

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan *Survei Deskriptif* yaitu suatu penelitian yang menggambarkan fenomena yang terjadi di dalam suatu populasi tertentu (Kumalasari, *et al.*, 2018)

Penelitian ini memberikan gambaran mengenai nilai MPN Coli pada olahan Jamu Beras Kencur. Penelitian ini dirancang hanya untuk 1 kali penelitian tanpa ada *follow up* yang digunakan untuk memberikan informasi mengenai gambaran nilai MPN Coli. Desain penelitian yang digunakan adalah *cross sectional* yaitu penelitian yang menggambarkan nilai MPN Coli pada Jamu Beras Kencur dengan cara pendekatan, observasi dan pengumpulan data nilai MPN Coli diambil bersamaan pada satu waktu.

4.2. Populasi dan Sampel

4.2.1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah seluruh penjual Jamu Beras Kencur yang berada di Kampung Pejabat Loktabat Kota Banjarbaru.

4.2.2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah seluruh penjual Jamu Beras Kencur yang dijual di Kampung Pejabat Banjarbaru yaitu 13 sampel. Sampel penelitian ini diambil dengan teknik total sampling yaitu Jamu Beras Kencur di Kampung Pejabat Kelurahan Loktabat Selatan, Kecamatan Banjarbaru Selatan, Kota Banjarbaru, Februari 2022.

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah nilai MPN pada Jamu Beras Kencur. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai MPN *Coli*.

4.3.2. Definisi Operasional

Untuk definisi operasional dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 4.1. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara	Skala	Hasil Ukur
1	Cemaran MPN <i>Coli</i> pada Jamu Beras Kencur	Nilai cemaran MPN <i>Coli</i> yang diukur pada Jamu Beras Kencur	<i>Metode Most Probable Number</i> (MPN)	Rasio	<p>Uji Perkiraan:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Positif jika media keruh dan ada gas di dalam tabung durham - Negatif Jika tabung tidak keruh dan tidak ada gas di dalam tabung durham <p>Uji penegasan:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Positif Jika tabung keruh dan ada gas di dalam tabung durham - Negatif jika tabung tidak keruh dan tidak ada gas di dalam tabung durham

4.4. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah Sampel Jamu Beras Kencur, media *Lactose Broth*, media *Tryptone Water*, larutan Kovac, NaCl, Kapas.

4.5. Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah api bunsen, autoklaf, batang pengaduk, *beaker glass*, corong, erlenmeyer, gelas ukur, *incubator*, waterbath, pipet ukur, pump pipet, ose, tabung durham, tabung reaksi, rak tabung, aluminium foil, bot plate.

4.6. Lokasi, Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian ini dilakukan di Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit Banjarbaru (BBTKLPPB) Daerah Banjarbaru. Lokasi pengambilan sampel di Kampung Pejabat Kelurahan Loktabat Selatan, Kecamatan Banjarbaru Selatan, Kota Banjarbaru dan waktu penelitian dilakukan pada bulan Februari 2022.

4.7. Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data

4.7.1. Pengumpulan data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer yang didapat dari hasil pemeriksaan laboratorium MPN *coli* pada jamu beras kencur dengan metode MPN.

4.7.2. Perizinan Penelitian

Dimulai dari meminta izin penelitian di Kampus Akademi Analis Kesehatan Borneo Lestari, setelah mendapatkan perizinan oleh pihak kampus dilakukan perizinan pada penjual jamu beras kencur untuk meminta izin

mengambil sampel, lalu melakukan pemeriksaan parameter MPN di Laboratorium Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit Banjarbaru (BBTKLPPB).

