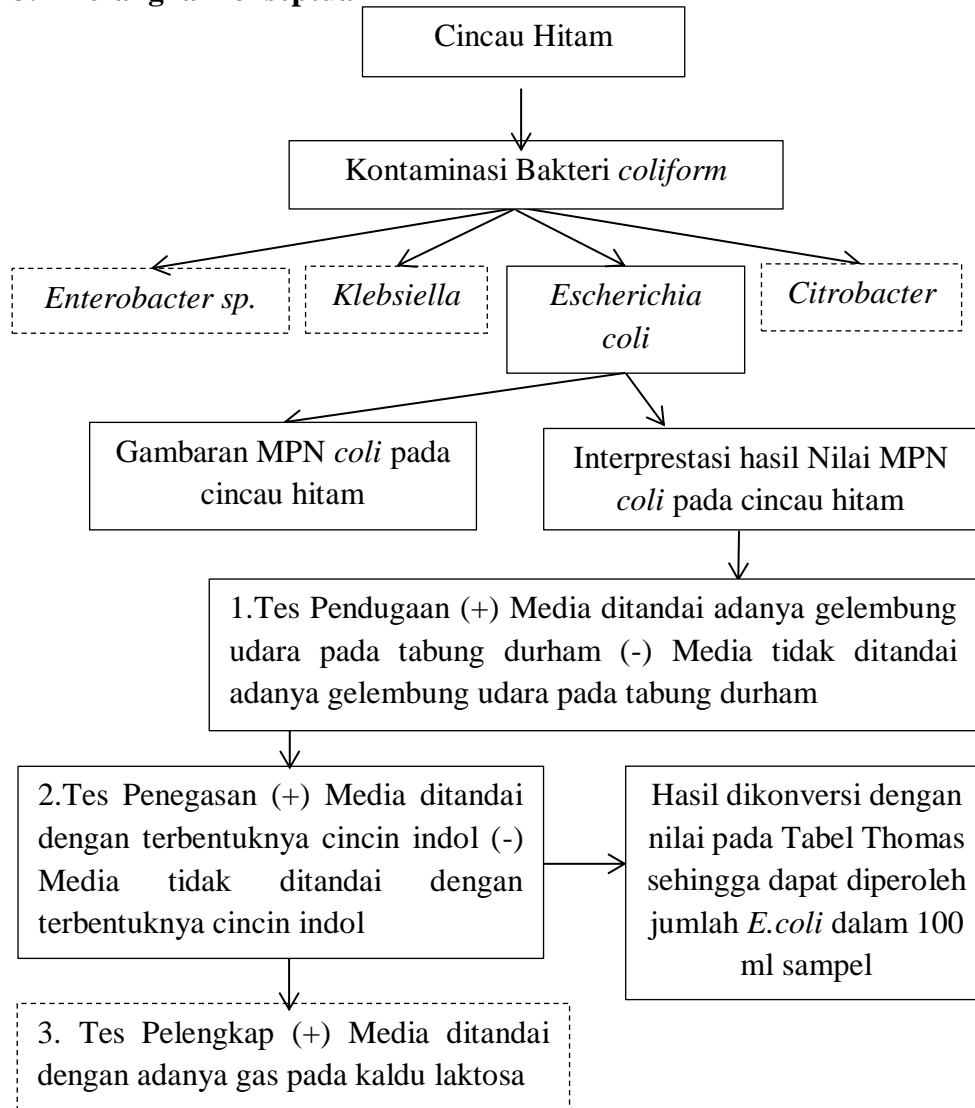


## BAB 3

### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konseptual



#### Keterangan

Diteliti

Tidak diteliti

Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

### 3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual

Cincau hitam merupakan salah satu jenis makanan yang banyak digemari masyarakat, banyak dimanfaatkan sebagai pencampur minuman segar seperti es campur, rasanya cenderung tawar dengan aroma khas memberikan sensasi tersendiri sebagai pelepas dahaga (Yulianto dkk, 2015). Ekstrak cincau hitam memiliki aktivitas antioksidan yang jauh lebih kuat dari vitamin E. Namun cincau hitam dapat menyebabkan dampak buruk bagi kesehatan. Apabila terkontaminasi oleh bakteri, salah satunya yaitu *Fecal Coliform* (Hermawan, 2018).

