

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif, deskriptif adalah dimana peneliti menggambarkan secara langsung untuk mengetahui ada atau tidaknya kontaminasi bakteri *fecal coliform* pada sampel air rendaman tahu yang dijual di Pasar Baqa Samarinda Seberang, Dengan melakukan uji MPN.

B. Populasi dan Sampel

1. Populasi penelitian ini adalah 7 tempat penjual tahu dari 5 tempat produksi tahu yang dijual di Pasar Baqa Samarinda Seberang.
2. Sampel dalam penelitian adalah 5 sampel air rendaman tahu. Metode pengambilan sampel ini dengan menggunakan metode total sampling, dengan mengambil semua sampel yang ada didaerah Pasar Baqa Samarinda Seberang.

C. Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini adalah air rendaman tahu dan bakteri *Fecal Coliform*

D. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

| Variabel | Defisi operasional | Hasil uji | Kriteria objektif |
|-------------------------------|---|-------------|---|
| Bakteri <i>fecal coliform</i> | Bakteri gram negatif batang yang tumbuh pada media LTB dan EC-BROTH | Positif (+) | Positif jika terdapat bakteri <i>fecal coliform</i> |
| | | Negatif (-) | Negatif jika tidak terdapat bakteri <i>fecal coliform</i> |

E. Kriteria Penelitian

1. Untuk persyaratan air dinyatakan memenuhi syarat jika tidak mengandung bakteri *Escherichia* $< 0/100$ ml
2. Untuk persyaratan air dinyatakan tidak memenuhi syarat jika mengandung bakteri *Escherichia* $> 0/100$ ml

F. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada sampel air rendaman tahu yang beralamat di Pasar Baqa Samarinda Seberang. Dengan pertimbangan informasi yang diperlukan penulis agar lebih mudah diperoleh serta relevan dengan pokok permasalahan yang menjadi objek penelitian. Sedangkan Waktu yang digunakan selama melakukan penelitian adalah kurang lebih 3 bulan mulai dari bulan maret sampai bulan Mei tahun 2021.

G. Pengambilan sampel

Sampel dibeli langsung dari pedagang tahu yang ada di pasar baqa samarinda seberang disimpan dalam wadah yang steril dan dimasukkan kedalam termos es agar tidak ada pertumbuhan bakteri, kemudian dibawa ke

Laboratorium, untuk dilakukan pemeriksaan identifikasi bakteri Fecal Coliform.

H. Alat dan bahan

1. Alat

Waterbath bertutup dengan sirkulasi 44,4°C, Incubator 35°C, Tabung *durham*, *Erlenmayer*, Cawan petri ukuran 15mm x 90mm, Tabung reaksi ukuran 16cm x 150 cm dan 13mm x 100mm, Timbangan analitik, Pipet steril 5ml, Bola penghisap, Jarum ose / sengkeli, Api Bunsen.

2. Media dan bahan

a. Pembuatan Media *Butterfield's Phosphate Buffered (BFB)*

Pada pengujian mikrobiologi bakteri *Escherechia coli*, BFB digunakan untuk pengkayaan dan pengenceran. Komposisi BFB yaitu KH_2PO_4 34 g dan *aquades* 500 ml (SNI 2332, 2006). Bahan dasar yang digunakan untuk membuat larutan stok BFB adalah KH_2PO_4 34 g ditambahkan *aquades* 500 ml. Selanjutnya membuat larutan kerja dengan cara mengambil larutan BFB stok 10 ml dan tambahkan 990 ml *aquades*, homogenkan dan distribusikan 225 ml larutan kerja BFB setiap erlemeyer untuk pengkayaan dan 9 ml setiap tabung reaksi kapas ukuran 20 mm x 150 mm untuk pengenceran. Larutan BFB berwarna putih dan cair. Setelah larutan kerja BFB didistribusikan, mulut *erlemeyer* ditutup menggunakan aluminium foil dan tabung reaksi dibungkus menggunakan kertas dan diikat menggunakan karet

gelang agar tidak terkontaminasi dan dapat menyerap uap air. Selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian larutan BFB disimpan ke dalam LAF dengan suhu ruang 27°C selama 24 jam, setelah itu disimpan ke dalam lemari pendingin.

b. Pembuatan Media *Lauryl Typtose Broth* (LTB).

