

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei - Juni 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang dan Kecamatan Gandus tempat pengambilan sampel.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian adalah botol kaca steril, tabung durham, kertas label, bunsen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, pipet ukur, gelas ukur, inkubator, erlenmeyer, hotplate, colony counter, neraca analitik, magneticstirrer, shaker, oven, incubator, beaker glass, autoklaf, batang pengaduk.

3.2.2 Bahan

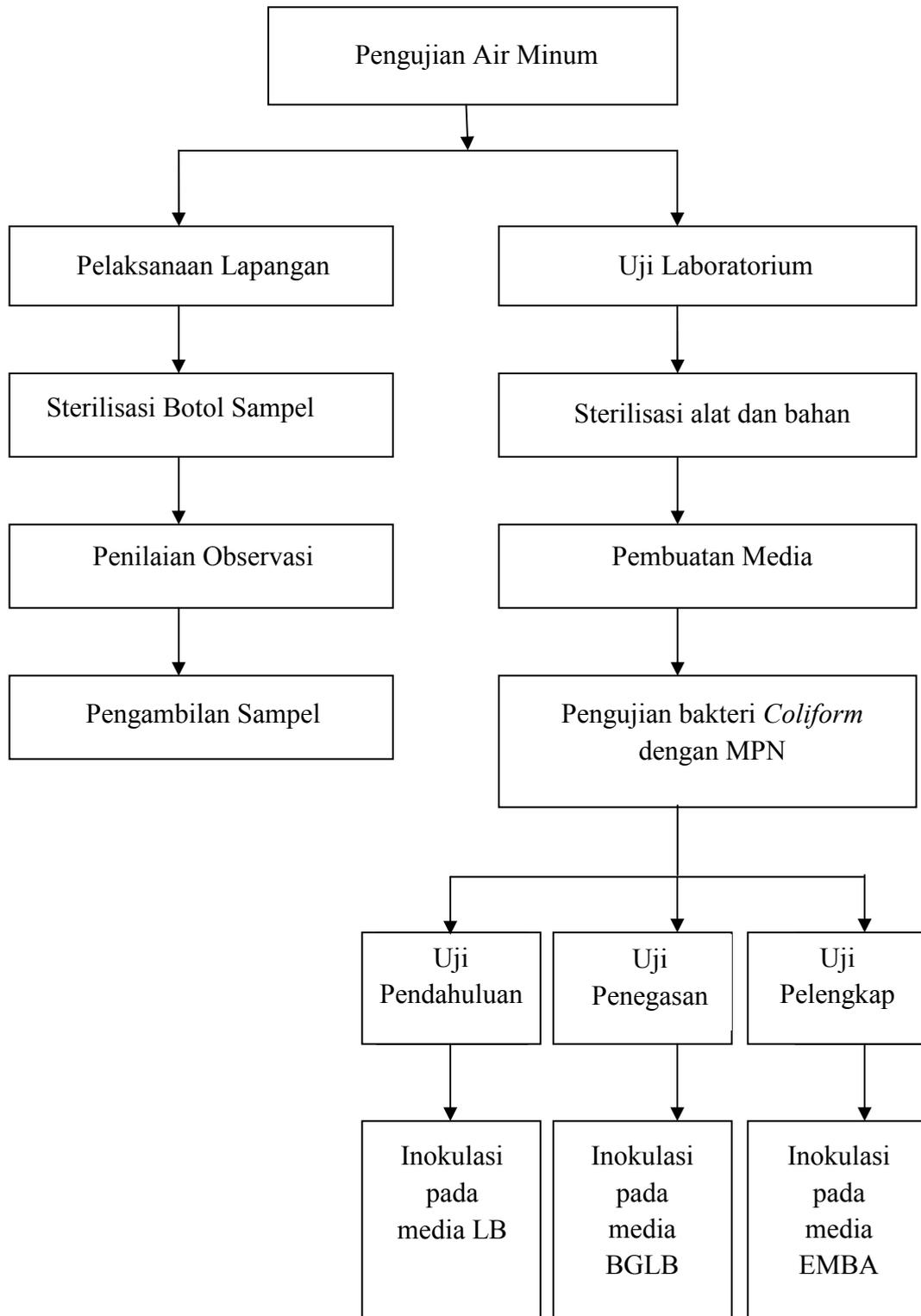
Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol 70%, kapas, sampel air minum isi ulang di Kecamatan Gandus, media *Brilliant Green Lactosa Bilebroth* (BGLB), media *Lactosa Borth* (LB), media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA).