Bakteri *Fecal Coliform* pada umumnya tidak terdapat di air bersih, hanya terdapat di kotoran manusia atau hewan. Jika terdapat *Fecal Coliform* maka hal ini memungkinkan kontaminasi bakteri yang bersifat patogen dan bisa menimbulkan penyakit seperti diare, typhoid, keracunan makanan dan lain sebagainya. Adanya bakteri pada air atau makanan menandakan bahwa air tersebut pernah mengalami kontak dengan feses yang berasal dari usus manusia dan mungkin mengandung bakteri, salah satunya bakteri *Escherichia coli* (Hermawan, 2018).

Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI, 2009). Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan, No 04.1.2 untuk persyaratan makanan jenis jeli atau agar adalah  $<3/100\text{g}$  (SNI,2009). Cara kerja nilai MPN *coli* pada cincau hitam terdapat tes pendugaan, tes penegasan dan tes pelengkap.

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah survey deskriptif yaitu yaitu suatu penelitian yang menggambarkan fenomena yang terjadi di dalam suatu populasi tertentu (Kumalasari, *et al.*, 2018). Penelitian ini mengenai gambaran MPN *coli* pada cincau hitam yang dijual di pasar tradisional Banjarbaru. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cross-sectional* yaitu suatu penelitian untuk mempelajari dinamika korelasi antara faktor-faktor risiko dengan efek, dengan cara pendekatan, observasional, atau pengumpulan data.

#### **4.2 Populasi dan Sampel**

##### **4.2.1 Populasi**

Populasi dalam penelitian ini adalah makanan cincau hitam yang dibeli dari 15 orang pedagang di pasar tradisional Banjarbaru.

##### **4.2.2 Sampel**

Sampel penelitian ini sebanyak 15 sampel makanan gel cincau hitam. Sampel diperoleh secara total sampling yaitu dengan pengambilan sampel secara keseluruhan dari suatu populasi yang dijual di Pasar Tradisional Banjarbaru, Februari 2022.

### 4.3 Variabel dan Definisi Operasional

#### 4.3.1. Variabel

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah nilai MPN cincau hitam.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai MPN *Coli*.

#### 4.3.2. Definisi Operasional

**Tabel 4.3** Tabel definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara & hasil Pengukuran	Alat Ukur	Skala
Gambaran cemaran MPN <i>coli</i> pada cincau hitam	Nilai cemaran MPN <i>coli</i> yang diukur pada cincau hitam	<p><b>1. Tes Pendugaan</b> Positif(+) Jika media diandai adanya gelembung udara pada tabung durham. Negatif(-) Jika media tidak ditandai adanya gelembung udara pada tabung durham.</p> <p><b>2. Tes Penegasan</b> Positif(+) Jika media ditandai dengan terbentuknya cincin indol. Negatif(-) Jika media tidak ditandai dengan terbentuknya cincin indol.</p>	Metode <i>Most Probable Number</i> (MPN)	Nominal

### 4.4 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel cincau hitam, aquadest, NaCl, kapas, kertas label, media *Lactose Broth* (LB), media *Tryptone Water* dan larutan *Kovaks*.

### 4.5 Instrumen Penelitian

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, *beaker glass*, spatula, *hot plate*, *autoclave*, tabung reaksi, tabung durham, pipet

ukur steril, pipet volum, lampu Bunsen, plastik sampel, inkubator, oven, jarum ose, rak tabung, petridish.

#### **4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Tempat penelitian ini dilakukan di Laboratorium BBTKLPP BANJARBARU. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2022.

#### **4.7 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan data**

##### 4.7.1. Prosedur Pengambilan sampel

1. Dibeli langsung sampel cincau hitam dari 15 penjual sebanyak per biji  $\pm 200$  gram yang ada di Pasar Tradisional Banjarbaru.
2. Dimasukkan ke dalam wadah plastik steril tertutup secara terpisah.
3. Dibawa ke Laboratorium BBTKLPP BANJARBARU.

##### 4.7.2. Prosedur Persiapan sampel

1. Pembuatan Media *Lactose Broth* (LB)

###### *a. Single Strength*

Ditimbang seksama media *lactose broth* sebanyak 13 gram. Dimasukkan ke dalam *beaker glass*, dilarutkan kedalam aquadest sebanyak 1 L, masukkan *magnetic stirrer*. Dipanaskan diatas *hot plate* sampai homogen. Dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham masing- masing 10 ml. Disterilkan di dalam *autoclave* dengan tekanan 1 am pada suhu 121°C selama 15 menit, setelah dingin disimpan di tempat yang bersih dan kering.

b. *Double Strength*

Ditimbang seksama media *lactose broth* sebanyak 26 gram. Dimasukkan ke dalam *beaker glass*, dilarutkan ke dalam aquadest sebanyak 500 ml, masukkan *magnetic stirrer*. Dipanaskan di atas *hot plate* sampai homogen. Dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham masing- masing 5 ml. disterilkan didalam *autoclave* dengan tekanan 1 atm pada suhu 121°C selama 15 menit, setelah dingin disimpan ditempat yang bersih dan kering.

