

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah deskriptif , yaitu untuk mengetahui Angka Lempeng Total (ALT) pada air gentong yang diminum di Salah Satu Wisata Religi Daerah Surabaya.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah seluruh air gentong yang diminum pada Salah Satu Wisata Religi Daerah Surabaya.

3.2.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah air gentong yang diminum di Salah Satu Wisata Religi Daerah Surabaya, sebanyak 11 sampel yang diambil sebanyak 3 kali.

3.2.3 Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah Total Sampling. Total Sampling adalah teknik pengambilan sampel dimana jumlah sampel sama dengan populasi. (*Nurasa dan Mareti, 2022*)

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Salah Satu Wisata Religi Daerah Surabaya, sedangkan lokasi pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya, Jalan Raya Sutorejo No 59 Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2022 sampai dengan Juli 2023, sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan Mei 2023.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel

Variabel dalam penelitian ini adalah Angka Lempeng Total (ALT) pada air gentong yang diminum.

3.4.2 Definisi Operasional

Angka Lempeng Total (ALT) pada air gentong yang diminum adalah jumlah bakteri mesofil *aerobic* yang dihitung dengan menggunakan metode pengenceran dalam satuan *Coloni Form Unit* (CFU).

Data mengenai Angka Lempeng Total (ALT) dikategorikan sebagai berikut :

Memenuhi syarat apabila $\leq 1,0 \times 10^2$ koloni / ml

Tidak memenuhi syarat apabila $\geq 1,0 \times 10^2$ koloni / ml

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan uji laboratorium Angka Lempeng Total (ALT) pada air gentong yang diminum melalui beberapa tahapan sebagai berikut :

3.5.1 Persiapan sampel

Alat : Botol coklat steril, Kapas swab steril

Bahan : Sampel air dalam wadah, PZ steril, Media Nutriet agar (NA)

Prosedur usap botol steril :

- a. Swab alat menggunakan Kapas swab steril dengan cara mengusap/mengswab bagian permukaan botol dan bagian dalam botol secara merata.
- b. Pindahkan Kapas swab steril ke dalam tabung reaksi berisi PZ steril
- c. Ambil 1 ml sampel dari PZ steril lalu pindahkan ke cawan petri
- d. Selanjutnya tuang media *nutrient agar* yang sudah di cairkan ke dalam cawan petri yang berisi sampel usap alat.
- e. Jika sudah beku dan dingin tempelkan kertas label kemudian masukkan ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.5.2 Pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT) pada sampel

1. Prinsip pemeriksaan

Pertumbuhan koloni bakteri aerob *mesofil* diinokulasikan pada media *nutrient agar plate* dengan cara tuang, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.

2. Alat

Cawan Petri steril, Erlenmeyer steril, pipet steril, pengaduk steril, tabung reaksi steril, bunsen, korek api, gelas ukur steril, beaker glass, neraca analitik, autoklaf, incubator, kain kasa dan kapas, spuit disposable, *coloni counter*, lemari pendingin.

3. Bahan pemeriksaan :

- Air dalam wadah yang diminum
- PZ steril

4. Media pemeriksaan :

- PZ steril

Cara pembuatan PZ steril

- a. Timbang NaCl 8,5 gram ditambah aquades 1 liter kemudian diaduk hingga larut
- b. Ukur pH sampai 7

- c. Selanjutnya disteril dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

- Nutrient Agar steril

Cara pembuatan Nutrient Agar (NA) 165 plate, tiap plate diisi @15ml

$$\frac{28}{1000} \times 2475 = 69,3 \text{ gram}$$

- a. Ditimbang 69,3 gram NA kemudian dilarutkan dengan 2475 ml aquadest dipanaskan hingga larut.
- b. Ukur pH 7,4
- c. Disteril didalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit

5. Prosedur pemeriksaan

- a. Pembuatan suspensi yang pertama dipipet air di wadah yang diminum di Salah Satu Wisata Religi Daerah Surabaya sebanyak 10 ml, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer steril kemudian ditambahkan PZ steril 90 ml, lalu dihomogenkan sampai tercampur, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Bahan suspensi ini selanjutnya siap digunakan untuk pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT).
- b. Menyiapkan 4 tabung reaksi steril, masing – masing berisi 9 ml larutan PZ steril, setiap tabung diberi tanda 10^{-2} sampai dengan 10^{-5} sebagai kode pengenceran.

