

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif yaitu untuk mencari gambaran ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Coliform* dengan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) pada minuman teh yang dijual di Daerah Balongpanggang.

#### **3.2 Populasi Dan Sampel Penelitian**

##### **3.2.1 Populasi penelitian**

Dalam penelitian ini populasi yang digunakan adalah minuman teh yang dijual diwarung-warung di Daerah Balongpanggang.

##### **3.2.2 Sampel penelitian**

Sampel yang diambil dalam penelitian ini adalah minuman teh sebanyak 23 sampel yang diambil dari penjual diwarung-warung di Daerah Balongpanggang Gresik.

#### **3.3 Lokasi dan Waktu penelitian**

##### **3.3.1 Lokasi penelitian**

Lokasi penelitian dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

##### **3.3.2 Waktu penelitian**

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2019 sampai dengan bulan Juli 2020, sedangkan waktu pemeriksaan dilaksanakan pada bulan Juli 2020.

### **3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel**

#### **3.4.1 Variabel penelitian**

Variable penelitian ini adalah kontaminasi bakteri *Coliform* yang terdapat pada minuman teh yang dijual diwarung di Daerah Balongpanggung dengan menggunakan metode Most Probable Number (MPN).

#### **3.4.2 Definisi operasional variable**

Kontaminasi bakteri *Coliform* pada minuman teh yang dijual diwarung di Daerah Balongpanggung dengan menggunakan metode Angka Most Probable Number (MPN) dengan katagori memenuhi syarat dan tidak memenuhi syarat dengan nilai batasan MPN indeks sebagai berikut :

1. Memenuhi syarat (MS) dengan nilai batasan ALT sesuai Standart Nasional Indonesia (SNI) yaitu  $<2 / 100$  ml
2. Tidak memenuhi syarat (TMS) dengan nilai batasan ALT sesuai Standart Nasional Indonesia (SNI) yaitu  $>2 / 100$  ml.

### **3.5 Teknik Pengumpulan Data**

Data dikumpulkan dengan cara observasi / pengamatan melalui pengujian di laboratorium dengan metode *Most Probable Number (MPN)*.

### **3.6 Prosedur penelitian**

#### **3.6.1 Pengambilan sampel**

Sampel yang diperiksa adalah minuman teh yang dijual didaerah Balongpanggung. Sampel diambil dengan menggunakan botol steril dan diambil secara steril.kemudian pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi D3 Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

### **3.6.2 Alat-alat pemeriksaan**

Alat yang digunakan yaitu lampu spiritus, incubator, pipet ukur 10 ml, 1 ml, 0,1 ml, mortar dan pistle, rak tabung reaksi, vortex, ose.

### **3.6.3 Bahan pemeriksaan**

Bahan yang digunakan adalah sampel minuman teh, media *Lactose Broth*, media *Brilliant Green Lactose Bile Broth*, media *Eosin Methylene Blue*.

### **3.6.4 Prosedur Kerja**

#### **a. uji pendugaan**

Siapkan 9 tabung kultur yang masing-masing berisi 10 ml media *Lactose Broth* yang sudah dilengkapi dengan tabung durham. Aturlah letaknya pada rak tabung dan masing-masing beri kode ( A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2, C3). Kemudian tuangkan sampel menggunakan pipet steril masing-masing sebanyak 10 ml kedalam tabung berkode A, 1 ml kedalam tabung berkode B, 0,1 ml kedalam tabung berkode C. Inkubasi 9 tabung yang sudah diperlakukan selama 24 jam pada suhu 37 °C. Amati adanya gelembung udara di dalam tabung durham. Catatlah kode tabung yang positif mengeluarkan gas.

#### **b. Uji penegasan**

Siapkan tabung kultur yang masing-masing berisi 10 ml media cair BGLB steril yang sudah dilengkapi dengan tabung durham. Aturlah letaknya pada rak tabung dan masing-masing beri kode (jumlahnya sama dengan jumlah tabung yang positif pada uji pendugaan). Kemudian tuangkan air sampel yang sudah diinkubasi dalam media kultur lactose menggunakan pipet steril masing-masing 1 ml ke dalam tabung positif. Inkubasi tabung kultur yang

sudah diperlakukan pada suhu 37° C selama 24 jam . Amati adanya gelembung udara di dalam tabung durham. Catatlah kode tabung yang positif mengeluarkan gas.

### **c. Uji pelengkap**

Inokulasi sampel perlakuan dari tabung yang positif pada uji penegasan sebanyak satu ose kepermukaan media EMB secara zig-zag. Inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Amati pertumbuhan koloni pada media EMB, koloni yang menampakkan adanya kilau metalik adalah koloni bakteri *E. coli*. Selanjutnya dapat dipastikan lagi dengan cara mengamati inokulum dari koloni tersebut secara langsung dengan menggunakan mikroskop. Buatlah sediaan yang diwarnai secara gram, kemudian amati di bawah mikroskop. Bakteri *E. coli* akan memperlihatkan bentuk batang gram negative. Setelah semua pengujian selesai, tentukanlah nilai MPN *Coliform* nya berdasarkan table MPN.

### **3.7 Metode analisis data**

Data hasil perhitungan nilai MPN mikroba dibandingkan dengan mengacu pada nilai standar yang telah ditetapkan oleh BPOM (2009) mengenai batas maksimum cemaran mikroba dalam minuman teh yaitu <2 /100 ml.