

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu deskriptif untuk mengamati ada atau tidaknya bakteri *coliform* pada minuman serbuk di wilayah Desa Sawadupo Kecamatan Soropia.

B. Tempat Penelitian dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

- a. Tempat pengambilan sampel

Tempat pengambilan sampel dalam penelitian ini yaitu Di wilayah Desa Sawapudo Kecamatan Soropia.

- b. Tempat penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Kendari.

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian telah dilaksanakan pada tanggal 21 April-25 Mei 2023.

C. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah minuman serbuk di wilayah Desa Sawapudo Kecamatan Soropia. Sampel yang di kumpulkan secara keseluruhan yang berjumlah 5 sampel dari 5 pedagang minuman serbuk, Pada penelitian ini teknik pengambilan sampel yaitu *total sampling*.

D. Jenis Data

1. Data Primer meliputi hasil survai peneliti pada penjual minuman serbuk di wilayah Desa Sawapudo Kecamatan Soropia.
2. Data sekunder meliputi tabel syarat mutu air dan panduan baku jurnal.

E. Teknik Pengumpulan Data

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

F. Instrumen penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan adalah mengamati secara langsung objek yang diteliti dalam hal ini mengidentifikasi bakteri *coliform* pada media LB dengan menggunakan ragam pemeriksaan MPN yaitu 511.

G . Prosedur Penelitian

1. Pra Analitik

a. Persiapan sampel : Minuman serbuk yang akan diteliti dimasukkan pada botol sampel 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:

- 1) Autoclave
- 2) Inkubator
- 3) Tabung reaksi
- 4) Tabung durham
- 5) Timbangan analitik
- 6) Pipet volume
- 7) Pipet tetes
- 8) Lampu spiritus
- 9) Batang pengaduk
- 10) Cawan petri
- 11) Gelas ukur
- 12) Erlenmeyer
- 13) Oven
- 14) Kaki tiga
- 15) Ose
- 16) Rak tabung

Bahan yang digunakan:

- 1) Minuman serbuk
- 2) Aquadest
- 3) *Lactose Broth* (LB)
- 4) *Briliant Green Lactosa Broth* (BGLB) 2%
- 5) Kapas/ aluminium foil
- 6) Kertas label

c. Pengambilan sampel penelitian

- 1) Siapkan botol sampel yang steril
- 2) Masukkan sampel Minuman serbuk 10 ml kedalam wadah tersebut
- 3) Diberi label, kemudian dibawa ke laboratorium
- 4) Siap untuk diperiksa

d. Sterilisasi Alat

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

e. Pembuatan Media

- 1) *Lactose Broth* (LB)
 - a) Siapkan alat dan bahan
 - b) Timbang *Lactose Broth* sebanyak 1,62 larutkan kedalam aquadest sebanyak 350 ml lalu homogenkan
 - c) Di homogenkan diatas api spirtus sampai serbuk larut sempurna
 - d) Cek pH $7,0 \pm 0,2$, kemudian tutup dengan kapas dan kertas perkamen atau aluminium foil. Jika kurang asam tambahkan HCL 0,1 dan jika kurang basah ditambahkan NaOH 0,1 N.
 - e) Sterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.
 - f) Dinginkan hingga suhu 40-50 °C, kemudian disimpan dilemari Es.

2) *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB)

- a) Siapkan alat dan bahan
- b) Timbang 3,2 gram, masukkan dalam erlenmeyer yang sesuai kemudian larutkan dengan aquadest hingga 80 ml, lalu kocok hingga homogen.
- c) Di homogenkan diatas api spirtus sampai serbuk larut sempurna
- d) Cek pH $7,0 \pm 0,2$, kemudian tutup dengan kapas dan kertas perkamen atau aluminium foil.
- e) Sterilkan dalam autoclave pada suhu $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit
- f) Dinginkan hingga suhu $40\text{-}50\text{ }^{\circ}\text{C}$, kemudia disimpan dilemari Es.

2. Analitik

Cara pemeriksaan yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*) 5 1 1

a. Uji penduga (*presumptive Test*)

- 1) Siapkan alat dan bahan
- 2) 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.
- 3) Bahan uji minuman serbuk dipipet secara steril dimasukkan dalam tabung kode DS masing-masing 10 mL, tabung SS1 sebanyak 1,0 mL dan tabung kode SS2 sebanyak 1,0 mL.
- 4) Tabung perlahan-lahan dikocok agar sampel menyebar rata keseluruh bagian medium atau sampel homogen, kemudian inkubasi pada incubator denga suhu $35\text{-}37^{\circ}\text{C}$ selama 1×24 jam.

- 5) Kemudian mengamati timbulnya gas pada setiap tabung durham.
 - 6) 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 (*Confirmed Test*)
- 1) Siapkan alat dan bahan
 - 2) Menyiapkan 5 tabung berisi media BGLB sebanyak 10 mL.
 - 3) Dari masing-masing tabung yang positif pada media LB diambil sebanyak 1-2 ose dari setiap tabung yang positif pada media BGLB.
 - 4) Semua tabung diinkubasi pada incubator pada suhu 35-37°C selama 1x24 jam.
 - 5) Pengamatan dilakukan pada setiap hari tabung BGLB. Tabung yang menghasilkan gas pada tabung durham dinyatakan positif.
3. Pasca analitik
- Sampel yang positif kemudian dicatat dan disesuaikan dengan table MPN (*Most Probable Number*).
- a. Uji penduga (*Presumptive Test*)
- 3) Positif bakteri *Coliform* apabila terbentuk gas pada di tabung
 - 4) Negatif bakteri *Coliform* apabila tidak terbentuk gas pada di tabung.
- b. Uji Konfirmasi (*Confirmed test*)
- 3) Positif bakteri *Coliform* apabila terbentuk gas di dasar tabung
 - 4) Negatif bakteri *Coliform* apabila tidak terbentuk gas di dasar tabung.

G. Pengolahan Data

Data hasil pemeriksaan diperoleh dari uji MPN yang terdiri dari uji penduga, uji penguat yang hitung menggunakan tabel MPN menurut Formula Thomas, dan uji pelengkap.

H. Analisis Data

Data yang telah terkumpul diolah kemudian dianalisa dengan menggunakan rumus :

$$x = \frac{f}{n} \times K$$

Keterangan :

f : frekuensi variabel yang diamati

n : jumlah sampel penelitian

K : kostanta (100%)

X : presentase hasil

I. Penyajian Data

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