4.7.3. Pembuatan Media, Sterilisasi, dan Pengambilan Sampel

A. Lactose Broth (LB)

1. Ditimbang media *Lactose Broth* sebanyak 0,65 gram dalam wadah erlenmeyer 100 mL yang sudah berlabel menggunakan neraca
2. Dilarutkan dengan air suling sebanyak ± 50 mL
3. Cek pH, bila terlalu basa tambahkan HCl dan bila terlalu asam tambahkan larutan NaOH sampai sesuai pH yang diinginkan
4. Dipipet media cair kedalam tabung ulir berdurham yang sudah berlabel lengkap sebanyak 5 mL (Tidak aseptik)
5. Tabung ulir berdurham disimpan pada piala gelas kemudian ditutup dengan koran ikat dengan tali kasur
6. Dimasukkan kedalam autoklaf dengan tekanan 15 Psi (Pound Square Inch), suhu 121°C selama 15 menit

B. Tryptone Water

1. Formula peptone water adalah 20 gram / liter akuades (Oxoid).
2. Jadi untuk membuat 1 liter / 1000 ml *Tryptone water* diperlukan sebanyak 20 gram serbuk *Tryptone water*.
3. Ditimbang *Tryptone water* menggunakan timbangan analitik agar lebih presisi.

4. Dilarutkan 20 gram medium kedalam 1 liter akuades dengan cara dipanaskan pada suhu 80°C sambil diaduk menggunakan alat *hot plate and magnetic stirrer*. Pastikan medium larut dengan sempurna dan tidak terjadi endapan dan penggumpalan.
 5. Atur pH medium hingga mencapai $7,2 \pm 0.2$ saat suhu mencapai 25°C.
 6. Diatur pH medium dapat menggunakan alat pH meter agar hasilnya lebih akurat.
 7. Apabila saat awal pengukuran, medium mempunyai pH 6,2 maka dapat ditambah larutan HCL sedikit demi sedikit. Dan sebaliknya apabila pH medium lebih rendah dari 6,2 dapat ditambah larutan NaOH.
 8. *Tryptone Water* yang telah jadi dimasukkan kedalam tabung reaksi sesuai kebutuhan dan tutup dengan tidak rapat / renggang.
 9. Disterilisasi medium menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 Atm selama 15 menit.
 10. Setelah disterilisasi dan medium sudah agak dingin medium dapat digunakan untuk melakukan kegiatan pengujian. Medium yang tidak digunakan dapat disimpan pada suhu 2 - 8 °C untuk sementara waktu.
- C. Sterilisasi Alat dan Bahan menggunakan *autoklaf*
1. Pastikan alat *autoklaf* terhubung ke sumber listrik.
 2. Setelah itu pastikan air (sebaiknya aquadest) sudah terisi di dalamnya sampai batas yang ditentukan.
 3. Dimasukkan alat yang ingin disterilisasi ke dalam keranjang *autoklaf* (sesuaikan volumenya, jangan terlalu penuh sampai ke bagian atas)

4. Ditutup bagian atas *autoklaf* dengan kunci yang ada di atasnya dengan rapat, dan pastikan udara tidak keluar.
5. Cek penutup keran dibagian bawah, pastikan dalam posisi tertutup. (sesekali setelah digunakan kita lupa menutupnya kembali)
6. Setelah itu, dinyalakan *autoklaf* dan tunggu sampai tekanannya mencapai 1 atm, dan suhunya mencapai 121°C.
7. Timer dinyalakan dan tunggu hingga 15 – 20 menit.
8. Setelah proses selesai, dimatikan *autoklaf*, dan biarkan terlebih dahulu.
9. Biarkan suhunya turun dan buka sedikit katup yang ada di bagian atas atau di bawah untuk membuang udara.
10. Setelah itu buka satu persatu pengunci yang ada di bagian atas.
11. Dimbil keranjang dengan hati hati, karena biasanya masih panas.

Untuk alat seperti labu erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, dan pipet menggunakan sterilisasi kering (oven) dan untuk media seperti *Lactose Broth Single Strength (LBSS)*, *Lactose Broth Double Strength (LBDS)*, dan *Tryptone Water*, menggunakan sterilisasi basah (*autoklaf*).