3.3 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan, yaitu deskriptif kuantitatif dengan menggunakan metode Total sampling. Menurut (Arikunto, 2006), mengungkapkan bahwa penelitian deskriptif tidak dimaksudkan untuk

menguji hipotesis tertentu, hanya menggambarkan satu variabel. Menurut (Arikunto, 2006), dengan penelitian kuantitatif menggunakan angka, dari pengumpulan data penafsiran terhadap data, dan penampilan hasilnya. Berdasarkan Metode MPN.

3.4 Alur Penelitian



3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua peralatan yang nantinya akan digunakan dicuci bersih dan selanjutnya dikeringkan. Cawan petri dibungkus menggunakan kertas. Gelas ukur, Erlenmeyer, dan tabung reaksi dibagian mulutnya ditutup menggunakan kapas dan kain kasa. Selanjutnya semua alatnya dimasukkan ke dalam plastic yang tahan panas kemudian di sterilkan didalam autoklaf dengan waktu 30 menit pada suhu 121°C selama 30 menit. Seluruh media pertumbuhan disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C dalam waktu 15 menit.

3.5.2 Pengambilan Sampel

Metode pengambilan sampel yang akan dilakukan pada penelitian ini yaitu dengan menggunakan *total sampling* merupakan sampel yang mewakili semua jumlah populasi. Sampel pada penelitian ini merupakan sampel air minum isi ulang yang didapatkan dari 7 depot air minum yang berbeda di Kecamatan Gandus kota Palembang.



Gambar 3.1 Peta Lokasi Sampling Air Minum Isi Ulang

Keterangan ● : Lokasi pengambilan sampel

3.5.3 Pembuatan Media

1. Pembuatan media lactose Borth (LB)

Timbang media *Lactose Borth* (LB) sebanyak 13 gram kemudian dimasukkan ke dalam 1000 ml aquades, selanjutnya diaduk sehingga tercampur dan selanjutnya dipanaskan sampai media tersebut mendidih. Selanjutnya disterilkan dalam waktu 15 menit di autoklaf dengan tekanan udara 1 atm dan suhunya 121°C.

2. Pembuatan Media Brilliant Green Lactase Bilebroth (BGLB)

Timbang *Brilliant Green Laktosa Bileborth* (BGLB) sebanyak 40 gram selanjutnya dilarutkan kedalam 1000 ml aquades, selanjutnya dihomogenkan dan dipanaskan sampai mendidih.

Setelah itu sterilkan didalam autoklaf dengan suhu 121°C dan dengan tekanan udara 1 atm yang dilakukan dengan waktu 15 menit.

3. Pembuatan Media Eosin Methelin Blue (EMBA)

Timbang *Eosin Methelin Blue* (EMBA) Sebanyak 37,5 gram selanjutnya larutkan kedalam 1000 ml aquades, selanjutnya dihomogenkan dan dipanaskan sampai mendidih. Setelah itu sterilkan didalam autoklaf dengan suhu 121°C yang dilakukan dengan waktu 15 menit.

