

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif dengan tujuan untuk mengetahui kualitas minuman sari tebu yang di jual dipinggir jalan Kelurahan Wage Kecamatan Taman Sidoarjo berdasarkan analisa *Most Probable Number* (MPN) *Coliform*.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah minuman sari tebu yang dijual di pinggir jalan Kelurahan Wage Kecamatan Taman Sidoarjo. Dari hasil pengamatan, terdapat 18 penjual minuman sari tebu yang menjual dagangannya dipinggir jalan Wilayah Wage Kecamatan Taman Sidoarjo.

3.2.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah minuman sari tebu yang diambil sebanyak 30 sampel diambil dari 15 orang penjual minuman sari tebu yang masing-masing penjual diambil secara acak sebanyak 2 sampel.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1. Lokasi Penelitian

Pemeriksaan Mikrobiologi secara analisa *Most Probable Number* (MPN) *Coliform* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya bertempat di Jalan Sutorejo No.59 Surabaya.

3.3.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2014 sampai dengan bulan Juli 2015.

3.3.3 Waktu Pemeriksaan Sampel

Waktu Pemeriksaan dilaksanakan pada bulan April 2015

3.4 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah *Most Probable Number* (MPN) *Coliform* pada minuman sari tebu.

3.5 Devinisi Operasional Variabel

Kualitas mikrobiologi dalam penelitian ini ditetapkan berdasarkan nilai *Most Probable Number* (MPN) *Coliform*. Data kualitas dikategorikan menjadi :

- a) Memenuhi syarat (MS) Standar Nasional Indonesia (SNI) 7388:2009 bila hasil pemeriksaan < 20 koloni per 100 ml sampel.
- b) Tidak memenuhi syarat (TMS) Standar Nasional Indonesia (SNI) 7388:2009 bila hasil pemeriksaan > 20 koloni per 100 ml sampel.

Batas maksimum yang diperbolehkan untuk total bakteri *Coilform* adalah < 20 koloni per 100 ml sampel.

3.6 Metode Pengumpulan Data

Data analisa *Most Probable Number* (MPN) *Coliform* minuman sari tebu dikumpulkan di Laboratorium Mikrobiologi. Adapun langkah-langkahnya adalah sebagai berikut :

- 1) Alat :
 - a) Erlenmeyer 250 ml
 - b) Taliwoll

- c) Plastik
 - d) Label / Etiket
 - e) Spidol Marker
 - f) Autoclave
- 2) Prosedur pengambilan sampel :
- a) Minuman sari tebu yang dibeli dipedagang minuman sari tebu dimasukkan kedalam plastik.
 - b) Minuman sari tebu dimasukkan kedalam erlenmeyer yang sudah di steril dengan autoclave kemudian ditutup dengan tali woll.
 - c) Erlenmeyer diberi etiket/label tulis dengan spidol marker, Pemeriksaan harus sudah dikerjakan dalam waktu kurang dari 24 jam sejak saat pembelian.

3.6.1 Metode Pemeriksaan

Untuk pemeriksaan bakteri golongan *Coliform* pada minuman sari tebu digunakan metode MPN 5.1.1.

3.6.2 Prinsip Pemeriksaan

Pemeriksaan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) menggunakan media cair *Lactose Broth* di dalam tabung reaksi sebagai uji nilai duga terdekat, dimana perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif ditandai dengan produksi gas didalam tabung durham setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Tabung berisi *Lactose Broth* yang positif dilanjutkan dengan uji penegasan menggunakan media cair *Brilliant Green Bile Lactosa Broth* (BGLB) didalam tabung reaksi sebagai uji penegasan.

3.6.3 Persiapan Pemeriksaan

3.6.3.1 Peralatan

Alat yang digunakan dalam pemeriksaan ini meliputi :

- a. Pipet volume 10 ml dan 1 ml
- b. Pipet takur 5 ml
- c. Pipet pasteur
- d. Tabung reaksi dan tabung durham
- e. Rak tabung
- f. Inkubator
- g. Autoclave
- h. pH meter
- i. Ose bulat
- j. Erlenmeyer
- k. Beaker glass
- l. Gelas arloji
- m. Gelas ukur
- n. Api spiritus
- o. Batang pengaduk

3.6.3.2 Media dan Reagensia

Media:

- a. *Lactose Broth (LB)*
- b. *Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB)*
- c. Aquadest

