BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat deskriptif yaitu menggambarkan adanya kandungan bakteri *Eschericia coli* pada kerupuk kaleng yang dijual di wilayah Sutorejo kota Surabaya.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah kerupuk kaleng yang dijual di warung makan wilayah Sutorejo kota Surabaya sebayak 20 warung makan.

3.2.2 Sampel penelitian

Sampel yang digunakan adalah kerupuk kaleng yang dijual di wilayah Sutorejo kota Surabaya, sebayak 30 sampel kerupuk dari 20 warung makan.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi, Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi D3 Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya Jalan Sutorejo no. 59 Surabaya

3.3.2 Waktu penelitian

Waktu penelitian ini di mulai bulan Desember 2018 sampai dengan waktu bulan Agustus 2019, sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan pada bulan Juli 2019.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel penelitian

Kandungan kuman Eschericia coli pada kerupuk kaleng

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

Untuk mengetahui bakteri *Eschericia coli* pada kerupuk kaleng yang di jual di warung makan di wilayah Sutorejo kota Surabaya :

- 1. Positif (+) : jika ada bakteri *Eschericia coli*
- 2. Negatif (-) : jika tidak ada bakteri *Eschericia coli*

3.5 **Pengumpulan Data dan Analisis Data**

Pengumpulan data berdasarkan observasi atau pengamatan melalui uji laboratorium kemudian diidentifikasi ada tidaknya bakteri *Eschericia coli* pada sampel penelitian.

3.5.1 Pengumpulan Data

1. Pembuatan Media

a) Alat

Pada pembuatan media alat yang digunakan yaitu erlenmeyer, hot plate, gelas ukur, spatula, pipet pasteur, beaker glass, tabung gula-gula steril, petridish steril, kertas pH, rak tabung, neraca analitik, kain kasa, autoclave, pipet ukur 100 ml steril, gelas arloji.

b) Bahan

Bahan atau media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nutrient*Broth (NB), Mac Conkey (MC), Eosin Methylene Blue (EMB).

Prosedur Pembuatan Media

- 1) Nutrient Broth (NB)
 - a) Menimbang media Nutrient Broth (NB)

$$\frac{8}{1000} \times 105 = 0.84 \text{ gram}$$

- b) Dilarutkan dengan aquades sebanyak 105 mL
- c) Panaskan di atas hot plate dan di aduk hingga homogen
- d) Suam-suam media Nutrient Broth (NB) hingga tidak panas
- e) pH media Nutrient Broth (NB) sampai pH 7,0 ± 0,2
- f) Tuangkan media pada tabung, masing-masing 3 mL
- g) Autoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm
- h) Media siap digunakan.
- 2) Mac Conkey (MC)
 - a) Menimbang media Mac Conkey (MC)

$$\frac{50}{1000}$$
 x 525 = 26,25 gram

- b) Dilarutkan dengan aquades sebanyak 525 mL
- c) Panaskan di atas hot plate dan di aduk hingga homogen
- d) Suam-suam media *Mac Conkey* (MC) hingga tidak panas
- e) pH media Mac Conkey (MC) sampai pH 7.1 ± 0.2
- f) Autoclave media dan petridish kosong dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm
- g) Setelah diautoclave tuangkan media *Mac Conkey* (MC) pada petridish steril
- h) Media siap digunakan.

- 3) Eosin Methylene Blue (EMB)
 - a) Menimbang media Eosin Methylene Blue (EMB)

$$\frac{36}{1000}$$
 x 525 = 18,9 gram

- b) Dilarutkan dengan aquades sebanyak 525 mL
- c) Panaskan di atas hot plate dan di aduk hingga homogen
- d) Suam-suam media Eosin Methylene Blue (EMB) hingga tidak panas
- e) pH media Eosin Methylene Blue (EMB) sampai pH 7,1 \pm 0,2
- f) Autoclave media dan petridish kosong dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm
- g) Setelah diautoclave, tuangkan media *Eosin Methylene Blue*(EMB) pada petridish steril
- h) Media siap digunakan.
- 2. Penananman Pada Media Nutrient Broth (NB)
- a. Alat

Pada penanaman media pemupuk alat yang digunakan yaitu tabung, ose bulat, inkubator, vortex, kain kasa, kapas, timbangan analitik, petridish, api spirtus, mortar, dan rak tabung.

b. Bahan

Pada penanaman media pemupuk bahan yang digunakan yaitu *Nutrient*Broth (NB) dan kerupuk kaleng.

