primer meliputi hasil survei yang diperoleh langsung dari tempat penelitian.

b. Datar Sekunder

Jenis data sekunder yang digunakan adalah data yang diperoleh dari buku, jurnal penelitian atau media lain yang terkait dengan penelitian.

E. Teknik Pengumpulan Data

Sampel yang dikumpulkan secara keseluruhan yang berjumlah 5 sampel dari 5 pedagang Es Pisang Ijo yang didapatkan dengan teknik *Purposive sampling*, dan selanjutnya data diambil dari hasil pemeriksaan Laboratorium dengan menggunakan metode MPN.

F. Instrumen Penelitian

Instrument penelitian yang digunakan adalah Lembar Observasi pengumpulan data dengan cara mengamati secara langsung objek yang akan diteliti dalam hal ini mengidentifikasi bakteri *Coliform* pada Media LB dengan menggunakan ragam pemeriksaan MPN yaitu 5 1 1.

G. Prosedur Penelitian

Prosedur pengumpulan data dari pengambilan sampel Es Pisang Ijo sampai ditemukan hasil penelitian.

a. Pra Analitik

1. Persiapan Sampel: Es Pisang Ijo yang akan teliti dimasukan pada plastik tip yang steril, kemudian diberi kode pada wadah masing-masing plastik.

2. Persiapan alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat alat pemeriksaan sampel secara Bakteriologis yang terdaapt pada Laboratorium. Adapun Alat alat yang digunakan dalam penelitian yaitu:

a) Alat yang digunakan dalam pengambilan sampel yaitu:

- 1) Alat tulis
- 2) Kertas label
- 3) Plastik sampel

b) Alat yang digunakan pada pemeriksaan laboratorium yaitu:

- 1) Gelas ukur
- 2) Alat tulis
- 3) Pipet tetes
- 4) Pipet volume
- 5) Tabung reaksi

- 6) Tabung durham
- 7) Rak tabung
- 8) Erlenmeyer
- 9) Timbangan analitik
- 10) Autoclave
- 11) Oven
- 12) Incubator
- 13) Ose
- 14) Cawan petri
- 15) Lampu Spiritus
- 16) Batang Pengaduk
- 17) Kaki tiga
- 18) Gelas kimia

c) Bahan

- 1) Aquades
- 2) *Lactose Broth* (LB)
- 3) *Briliant Green Lactosa Broth* (BGLB) 2 %
- 4) Kertas label
- 5) Kapas/ aluminium foil
- 6) Sampel Es Pisang Ijo

d) Pengaambilan sampel penelitian

- 1) Siapkan plastic specimen bag
- 2) Masukkan sampel makanan Es Pisang Ijo kedalam wadah
- 3) Kemudian diberikan label, lalu di bawa ke Laboratorium
- 4) Siap untuk diperiksa

3. Sterilisasi Alat

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

4. Pembuatan media

a) *Lactose Broth* (LB)

- 1) Siapkan alat dan bahan
- 2) Media *Lactose Broth* dibuat dengan menimbang media sebanyak 4,55 Gram dengan menggunakan neraca Analitik
- 3) Kemudian di larutkan dengan menggunakan Aquades sebanyak 350 ml
- 4) Lalu Homogenkan dengan menggunakan waterbath sampai serbuk larut dengan sempurna.
- 5) Cek pH $7,0 \pm 0,2$, Jika kurang asam tambahkan HCL 0,1 N dan jika kurang basa ditambahkan NaOH 0,1 N. kemudian tutup dengan kapas dan kertas perkamen atau aluminium foil.
- 6) Kemudian di sterilkan dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 7) Dinginkan hingga suhu $40\text{--}50^{\circ}\text{C}$.

b) *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB)

- 1) Siapkan alat dan bahan.
- 2) Timbang media BGLB sebanyak 2,4 Gram, masukan dalam Erlenmeyer yang sesuai dan larutkan dengan menggunakan aquades hingga 80 ml.
- 3) Homogenkan dengan menggunakan Waterbath sampai serbuk larut dengan sempurna.
- 4) Cek pH $7,0 \pm 0,2$, Jika kurang asam tambahkan HCL 0,1 N dan jika kurang basa ditambahkan NaOH 0,1 N. kemudian tutup dengan kapas dan kertas perkamen atau aluminium foil.
- 5) Di Sterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 6) Dinginkan hingga suhu $40\text{--}50^{\circ}\text{C}$.

b. Analitik

Pemeriksaan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu menggunakan metode MPN dengan ragam 5 1 1.

1. Uji penduga (*Presumptive Test*)

- a) Siapkan alat dan bahan
- b) Siapkan 5 tabung berisi 5 ml media LB *Double Strength* diberi kode DS, lalu 1 tabung berisi 10 ml media LB *Single Strength* di beri kode SSI, dan 1 tabung berisi 10 ml media LB *Single Strength* diberi kode SS2. Lalu Di letakkan pada rak tabung secara berderetan.
- c) Sampel es pisang ijo ditimbang sebanyak 250 ml dan diancurkan lalu dipipet secara steril dan di masukkan ke dalam tabung kode DS masing-masing 10 ml, tabung kode SSI sebanyak 1 ml dan tabung kode SS2 sebanyak 0,1 ml.
- d) Tabung perlahan-lahan Homogenkan agar sampel merata, kemudian inkubasi pada inkubator dengan suhu 3°C-37°C selama 1 X 24 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). Hasil yang positif akan di lanjutkan ke media *Brilliant Green Lactose Broth*.

2. Uji Konfirmasi(*Confirmed Test*)

- 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 dan di inokulasikan pada media BGLB.
- d) Semua tabung di inkubasi pada inkubator dengan suhu 35°C- 37°C selama 1 x 24 jam.
- e) Pengamatan dilakukan pada setiap tabung BGLB. Tabung yang

menghasilkan gas pada tabung Durham dinyatakan positif.

c. Pasca analitik

1. Uji penduga (*presumptive test*)
 - a) Positif bakteri *Coliform* apabila dalam tabung Durham terbentuk gelembung gas.
 - b) Negatif bakteri *Coliform* apabila dalam tabung Durham tidak terbentuk gas.
2. Uji Konfirmasi (*confirmed test*)
 - a) Positif bakteri *Coliform* apabila terbentuk gas di dasar tabung
 - b) Negatif bakteri *Coliform* apabila tidak terbentuk gas di dasar tabung.
 - c) Tabung yang positif kemudian di catat.

H. Pengolahan data

Pengolahan data diperoleh dari hasil pemeriksaan yang menggunakan metode MPN dengan ragam 5 1 1 yang terdiri dari uji penduga, dan uji penegasan yang di hitung dengan menggunakan table MPN menurut Formula Thomas.

I. Analisis Data

Data yang telah terkumpul kemudian diolah dan dianalisa dengan menggunakan rumus:

$$x = f/n \times K$$

Keterangan:

- | | |
|-----|-----------------------------------|
| x | : presentase Hasil |
| f | : frekuensi variable yang diamati |
| n | : jumlah sampel penelitian |
| K | : Konstanta (100%) |

J. Penyajian Data

Data disajikan dalam bentuk tabel kemudian di jabarkan dalam bentuk narasi