2. Pembuatan Media *Tryptone Water*

Ditimbang seksama media *tryptone water* sebanyak 15 gram. Dimasukkan ke dalam *beaker glass*, dilarutkan ke dalam aquadest sebanyak 1 L, masukkan *magnetic stirrer*. Dipanaskan diatas *hot plate* sampai homogen. Dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing- masing 10 ml. disterilkan di dalam *autoclave* dengan tekanan 1 atm pada suhu 121°C selama 15 menit, setelah dingin disimpan di tempat yang bersih dan kering.

3. Larutan *Kovaks*

Ditimbang sebanyak 5 gram p-dimetilamin benzaldehid dan dilarutkan dengan amil alkohol di dalam Erlenmeyer steril, kocok sampai larut. Kemudian dimasukkan *Hcl pekat* secara perlahan- lahan.

#### 4.7.3. Preparasi Sampel

Sampel cincau hitam sebanyak 1 biji dengan berat  $\pm 200$  gram diambil sedikit untuk diuji, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml *NaCl*. Dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-1}$ . Lalu, masukkan masing- masing 1 ml tiap 5 tabung yang berisi 10 ml media *LB Double Strength*. Kemudian, masukkan 1 ml dari pengenceran  $10^{-1}$  ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml *NaCl*. Dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-2}$ . Lalu, masukkan masing- masing 1 ml tiap 5 tabung yang berisi 10 ml media *LB Single Strength*. Kemudian, masukkan 1 ml dari pengenceran  $10^{-2}$  ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml *NaCl*. Dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-3}$ . Lalu, masukkan masing- masing 0,1 ml tiap 5 tabung yang berisi 10 ml media *LB Single Strength*.

#### 4.7.4. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat ada 2 cara kerja yaitu sterilisasi basah *autoclave* dan sterilisasi kering (oven). Untuk alat seperti labu erlenmeyer, tabung reaksi, dan pipet menggunakan sterilisasi kering (oven) dan untuk media seperti *lactose broth*, tryptone water, dan larutan *kovaks* menggunakan sterilisasi basah *autoclave*.

#### 4.7.5. Prosedur Pemeriksaan Sampel

##### c. Tes Pendugaan

1. Setelah didapatkan sampel, kemudian sampel diberi label berdasarkan waktu dan tempat pengambilan.

2. Dipersiapkan alat dan bahan yang digunakan. Media yang digunakan untuk tes pendugaan adalah media *LB Double Strength* dan *LB Single Strength* dengan ragam formasi 5/5/5.
3. Sampel dipipet sebanyak 6 ml masukkan 1 ml ke dalam masing- masing 5 tabung yang berisi tabung durham dan media *LB Double Strength* sebanyak 10 ml, kemudian di homogenkan dan mulut tabung ditutup dengan kapas.
4. Sampel dipipet sebanyak 6 ml dari pengenceran  $10^{-2}$  masukkan 1 ml ke dalam masing- masing 5 tabung yang berisi tabung durham dan media *LB Single Strength* sebanyak 10 ml, kemudian sampel di homogenkan dan diberi kapas pada mulut tabung.
5. Sampel dipipet sebanyak 6 ml dari pengenceran  $10^{-3}$  masukkan 0,1 ml ke dalam masing- masing 5 tabung yang berisi tabung durham dan media *LB Single Strength* sebanyak 10 ml, kemudian sampel di homogenkan dan diberi kapas pada mulut tabung. Sampel kemudian diinkubasi dengan alat inkubator pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  dalam waktu 2x24 jam.
6. Sampel yang didapat hasil positif ditandai adanya gelembung udara pada tabung durham dan kemudian hasil tabung positif dapat dilanjutkan pada tes penegasan.

Interprestasi hasil :

- a. Mencatat hasil tes (+) jika keruh dan ada gelembung udara di dalam tabung durham.



