

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 JENIS PENELITIAN

Penelitian ini bersifat deskriptif survey yang di lakukan di Kota Malang. Populasi dari penelitian ini adalah produk minuman es teh dalam kemasan yang di jual di salah satu titik ramai Kota Malang yaitu di Jl. Sigurgura Kota Malang. Jumlah sampel dalam penelitian ini sebanyak 6 sampel dan pengambilan sampel dengan teknik total sampling.

3.2 WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN

Penelitian di lakukan pada bulan Maret 2024 dan dilakukan di Lab Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Malang.

3.3 BAHAN DAN ALAT

- **Bahan**

1. Sampel minuman teh tanpa merk
2. Media *Lauryl Sulfate Tryptose* (LST)
3. Media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB)
4. Media *Eosin Metylen Blue* (EMB)
5. KH_2PO_4
6. Kapas
7. Alumunium foil
8. Kertas perkamen
9. Kertas label
10. Aquadest
11. Alcohol

- **Alat**

1. Autoklaf
2. Incubator
3. Laminar Air Flow (LAF)
4. Tabung reaksi
5. Tabung durham
6. Cawan petri

7. Beaker glass
8. Neraca analitik
9. Batang pengaduk
10. Spatula
11. Hot plate
12. Mikropipet 1 ml
13. Pipet ukur 10 ml
14. Bola pump
15. Bunsen
16. Ose
17. Labu ukur 1000 ml
18. Kertas pH

3.4 VARIABEL PENELITIAN

Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah variabel bebas dengan sampel minuman es teh tanpa merk yang ada di Jalan Sigura-gura dengan metode MPN.

3.5 DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL

Tabel 3.1 Definisi operasional variabel

No.	Variabel	Defisi operasional	Metode dan alat ukur	Skala ukur	Hasil ukur
1.	Es teh di beberapa titik ramai Kota Malang	Es teh yang dimaksud adalah es teh yang dijual di beberapa titik Kota Malang dengan kemasan.	Survey	-	Pengamatan bau dan warna
2.	<i>Coliform</i>	Cemaran bakteri yang ditemukan pada produk minuman es teh dalam kemasan di kota Malang	MPN	Ada / tidaknya	Positif : jika terdapat gelembung gas dalam tabung durham maka dinyatakan positif Negative : jika tidak terdapat gelembung gas pada tabung durham maka dinyatakan negatif.
3.	<i>E. coli</i>	Bakteri yang terdapat di dalam sampel es teh	Identifikasi <i>E. coli</i>	-	Positif dan Negatif

3.6 PROSEDUR PENELITIAN

Metode pengujian ada atau tidaknya cemaran bakteri *Coliform* menggunakan uji penduga dan uji penegas yang terdapat di dalam metode MPN yang berpedoman pada SNI 3143:2011 Minuman Teh Dalam Kemasan. Selanjutnya dilakukan identifikasi bakteri *E. coli* yang mengacu pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Alifia and Aji (2021).

A. Sterilisasi alat

1. Menyiapkan alat – alat yang akan disterilisasi.
2. Bungkus alat menggunakan kertas perkamen.
3. Sterilisasi alat menggunakan oven dengan suhu 180°C selama 1 jam.

B. Pengambilan sampel

1. Pembelian sampel dan dibawa ke laboratorium.
2. Pemberian label pada kemasan sampel.
3. Pengambilan sampel secara aseptis menggunakan mikropipet

C. Persiapan dan homogenisasi contoh

Prinsip : pembebasan sel-sel bakteri yang mungkin terlindung oleh partikel minuman dan untuk menggiatkan kembali sel-sel bakteri yang mungkin viabilitasnya berkurang karena kondisi yang kurang menguntungkan dalam minuman.

- **Larutan Pengencer (Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water (BPB))**

1. Masukkan 34g KH_2PO_4 ke dalam beaker glass
2. Tambahkan air suling sebanyak 500ml
3. Atur pH dengan NaOH hingga mencapai pH 7,2
4. Add-kan 1000ml dengan air suling
5. Sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit
6. Simpan pada kulkas
7. 1,25ml larutan stok diencerkan dengan air suling sebanyak 1000mL
8. Masukkan ke dalam botol pengencer sebanyak 450mL dan tabung reaksi sebanyak 9mL
9. Sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

- **Bakteri *Coliform***

Prinsip : pertumbuhan bakteri *Coliform* ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung durham kemudian dirujuk pada table APM.

- MPN Uji penduga *Coliform*

1. Inokulasi masing-masing 1ml larutan dari setiap pengenceran (10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3}) ke dalam tiga tabung berisi media LST
2. Masukkan tabung ke dalam incubator pada suhu 35°C selama 48 jam
3. Amati tabung pada jam ke-24, jika terdapat gas makan tabung dinyatakan positif.
4. Tabung yang belum mengandung gas dinyatakan negative, dilanjutkan inkubasi selama 24 jam.
5. Catat adanya pembentukan gas setelah inkubasi 48 jam.
6. Dilanjutkan uji penegasan pada semua tabung yang positif dalam uji penduga.

➤ MPN Uji penegasan *Coliform*

1. Kocok tabung LST yang positif secara hati-hati
2. Pindahkan satu hingga dua mata ose dari setiap tabung yang positif ke dalam tabung berisi BGLB
3. Masukkan tabung-tabung BGLB dalam incubator pada suhu 35°C selama 24-48 jam
4. Tentukan nilai MPN sesuai table di SNI 3143-2011

• Uji Keberadaan *E. coli*

Uji keberadaan *E. coli* mengacu pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Alifia and Aji (2021).

1. Timbang media EMB sebanyak 18,76 gram dan dilarutkan dalam 500 ml aquadest.
2. Panaskan di atas hot plate hingga mendidih dan larut sempurna, dipastikan tidak ada yang menggumpal.
3. Kemudian media di sterilkan di dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
4. Keluarkan media dan tunggu suhu sampai hangat kuku, homogenkan.

5. Tuang media ke cawan petri steril, tunggu hingga memadat.
6. Suspensi bakteri dari tabung yang positif menggunakan ose dan ditanam pada media EMB.
7. Inkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam.
8. Hasil positif muncul warna hijau metalik pada media.

3.7 PENGOLAHAN DAN PENYAJIAN DATA

3.7.1 Pengolahan Data

Data diolah dengan memberikan kode pada setiap sampelnya, pada penelitian ini peneliti memberikan kode sebagai berikut :

- Sampel

Tabel 3.2 Kode Sampel

Nama sampel	Kode
Sampel es teh 1	S 1
Sampel es teh 2	S 2
Sampel es teh 3	S 3
Sampel es teh 4	S 4
Sampel es teh 5	S 5
Sampel es teh 6	S 6

- Hasil

Tabel 3.3 Kode Hasil

Positif	+
Negative	-

3.7.2 Penyajian Data

Data disajikan dalam bentuk table yang menunjukkan ada atau tidaknya bakteri *E. coli* pada sampel produk minuman yang dijual di salah satu titik ramai Kota Malang.