3.5.4 Prosedur Uji Bakteri *Coliform* (SNI 2897:2008)

a. Tes Pendahuluan

Siapkan tabung reaksi yang telah berisi media LB dengan seri 5:1:1 sebanyak pengulangan sampel. Lima tabung menggunakan media double dan dua tabung sisanya menggunakan media single. Masukkan sampel pada tabung sebanyak 10 ml ke dalam 5 tabung media double, 1 ml dan 0,1 ml ke dalam tabung media single. Goyangkan sedikit media berisi sampel agar homogen. Susun pada rak tabung reaksi dan diberi label. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24±2 jam. Reaksi dapat dinyatakan positif jika terbentuk gas ataupun asam didalam tabung fermentasi tersebut. maka dapat dinyatakan pada tes perkiraan hasilnya positif. Selanjutnya tabung yang telah dinyatakan positif dilanjutkan untuk tes penegasan.

b. Tes Penegasan

Semua tabung yang dinyatakan hasilnya positif pada tes perkiraan sedikit dihomogenkan, selanjutnya di pindahkan

menggunakan ose ke dalam media yang telah berisi Brilliant Green Lactose Bilebroth (BGLB). Selanjutnya lakukan proses inkubasi didalam inkubator dengan suhu 37°C dalam waktu 24±2 jam. Selanjutnya jika telah didapatkan hasilnya, hitung jumlah MPN total *Coliform* dengan menggunakan tabel MPN dari jumlah tabung BGLB yang telah dinyatakan hasilnya positif.

Tabel 3. 1 Tabel MPN 511 Menurut Formula Thomas

Jumlah tabung (+) gas pada penanaman			Index MPN Per 100 ml
5x10 ml	1x1 ml	1x 0,1 ml	
0	0	0	0
0	0	1	2
0	1	0	2
0	1	1	4
1	0	0	2
1	0	1	4
1	1	0	4
1	1	1	7
2	0	0	5
2	0	1	8
2	1	0	8
2	1	1	10
3	0	0	9
3	0	1	13
3	1	0	12
3	1	1	16
4	0	0	17
4	0	1	21
4	1	0	22
4	1	1	27
5	0	0	67
5	0	1	84
5	1	0	265
5	1	1	≤979

Sumber : SNI 01-7388-2009. Batas Cemarkan Mikroba dalam Pangan. Badan Standarisasi Nasional.

c. Tes Parameter Bakteri *E. coli*

Dari tabung tes penegasan yang hasilnya positif selanjutnya dilakukan penggoresan ke dalam media EMBA secara aseptik. Inkubasikan dalam suhu 44°C selama 24±2 jam. Jika koloni yang tumbuh berwarna hijau metalik berarti positif bakteri *E. coli*.

3.6 Teknik Pengumpulan Data dan Pengolahan Data

3.6.1 Pengumpulan Data

a. Data Primer

Data primer diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium mengenai ada tidaknya bakteri *Colifecal* yang terkandung dalam air minum isi ulang. Kemudian melakukan observasi dengan menggunakan lembar observasi modifikasi pada peraturan Menteri Kesehatan No. 43 Tahun 2014.

b. Instrumen Penelitian

Instrument penelitian yang digunakan menggunakan lembar observasi yang telah dimodifikasi dari peraturan Menteri Kesehatan No. 43 Tahun 2014 tentang higiene sanitasi depot air minum. Lembar hasil pengukuran digunakan untuk melihat hasil pemeriksaan laboratorium mengenai ada tidaknya bakteri *colifecal* pada air minum isi ulang menggunakan uji *Most Probable Number* (MPN).

3.7 Teknik dan Analisa Data

3.7.1 Univariat

Analisis univariat dilakukan untuk mengetahui gambaran distribusi frekuensi dari variabel penelitian dengan cara mendeskripsikan tiap-tiap variabel. Hasil penelitian dilakukan dengan menggunakan tabel distribusi frekuensi.

3.7.2 Bivariat

Analisis bivariat dilakukan untuk menguji hipotesis hubungan antara variabel dependen dan independen. Penelitian ini menggunakan uji statistik *chi square*. Uji Chi-square adalah salah satu jenis uji komparatif non parametris yang dilakukan pada dua variabel, di mana skala data kedua variabel adalah nominal (Wijaya, 2000).