- c. Menyiapkan 5 cawan Petri steril. Pada 5 cawan Petri diberi tanda bagian belakangnya sesuai dengan kode pengenceran, sedangkan satunya diberi tanda kontrol.
- d. Dihomogenkan suspensi dalam gelas Erlenmeyer, kemudian dipindahkan 1ml suspensi tersebut ke dalam tabung reaksi yang diberi tanda pengenceran 10^{-2} . Campuran ini disebut suspensi 1.
- e. Dari suspensi 1 diambil 1 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang diberi tanda 10^{-3} . Campuran ini disebut suspensi 2. Selanjutnya dilakukan pengenceran seri sehingga didapatkan suspensi 4 (pengenceran 10^{-5}).
- f. Selanjutnya dengan menggunakan pipet steril diinokulasikan suspensi pengenceran (10^{-1}) ke dalam cawan Petri steril. Dari masing-masing tabung diambil 1 ml diinokulasikan ke dalam cawan Petri sesuai dengan kode pengenceran yang sama.
- g. Kemudian ke dalam masing-masing cawan Petri dituangkan media nutrient agar dengan suhu $\pm 46^{\circ}$ C (dalam keadaan masih cair) sebanyak 15-20 ml. campuran ini di dalam Petri dihomogenkan pelan pelan dan dibiarkan hingga dingin dan membeku, untuk cawan Petri kontrol diinokulasikan 1 ml larutan PZ lalu dituangi dengan nutrient agar dengan suhu 45° C dicampur hingga homogen dan dibiarkan beku.
- h. Lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam specimen siap dibaca hasilnya. (Arifan et al., 2019)

6. Cara pembacaan hasil

- a. Koloni yang tumbuh pada masing-masing cawan diamati dan dihitung
- b. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300
- c. Satu deretan rantai koloni terlihat sebagai sutau garis tebal dihitung sebagai satu koloni
- d. Beberapa koloni yang begabung merupakan satu kumpulan koloni yang besar, dimana jumlah koloninya diragukan maka dapat dihitung sebagai satu koloni.
- e. Kontrol tidak boleh ada pertumbuhan. Dan apabila ada pertumbuhan koloni pada kontrol, maka tidak boleh lebih dari 10 koloni
- f. Jika ada pertumbuhan pada kontrol lebih dari 10 koloni maka pemeriksaan perlu diulang karena kemungkinan sterilitasnya kurang.

3.5.3 Tabulasi Data

Data yang diperoleh ditabulasikan pada table 3.1 dibawah ini :

Tabel 3.1 Identifikasi Angka Lempeng Total (ALT) Pada Air Gentong yang Diminum di Salah Satu Wisata Religi Daerah Surabaya.

Kode Sampel	Replikasi	Hasil perhitungan koloni CFU/mL				Standar Plate Count (CFU/mL)	Keterangan
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}		
A	1						
	2						
	3						
	Kontrol						
	Rata- rata						
Dst.							

(Sampai 11)							

3.6 Teknik Analisis Data

Teknik analisis data menggunakan deskriptif kuantitatif. Data yang dikumpulkan yaitu ditemukan adanya bakteri *mesofil aerobic* pada sampel air gentong yang diminum yang memenuhi syarat dan tidak memenuhi syarat lalu dipresentasikan dalam bentuk diagram pie/batang. Dan sebuah hasil yang sudah diolah dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$P = F / N \times 100 \%$$

Keterangan :

P : Persentase sampel yang tidak memenuhi standar

F : Jumlah sampel yang memenuhi standart/tidak memnuhi

N : Jumlah keseluruhan sampel (*Yulandina, et all 2018*)