D. Pengambilan sampel Jamu Beras Kencur

1. Disediakan peralatan dan bahan untuk pengambilan sampel pada botol steril gelap.
2. Kemudian dimasukan sampel ke dalam wadah steril tersebut.
3. Kemudian wadah yang telah berisi sampel ditutup rapat, lalu masukkan ke dalam tempat sampel lalu segera dibawa ke laboratorium BTKLPP

4.8. Prosedur Pemeriksaan Sampel

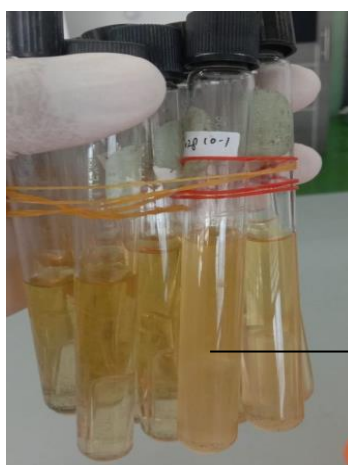
4.8.1. Cara Kerja MPN Coli

1. Tes Perkiraan
 1. Setelah didapatkan sampel sebanyak 300ml, kemudian sampel diberi label berdasarkan waktu dan tempat pengambilan.
 2. Dipersiapkan alat dan bahan yang digunakan, media yang digunakan untuk tes pendugaan adalah media *Lactose Broth Double Strength* dan *Lactose Broth Single Strength* dengan ragam 5-5-5.
 3. Dilakukan pengenceran sampel sebanyak 3 kali menggunakan larutan NaCl.
 4. Sampel dipipet masing-masing 10 ml ke dalam 5 tabung yang telah diisi media *Lactose Broth Double Strength* sebanyak 10 ml dan tabung durham, kemudian di homogenkan dan mulut tabung ditutup dengan kapas.
 5. Sampel dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam 5 tabung yang berisi media *Lactose Broth Single Strength* sebanyak 10 ml dan tabung durham, kemudian sampel dihomogenkan dan diberi sumbatan kapas pada mulut tabung.
 6. Sampel dipipet sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam 5 tabung yang berisi media *Lactose Broth Single Strength* sebanyak 10 ml dan tabung durham, kemudian sampel dihomogenkan dan diberi sumbatan kapas pada mulut tabung.
 7. Sampel kemudian diinkubasi di inkubator pada suhu 37°C dalam waktu 2x24 jam.

8. Sampel yang didapat hasil positif dengan ditandai terbentuknya gelembung gas pada tabung durham, dilanjutkan pada tes penegasan.

Interpretasi hasil:

- a. Dicatat hasil tes (+) jika tabung keruh dan ada gas di dalam tabung durham.
- b. Cara menulis hasil tes perkiraan:/5 ,/5 ,/5 (tuliskan jumlah tabung yang positif pada masing-masing reagen).
- c. Hasil tes positif, lanjutkan ke tes Penegasan.



Positif
terbentuk
gelembung
gas

Gambar 4.1 Hasil Positif Pada Media *Lactose Broth* (Istanti *et al*, 2019)

2. Tes penegasan

1. Disiapkan tabung yang berisi 5 ml media *Tryptone Water* sebanyak jumlah tabung yang positif pada media *Lactose Broth*.
2. Diambil 1 ose hasil positif dari tes perkiraan, kemudian tanam pada tabung yang telah diisi media *Tryptone Water* sebanyak 5 ml, kemudian beri sumbatan pada mulut tabung dengan kapas.
3. Diinkubasi di waterbath dengan suhu 44°C dalam waktu 1x24jam.
4. Setelah diinkubasi dalam 1x24 jam ditambahkan larutan Kovacs sebanyak 1 ml kemudian amati tabung yang menghasilkan cincin berwarna merah

sempurna (dinyatakan positif), dilakukan pembacaan hasil tabung positif yang diperoleh dapat dibandingkan dengan tabel MPN ragam 5-5-5.

5. Penulisan interpretasi hasil pada tes penegasan: Positif (+):

Adanya cincin berwarna merah sempurna

Negatif (-): Tidak ada cincin berwarna merah sempurna

Hasil positif yang didapat dibandingkan dengan tabel MPN ragam 5-5-5 menurut Standard Method 2005.

6. Batas maksimum pencemaran bakteri *E.coli* menurut Permenkes RI Nomor 1096/Menkes/Per/VI/2011 tentang persyaratan minuman bahwa jumlah dari Nilai MPN pada minuman adalah 0/100 ml.

Tabel 4.2 Tabel MPN ragam 5-5-5 menurut Formula Thomas.