c. Prosedur

Hari pertama:

- 1) Teknik Pengambilan Sampel
 - a) Mendatangi 20 warung makan diwilayah Sutorejo Kota Surabaya dengan mengambil sampel kerupuk kaleng
 - b) Teknik pengambilan sampel acak dengan mengambil kerupuk di atas, di bawah, di tengah.
 - c) Di timbang berat awal masing-masing kerupuk
 - d) Dipersiapkan neraca analitik untuk penimbangan masing-masing sampel yang dimasukkan ke media *Nutrient Broth* (NB)
- 2) Penanaman pada Media Nutrient Broth (NB)
 - a) Persiapkan sampel kerupuk yang akan di identifikasi sebanyak 30 merk kerupuk kaleng
 - b) Tumbuk dan haluskan kerupuk dengan mortar dan diambil sampel sebanyak 0,5 gram
 - c) Setelah didapatkan kerupuk halus masukkan kedalam media

 Nutrient Broth (NB)
 - d) Media *Nutrient Broth* (NB) diberi label sesuai dengan nomer sampel masing-masing
 - e) Media *Nutrient Broth* (NB) yang sudah diberi kerupuk dimasukkan kedalam inkubator
 - f) Inkubasi selama 24 jam.

3. Penanaman pada Media Mac Conkey (MC)

Hari kedua:

a. Alat

Pada penanaman media Agar alat digunakan yaitu tabung reaksi, ose bulat, api spurtus, dan inkubator.

b. Bahan

Pada penanaman media *Mac Conkey* (MC) bahan yang digunakan yaitu *Mac Conkey* (MC) dan media *Nutrient Broth* (NB) yang sudah ditanam dan diinkubasi 24 jam.

c. Prosedur

- 1) Ambil media *Nutrient Broth* yang sudah diikubasi selama 24 jam
- 2) Persiapkan dengan menghomogenkan media Nutrient Broth (NB) dengan menggunakan vortex terlebih dahulu
- 3) Ambil ose bulat dan bakar ose hingga membara
- 4) Dinginkan terlebih dahulu dengan menyentuhkan ke tepi media Mac

 Conkey (MC)
- 5) Ambil kuman pada media *Nutrient Broth* (NB) dengan menggunakan ose
- 6) Streaking ke media *Mac Conkey* (MC) dengan metode Y
- 7) Media *Mac Conkey* (MC) yang sudah ditanam diberi label sesuai sampel masing-masing
- 8) Inkubasi media *Mac Conkey* (MC) pada inkubator selama 24 jam.

4. Penanaman pada Media Eosin Methylene Blue (EMB)

Hari ketiga:

a. Alat

Pada penanaman media biokimia reaksi alat yang digunakan yaitu tabung reaksi, ose bulat, api spirtus dan inkubator.

b. Bahan

pada penanaman media *Eosin Methylene Blue* (EMB) bahan yang digunakan yaitu media *Mac Conkey* (MC) yang ditumbuhi oleh kuman yang bercirikan *Escherichia coli*.

c. Prosedur

- 1) Perisiapan sampel dengan mengambil media *Mac Conkey* (MC) yang telah diikubasi 24 jam
- 2) Ambil ose bulat dan bakar ose hingga membara
- 3) Dinginkan terlebih dahulu dengan menyentuhkan ke tepi media Eosin Methylene Blue (EMB)
- 4) Ambil kuman pada media *Mac Conkey* (MC) dengan menggunakan ose
- 5) Streaking ke media Eosin Methylene Blue (EMB) dengan metode Y
- 6) Media Eosin Methylene Blue (EMB) yang sudah ditanam diberi label sesuai sampel masing-masing
- 7) Inkubasi media *Eosin Methylene Blue* (EMB) pada inkubator selama 24 jam.

3.5.2 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian bakteri *Escherichia coli* kemudian ditabulasikan dalam bentuk tabel dan disajikan secara presentase (%) dan dibuat dalam bentuk diagram pie.

Dengan rumus:

$$\frac{n}{\text{total sampel}} \times 100 \% =$$

Keterangan:

n = jumah sampel

Data hasil penelitian yang diperoleh, dapat ditabulasikan seperti Tabel 3.1 dibawah ini

Tabel 3.1 Contoh tabel data hasil pemeriksaan *Eschericia coli* di dalam kerupuk kaleng.

No. Urut	Kode Sampel	Hasil
3//=		ME
	5553	
	Marile	
J		>
	UABH	