3.6.3.3 Cara Pembuatan Media

a. Laktosa Broth Single Strenght (LB)

Komposisi :	1. <i>Beef Extract</i>	3,0 gram
	2. <i>Laktosa</i>	5,0 gram
	3. <i>Peptone</i>	5,0 gram
	4. Aquadest	1 liter

Cara Pembuatan :

1. Mencampur bahan-bahan tersebut diatas dan melarutkan dengan cara dipanaskan.
2. Memasukkan sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dengan posisi terbalik.
3. Menutup dan membungkus masing-masing tabung kemudian ikat.
4. Memasukkan kedalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit.
5. pH setelah sterilisasi $\pm 6,9$

b. Laktosa Broth Double Strenght (LBDS)

Komposisi :	1. <i>Beef Extract</i>	6,0 gram
	2. <i>Laktosa</i>	10,0 gram
	3. <i>Peptone</i>	10,0 gram
	4. Aquadest	2 liter

Cara Pembuatan :

1. Mencampurkan bahan-bahan tersebut diatas dan melarutkan dengan cara dipanaskan.
2. Memasukkan sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dengan posisi terbalik.

3. Menutup tabung dan membungkus masing-masing tabung kemudian ikat.
4. Memasukkan sebanyak 10 cc kedalam tabung pembiakan yang telah berisi tabung durham dengan posisi terbalik.
5. Memasukkan dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit.
6. pH setelah sterilisasi \pm 6,9

c. Brilliant Green Laktosa Bile Broth (BGLB)

Komposisi	: 1. <i>Pepton from meat</i>	10 gram
	2. <i>Oxibile dried</i>	20 gram
	3. <i>Laktosa</i>	10 gram
	4. <i>Brilian B Green</i>	0,0133 gram
	5. Aquadest	1 liter

Cara Pembuatan :

1. Mencampur bahan-bahan tersebut diatas dan melarutkan dengan cara dipanaskan.
2. Memasukkan sebanyak 10 ml kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dengan posisi terbalik.
3. Menutup tabung dan membungkus masing-masing tabung kemudian ikat.
4. Mensterilkan kedalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
5. pH setelah sterilisasi adalah 7,0-7,5.

3.6.3.4 Prosedur Kerja

a. Uji Pendugaan (*Presumptiv Test*)

1. Menyiapkan sampel minuman sari tebu yang akan diperiksa.
2. Menyiapkan tabung media Laktosa Broth (LB II) sebanyak 5 tabung dan Laktosa Broth (LB I) 2 tabung.

3. Memipet dengan cara steril sampel 10 ml kedalam LB II, 1 ml kedalam LB I pertama dan 0,1 kedalam LB I kedua.
4. Menghomogenkan sampel.
5. Menutup masing-masing tabung dan ikat.
6. Menginkubasi pada suhu 37°selama 2x24 jam.
7. Setelah 2x24 jam diamati adanya gas pada tabung durham, apabila terdapat gas dalam tabung tersebut dilanjutkan dengan uji penegasan.

b. Uji Penegasan (*Convirmativ Test*)

1. Dari masing-masing tabung yang menghasilkan gas pada pengujian presumptive mengambil contoh sebanyak 1-2 mata ose steril.
2. Memasukkan kedalam tabung reaski BGLB.
3. Menginkubasi pada suhu 35-37°C selama 24-48 jam.
4. Pembacaan dilakukan setelah 24-48 jam dengan melihat jumlah tabung BGLB yang menunjukkan positif gas.
5. Melakukan pengamatan dan mencatat pada media BGLB yang telah terbentuk gas. Mencocokkan dengan tabel *Most Probable Number* (MPN) deret 5-1-1.

Sumber : Depkes, 1988

3.7 Metode Analisis Data

Tabel 3.1 : Contoh Tabel Hasil Pemeriksaan *Most Probable Number* (MPN) *Coliform* Pada Minuman Sari Tebu yang Memenuhi Syarat dan Tidak Memenuhi Syarat.

NO	KODE SAMPEL	HASIL MPN <i>COLIFORM</i>	KETERANGAN
1			
2			
3			
15			

Keterangan :

MS = Memenuhi Syarat

TMS = Tidak Memenuhi Syarat

Setelah diperoleh hasil dalam bentuk tabel, data kemudian dianalisa berapa persentase dari sampel minuman sari tebu yang memenuhi syarat dan yang tidak memenuhi syarat dan dibuat diagram pie.