

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Untuk mengetahui apakah minuman olahan di Sekolah Dasar Negeri Buntu Pane Kabupaten Asahan mengandung bakteri *Escherichia coli*, jenis penelitian survei deskriptif ini melihat pada petugas penanganan makanan, higiene sanitasi makanan, dan analisis laboratorium..

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.2.1 Lokasi Penelitian

Kantin Sekolah Dasar Negeri di Kecamatan Buntu Pane, Asahan menjadi lokasi penelitian. Laboratorium Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit (BTKLPP) Kelas 1 Medan mengidentifikasi bakteri yang berasal dari makanan dan minuman. Jl. K.H. Jl. Wahid Hasyim, Merdeka 15 Kecamatan Medan Baru, Kota Medan No.

3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu Penelitian dimulai dari Survey awal pada bulan Maret sampai bulan Juni 2024.

3.3 Populasi dan Sampel Minuman

3.3.1 Populasi

Subjek penelitian secara keseluruhan adalah populasi. Sugino (2011) mengatakan bahwa penelitian populasi dilakukan apabila peneliti ingin meneliti seluruh aspek subjek yang diteliti. Populasi penelitian ini meliputi seluruh pedagang kantin sekolah di lingkungan Sekolah Dasar Negeri Kecamatan Buntu Pane Asahan. Sekolah Dasar Negeri Kecamatan Buntu Pane memiliki 21 kantin.

3.3.2 Sampel Minuman

Sugiono (2018) mengatakan bahwa sampel merupakan kumpulan karakteristik populasi yang akan diteliti dan hasilnya dianggap sebagai gambaran dari populasi tersebut. Sampel penelitian diambil dari 21 kantin. Sebanyak 21 sampel minuman es rasa berhasil dikumpulkan. Sebanyak empat belas sekolah digunakan sebagai sampel penelitian..

Tabel 3.1 Jenis Sampel

No	Lokasi Sampel	Jumlah Sampel
1	Kantin SDN 017725	1
2	Kantin SDN 016405	1
3	Kantin SDN 015899	2
4	Kantin SDN 010098	2
5	Kantin SDN 015898	1
6	Kantin SDN 015897	2
7	Kantin SDN 015896	1
8	Kantin SDN 014680	1
9	Kantin SDN 014673	2
10	Kantin SDN 013841	1
11	Kantin SDN 010110	2
12	Kantin SDN 010108	2
13	Kantin SDN 010102	2

14	Kantin SDN 016403	1
	Jumlah	21

3.4 Teknik Pengambilan Sampel

Dalam penelitian ini, metode total sampling digunakan sebagai metode pengambilan sampel.

3.5 Metode Pengumpulan Data

3.5.1 Jenis Data

1. Data Primer

Penilaian terhadap uji air minum, lembar persepsi langsung, dan wawancara terhadap pedagang makanan kemasan dilakukan di Balai Besar Perancangan Kesejahteraan Ekologis dan Pencegahan Penyakit Menular (BTKLPP) Kelas 1 Medan, Jl.KH. No. 15, Wahid Hasyim, Kota Medan, Medan Baru, khususnya mengenai ada tidaknya bakteri *Escherichia coli* pada minuman yang diteliti.

2. Data Sekunder

Buku-buku terkait penelitian, penelitian sebelumnya yang relevan, dan data dari jurnal penelitian.

3.6 Instrumen Penelitian

a. Kuesioner

Sesuai dengan Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/Menkes/SK/VII/2003 tentang Pedoman Higiene dan Sanitasi Makanan

Jajanan, daftar pertanyaan yang berkaitan dengan penelitian ini berfungsi sebagai instrumen penelitian.

b. Lembar Observasi

Lembar Observasi digunakan untuk memeriksa bakteri *E. coli*, kebersihan penanganan makanan, dan sanitasi makanan.

c. Uji Laboratorium

Menggunakan uji CFU (unit pembentuk koloni), uji laboratorium digunakan untuk menentukan apakah minuman es olahan yang dibeli di setiap kantin mengandung *E. coli*.