- b. Cara menulis hasil tes pendugaan: ...../5 , ...../5 , ...../5 tuliskan jumlah tabung yang positif pada masing-masing reagen.
- c. Hasil tes positif, lanjutkan ke tes Penegasan.
- d. Tes Penegasan
1. Siapkan alat dan bahan yang digunakan untuk tes penegasan.
  2. Diambil 1 ml sampel hasil positif dari tes pendugaan, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah di isi 5 ml media *Tryptone Water*. Kemudian di homogenkan dan mulut tabung ditutup dengan kapas.
  3. Sampel kemudian diinkubasi kembali pada suhu  $44\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam.
  4. Kemudian masing- masing sampel ditambahkan larutan *Kovaks* sebanyak 1-2 tetes (0,2-0,3 ml).
  5. Sampel hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin indol berwarna merah pada permukaan tabung reaksi. Kemudian hasil positif yang diperoleh dapat dibandingkan pada tabel MPN.

Jumlah Tabung (+) Gas Pada Penanaman			MPN Index	Jumlah Tabung (+) Gas Pada Penanaman			MPN Index
5x 10 ml	5x 1 ml	5x 0,1 ml	Per 100 ml	5x 10 ml	5x 1 ml	5x 0,1 ml	Per 100 ml
0	0	0	<1,8	4	1	1	21
0	0	1	1,8	4	1	2	26
0	1	0	1,8	4	1	3	31
0	1	1	3,6	4	2	0	22
0	2	0	3,7	4	2	1	26
0	2	1	5,5	4	2	2	32
0	3	0	5,6	4	2	3	38
1	0	0	2,0	4	3	0	27
1	0	1	4,0	4	3	1	33

1	0	2	6,0	4	3	2	39
1	1	0	4,0	4	4	0	34
1	1	1	6,1	4	4	1	40
1	1	2	8,1	4	4	2	47
1	2	0	6,1	4	5	0	41
1	2	1	8,2	4	5	1	48
1	3	0	8,3	5	0	0	23
1	3	1	10	5	0	1	31
1	4	0	10	5	0	2	43
2	0	0	4,5	5	0	3	58
2	0	1	6,8	5	1	0	33
2	0	2	9,1	5	1	1	46
2	1	0	6,8	5	1	2	63
2	1	1	9,2	5	1	3	84
2	1	2	12	5	2	0	49
2	2	0	9,3	5	2	1	70
2	2	1	12	5	2	2	94
2	2	2	14	5	2	3	120
2	3	0	12	5	2	4	150
2	3	1	14	5	3	0	70
2	4	0	15	5	3	1	110
3	0	0	7,8	5	3	2	140
3	0	1	11	5	3	3	170
3	0	2	13	5	3	4	210
3	1	0	11	5	4	0	130
3	1	1	14	5	4	1	170
3	1	2	17	5	4	2	220
3	2	0	14	5	4	3	280
3	2	1	17	5	4	4	350
3	2	2	20	5	4	5	430
3	3	0	17	5	5	0	240
3	3	1	21	5	5	1	350
3	3	2	24	5	5	2	540
3	4	0	21	5	5	3	920
3	4	1	24	5	5	4	1600
3	5	0	25	5	5	5	>1600
4	0	0	13				
4	0	1	17				
4	0	2	21				
4	0	3	25				
4	1	0	17				

**Tabel 4.7** Tabel MPN (15 Tabung) Standart Method 2005

(Sumber: BBTCLPP Banjarbaru)

Interpretasi hasil :

- a. Diamati dan dicatat hasil tes penegasan : (+) jika tabung ditandai dengan terbentuknya cincin indol berwarna merah.
- b. Cara penulisan hasil : tuliskan jumlah tabung yang positif, misal : 2 1 0, cocokkan hasil dengan tabel MPN sesuai formasi yang digunakan.

#### 5.7.6 Data Primer

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer yang didapat dari hasil pemeriksaan uji MPN *coli* pada cinau hitam dengan metode *Most Probable Number* (MPN).

### 4.8 Cara Pengolahan dan Analisa data

#### 4.8.1. Pengolahan Data

- a. *Coding*

*Coding* merupakan proses dalam pengolahan data dengan cara merubah data yang berbentuk kalimat atau huruf menjadi data yang berbentuk angka atau bilangan.

- b. *Tabulating*

*Tabulating* merupakan proses dalam pengolahan data dengan cara mengelompokkan data sesuai dengan tujuan penelitian kemudian dimasukkan kedalam tabel-tabel yang digunakan untuk tujuan penelitian sesuai yang diinginkan peneliti.

#### 4.8.2. Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian sampel cinau hitam yang positif dan negatif mengandung *Escherichia coli* diolah dan dianalisis secara deskriptif, yang kemudian diinterpretasikan oleh peneliti dengan rumusan sebagai berikut.

$$p = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan :

$p$  : Persentase cemaran *Escherichia coli*.

$a$  : Jumlah sampel positif.

$b$  : Jumlah sampel diperiksa.