Jumlah tabung (+) gas Pada Penanaman			Indeks MPN per 100 ml
5×10 ml	5×1 ml	5×0,1 ml	
0	0	0	<1,8
0	0	1	1,8
0	1	0	1,8
0	1	1	3,6
0	2	0	3,7
0	2	1	5,5
0	3	0	5,6
1	0	0	2,0
1	0	1	4,0
1	0	2	6,0
1	1	0	4,0
1	1	1	6,1
1	1	2	8,1
1	2	0	6,1
1	2	1	8,2
1	3	0	8,3
1	3	1	10
1	4	0	10
2	0	0	4,5
2	0	1	6,8
2	0	2	9,1

2	1	0	6,8
2	1	1	9,2
2	1	2	12
2	2	0	9,3
2	2	1	12
2	2	2	14
2	3	0	12
2	3	1	14
2	4	0	15
3	0	0	7,8
3	0	1	11
3	0	2	13
3	1	0	11
3	1	1	14
3	1	2	17
3	2	0	14
3	2	1	17
3	2	2	20
3	3	0	17
3	3	1	21
3	3	2	24
3	4	0	21
3	4	1	24
3	5	0	25
4	0	0	13
4	0	1	17
4	0	2	21
4	0	3	25
4	1	0	17
4	1	1	21
4	1	2	26
4	1	3	31
4	2	0	22
4	2	1	26
4	2	2	32
4	2	3	38
4	3	0	27
4	3	1	33
4	3	2	39
4	4	0	34
4	4	1	40
4	4	2	47
4	5	0	41
4	5	1	48
5	0	0	23
5	0	1	31

5	0	2	43
5	0	3	58
5	1	0	33
5	1	1	46
5	1	2	63
5	1	3	84
5	2	0	49
5	2	1	70
5	2	2	94
5	2	3	120
5	2	4	150
5	3	0	79
5	3	1	110
5	3	2	140
5	3	3	170
5	3	4	210
5	4	0	130
5	4	1	170
5	4	2	220
5	4	3	280
5	4	4	350
5	4	5	430
5	5	0	240
5	5	1	350
5	5	2	540
5	5	3	920
5	5	4	1600
5	5	5	>1600

(Sumber: Jiwintarum dkk, 2017)

4.9. Cara Pengolahan dan Analisis data

Adapun cara pengolahan dan analisis data penelitian ini sebagai berikut :

4.9.1. Pengolahan Data

4.9.1.1. *Editing Data*

Editing yaitu memasukan data hasil pemeriksaan MPN *Coli*. Data yang diperoleh dari kuesioner dilakukan pengecekan untuk melihat kemungkinan ada tidaknya kekeliruan atau adanya jawaban yang belum terisi.

4.9.1.2. Coding Data

Hasil pemeriksaan laboratorium diberi kode-kode tertentu agar tidak ada kekeliruan dalam melakukan tabulasi data.

4.9.1.3. Tabulating Data

Pada tabulasi data, menilai jumlah keseluruhan hasil yang diperoleh dari penelitian, caranya dengan menyusun data sedemikian rupa sehingga memudahkan dalam penjumlahan data hasil, kemudian diolah dan dimasukkan dalam tabel.

4.9.2. Analisis data

a. Data MPN *Coli* dan Cemarkan *E.coli*

Data yang didapat dari hasil pemeriksaan MPN *Coli* dan cemarkan *Escherichia coli* dianalisis secara deskriptif berupa frekuensi nominal dan persentase yang disajikan dalam bentuk tabel. Rumus persentase Jamu Beras Kencur yang nilai MPN *Coli* diatas standar pengolahan air minum cemarkan MPN *Coli*

$$\% \text{ Minuman yang tercemar } \textit{Coliform} = \frac{\textit{Hasil Positif MPN Coli}}{\textit{Banyak Sampel}} \times 100\%$$

Rumus persentase Jamu Beras Kencur yang tercemar *E.coli*:

$$\% \text{ Minuman yang tercemar } \textit{Escherichia coli} = \frac{\textit{Hasil Positif Escherichia coli}}{\textit{Banyak Sampel}} \times 100\%$$

(Sumber: Lelony, *et al.*, 2021).