Komposisi LTB yaitu *Tryptose* atau *trypticase* 20 g, *Lactose* 5 g, K_2HPO_4 2,75 g, KH_2PO_4 2,75 g, NaCl 5 g, *Sodium lauryl sulfate* 0,1 g dan *aquades* 1 liter (SNI 2332, 2006). Langkah untuk pembuatan media LTB yaitu dengan menimbang LTB sebanyak 35,6 g, lalu ditambahkan *aquades* 1 liter. Selanjutnya dihomogenkan di dalam *beaker glass* yang diberi *magnetic stirrer* menggunakan *hot plate* tanpa pemanasan. Lalu didistribusikan ke dalam tabung reaksi kapas ukuran 20 mm x 150 mm sebanyak 9 ml per tabung kemudian dimasukkan tabung durham 10 mm x 75 mm. Setiap 10 tabung reaksi berisi media LTB dibungkus dengan kertas dan diikat dengan karet gelang selanjutnya *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit kemudian tunggu hingga suhu media tidak terlalu panas. Lalu media disimpan ke dalam LAF dengan suhu ruang (27°C) selama 24 jam, setelah itu disimpan ke dalam lemari pendingin.

c. Pembuatan Media *Escherichia Coli Broth* (EC Broth)

Komposisi EC Broth yaitu *Tryptose* atau *trypticase* 20 g, *Bile salt* No. 31,5 g, *Lactose* 5 g, K_2HPO_4 4 g, KH_2PO_4 1,5 g, NaCl 5 g, dan *aquades* 1 liter (SNI 2332, 2006). Langkah untuk pembuatan media EC broth yaitu dengan menimbang EC broth sebanyak 37 g, lalu ditambahkan *aquades* 1 liter. Selanjutnya dihomogenkan di dalam *beaker glass* yang diberi *magnetic stirrer* menggunakan *hot plate* tanpa pemanasan. Lalu didistribusikan ke dalam tabung reaksi kapas sebanyak 9 ml per tabung reaksi kapas ukuran 20 mm x 150 mm kemudian dimasukkan tabung durham ukuran 10 mm x 75 mm. Setiap 10 tabung reaksi berisi media EC broth dibungkus dengan kertas dan diikat dengan karet gelang selanjutnya *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit kemudian tunggu hingga suhu media tidak terlalu panas. Lalu media disimpan ke dalam LAF dengan suhu ruang (27°C) selama 24 jam, setelah itu disimpan ke dalam lemari pendingin.

I. Cara Pemeriksaan Fecal Coliform.

A. Uji Pendugaan Fecal Coliform

1. Disiapkan Pengenceran 10^2 dengan cara melarutkan 1 ml larutan 10^1 ke dalam 9 ml larutan pengencer *Butterfield's Phosphate Buffered*. Lakukan pengenceran selanjutnya sesuai dengan pendugaan kepadatan

populasi contoh. Pada setiap pengenceran dilakukan sebanyak pengocokan minimal 25 kali.

2. Dipindahkan menggunakan pipet steril, sebanyak 1 ml larutan dari setiap pengenceran ke dalam 3 seri tabung reaksi yang berisi tabung durham dengan media *Lauryl Tryptose Broth* (LTB).
3. Diinkubasi tabung-tabung tersebut selama 48 jam \pm 2 jam pada suhu 35°C. Perhatikan gas yang terbentuk setelah diinkubasi 24 jam dan inkubasikan kembali tabung-tabung negatif selama 24jam. Tabung positif ditandai dengan kekeruhan dan gas di dalam tabung durham.

B. Uji Penegasan *Fecal Coliform*

1. Diinokulasikan masing-masing tabung LTB yang positif sebanyak 1 ose ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham dengan media EC Broth. Inkubasi tabung reaksi dengan media EC Broth yang telah diinokulasikan selama 48jam \pm 2jam pada suhu 44,4°C.
2. Periksa tabung-tabung yang menghasilkan gas selama 48jam \pm 2jam pada suhu 44,4°C. Tabung positif ditandai dengan kekeruhan dan gas dalam tabung durham.
3. Ditentukan angka paling memungkinkan (APM) berdasarkan jumlah tabung-tabung durham yang positif dengan menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*). Nyatakan nilainya sebagai “MPN/g Coliform”.

J. Penentuan Kriteria Wadah

Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 942/MENKES/SK/VII/2003),

Kriteria penilaian wadah penelitian sebagai berikut :

Tabel. 3.2. Tabel kriteria Penelitian Wadah

| No. | Kriteria penilaian wadah | Pedagang | | | | |
|------------|---|----------|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | Wadah penyimpanan harus bersih | | | | | |
| 2 | Diletakan pada tempat/wadah yang terbebas dari debu | | | | | |
| 3 | Wadah tertutup baik | | | | | |
| Keterangan | | | | | | |

K. Pengolahan Data

Data diperoleh dari hasil pemeriksaan air rendaman tahu yang dijual pedagang di Pasar Baqa Samarinda Seberang. Berdasarkan hasil pemeriksaan secara mikroorganisme di dapatkan ada atau tidaknya bakteri pada air rendaman tahu yang di jual pedagang pasar Baqa Samarinda Seberang. Adapun data hasil pemeriksaan akan di sajikan dalam bentuk tabel, gambar dan narasi.