

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat deskriptif, yaitu penelitian yang bertujuan untuk mendeskripsikan atau memberi gambaran terhadap objek yang diteliti melalui data atau sampel yang telah dikumpulkan dengan rancangan studi *cross-sectional*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat

Pengambilan sampel dilakukan di SD Inpres Kayu Putih Oesao dan dibawa untuk dilakukan pemeriksaan di Laboratorium Bakteriologi Prodi Teknologi Laboratorium Medis.

2. Waktu

Penelitian dilakukan pada bulan Maret 2024.

C. Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan variabel tunggal yaitu bakteri *Escherichia coli* pada jajanan makanan.

D. Populasi

Populasi dalam penelitian ini yaitu semua penjual jajanan makanan yang ada di kantin sekolah dasar Inpres Kayu Putih Oesao.

E. Sampel dan Teknik Sampling

1. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah semua sampel jajanan makanan berbeda seperti kue olahan yang dibuat sendiri oleh 3-5 penjual dengan teknik sampling total sampling.

2. Teknik sampling

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan teknik total sampling yaitu teknik pengambilan sampel dimana besar sampel sama dengan populasi.

F. Definisi Operasional

Tabel 1.2 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat ukur	Skala
Jajanan Makanan	Bentuk olahan tepung/pangan yang dibuat dengan cara digoreng ataupun dikukus	Ditimbang	Neraca Analitik	Nominal
<i>Escherichia coli</i>	Bakteri gram negatif yang bersifat patogen pada manusia	1. Melihat morfologi bakteri 2. Perubahan warna media	1. Pewarnaan gram 2. Media <i>Eosin Methylene Blue Agar</i> (EMBA)	Nominal
		3. Jumlah koloni per plate	3. Uji Angka Lempeng Total (ALT) <i>Colony Counter</i>	

G. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

- a. Melakukan observasi lokasi penelitian
- b. Penyusunan proposal, revisi proposal dan seminar proposal
- c. Mengurus izin penelitian

2. Tahap Pelaksanaan

- a. Memberikan penjelasan tentang maksud dan tujuan penelitian
- b. Pengambilan dan persiapan sampel

Sampel yang diambil berupa jajanan makanan misalnya kue-kue maupun gorengan. Masing-masing sampel yang dipakai akan diambil 25 gram kemudian dilarutkan dalam 225 ml NaCl 0,9%. Selanjutnya dilakukan homogenisasi, lalu dipipet 1000 μ L untuk dilanjutkan pada tahap pengenceran (Iqlima, dkk., 2019).

- c. Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung, pipet ukur, batang pengaduk, lampu spiritus, kapas, ose bulat/jarum, gelas ukur, inkubator, cawan petri, erlenmeyer dan batang *drugalsky*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jajanan makanan yang diperoleh dari kantin sekolah dasar Inpres Kayu Putih Oesao, medium petri EMBA, Nacl 0,9%, *aquadest*, dan *tissue* (Aprilianti, 2021).

d. Cara kerja

Hari I

- 1) Disediakan alat dan bahan yang digunakan
- 2) Pengenceran sampel
 - a) Sampel yang telah disiapkan dipipet ke dalam tabung sterill yang sudah berisi 9 ml NaCl 0,9%, kemudian homogenkan (tabung pengenceran 1)
 - b) Dari tabung pengenceran 1 dipipet 1 ml masuk ke tabung pengenceran ke-2 yang juga sudah berisi 9 ml NaCl steril. Begitu seterusnya sampai diperoleh pengenceran yang diperlukan sampai pengenceran ke-6
- 3) Inokulasi ke media EMBA dengan metode *Spread Plate* :
 - a) Beri label pada masing-masing media EMBA
 - b) Masing-masing pengenceran sampel diambil 0,1 ml, masukkan ke dalam media EMBA sesuai pengenceran yaitu 10^{-1} sampai 10^{-6}
 - c) Batang *drugalsky* diambil kemudian dicelupkan ke dalam alkohol dan dibakar di atas bunsen beberapa saat kemudian didinginkan dan tunggu beberapa detik.
 - d) Ratakan sampel menggunakan *drugalsky* tersebut
 - e) Lakukan prosedur di atas terhadap sampel yang lain. Setiap sampel diinokulasi pada 2 plate.
 - f) Balik cawan, inkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C .

Hari II

1) Pengecatan gram

Koloni yang tumbuh diperiksa secara mikroskopis menggunakan teknik pewarnaan Gram. Gelas objek dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol. Bakteri diambil dengan ose steril, kemudian disebar tipis-tipis di tengah kaca objek yang telah diberi NaCl dan difiksasi. Sediaan ditetaskan dengan kristal violet selama dua menit, kemudian dicuci dengan air mengalir. Ditetaskan lagi dengan Lugol sebentar dan dicuci dengan air mengalir. Kemudian tetaskan alkohol 95% setetes demi setetes hingga warna ungunya tidak terlihat lagi, lalu cuci dengan air mengalir secara perlahan. Kemudian tetaskan dengan safranin selama 30 detik, bilas dan biarkan mengering. Lihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x (Ulfah, Erina & Darniati, 2017).

2) Perhitungan Jumlah Koloni

a) Idealnya jumlah koloni per *plate* yang boleh dihitung yaitu antara 25 s/d 250 CFU (*coloni from unit*)

b) Koloni besar, kecil, menjalar dianggap berasal dari satu bakteri.

Syarat koloni yang ditentukan untuk dihitung adalah sebagai berikut:

a) Satu koloni dihitung satu koloni

b) Dua koloni yang bertumpuk dihitung satu koloni

c) Beberapa koloni yang berhubungan dihitung satu koloni

- d) Dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung dua koloni
- e) Koloni yang terlalu besar (lebih besar dari setengah luas cawan) tidak dihitung
- f) Koloni yang besarnya kurang dari setengah luas cawan dihitung satu koloni
- g) Perhitungan dapat dilakukan dengan cara manual dengan memberi tanda titik dengan spidol pada petri dish pada koloni yang sudah dihitung, dapat pula digunakan *Colony Counter*
- h) Dengan mengkalikan pengenceranya akan diperoleh angka/jumlah kuman/bakteri per 1 gram/1cc sampelnya.
- i) Jumlah koloni dalam sampel dapat dihitung dengan cara *Spread Plate*:

$$\text{Koloni tiap ml} = \frac{\Sigma \text{jumlah koloni} - 1 \text{ pengenceran}}{\text{jumlah pengenceran}}$$

3. Tahap Akhir

- a. Mencatat dan melakukan perhitungan
- b. Menganalisa hasil penelitian
- c. Pembuatan buku karya hasil ilmiah

H. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan bakteri *E. Coli* pada jajanan makanan yang dijual di SD Inpres Kayu Putih Oesao Tahun 2024.