3.7 Pelaksanaan Penelitian

3.7.1 Alat dan Bahan Uji Bakteri *Escherichia Coli*

1. Alat
 - a. Autoclave
 - b. Inkubator 37°C dan 44°C
 - c. Kapas alkohol
 - d. Kawat ose
 - e. Labu Erlenmeyer
 - f. Lampu sprite
 - g. Cawan Petri
 - h. Pipet steril
 - i. Rak tabung reaksi
 - j. Spidol

- k. Tabung reaksi
- l. Thermometer
2. Bahan
 - a. Sampel minuman (minuman berasa)
 - b. Alkohol
 - c. *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB)
 - d. Media agar
 - e. *Kaldu laktosa* (LB)
 - f. Lugol 1%
 - g. Gentian ungu

3.7.2 Cara Pengambilan Sampel

1. Persiapkan alat tulis untuk membuat tanda atau menulis nama jenis sampel pada minuman yang akan di teliti.
2. Pesanlah minuman es rasa-rasa yang akan di teliti
3. Sampel yang akan diteliti langsung dimasukkan ke dalam botol yang telah disterilisasikan
4. Kemudian masukan kedalam kotak styrofoam
5. Sampel harus secepatnya di kirim ke laboratorium untuk diperiksa.

3.7.3 Metode Pengawetan Sampel

Metode pengawetan sampel air minum untuk uji *E.coli* melibatkan beberapa langkah penting untuk memastikan keakuratan hasil penngujian. Botol yang digunakan untuk mengumpulkan sampel harus steril terlebih dahulu. Hal ini

dilakukan dengan membakar tutup botol dan sterilkan bibir botol dengan kapas beralkohol yang dibakar. Sampel yang telah diambil kemudian dimasukkan kedalam coolbox untuk menjaga suhu tetap rendah dan mencegah pertumbuhan bakteri lainnya. Hal ini memastikan bahwa sampel tetap dalam kondisi yang stabil sebelum dilakukan pengujian.

Setelah sampel disimpan dalam kondisi yang tepat, maka dilakukan pengujian menggunakan metode Colony Forming Unit (CFU) atau metode lain yang sesuai untuk mendeteksi *E. Coli*.

3.7.4 Cara Pemeriksaan *Escherichia Coli*

Volume bahan berikut untuk pemeriksaan MPN telah disiapkan menggunakan metode tabung ganda: 5 x 10 mL; 1 x 1 mL; 1 x 0,1 mL. Pemeriksaan tabung ganda terdiri dari uji pendahuluan yang dikenal sebagai "Uji Dugaan" dan uji konfirmasi yang dikenal sebagai "Uji Komparatif."

1. Tes Pendahuluan (Tes Dugaan)

Media yang digunakan adalah *Lactose Broth*, cara pemeriksaan yaitu :

1) Isi sepuluh tabung reaksi dengan masing-masing 10 mililiter media *Lactose Broth*. Setiap tabung diberi tanda dan disusun pada rak tabung reaksi.:

- a. Nomor urut
- b. Tanggal Pemeriksaan
- c. Volume

- 2) Isi sepuluh tabung reaksi dengan masing-masing 10 mililiter media Lactose Broth. Masukkan makanan ringan ke dalam tabung setelah menatanya di rak tabung reaksi.:
 - a. Tabung 1 s/d 5 masing-masing sebanyak 10 ml.
 - b. Tabung 6 sebanyak 1 ml.
 - c. Tabung 7 s/d 10 sebanyak 0,1 ml.
 - d. Masing-masing tabung tersebut digoyang-goyang agar spesimen dan media bercampur.
- 1) Tambahkan 10 mililiter media Lactose Broth ke masing-masing sepuluh tabung reaksi. Siapkan t1) dan biarkan selama 24 jam pada suhu 35-37°C. Dalam tabung Durham, periksa perkembangan gas setelah 24 jam.
- 2) Dokumentasikan setiap tabung fermentasi lactose broth (pembentukan gas). Tabung Durham harus diperiksa untuk mengetahui pembentukan gas setelah 24-48 jam pada suhu 37°C, dan tabung apa pun yang menunjukkan fermentasi laktosa (pembentukan gas) harus dicatat. Pembentukan gas dalam tabung Durham dianggap positif (+) selama uji pendahuluan, dan uji konfirmasi berlanjut. Tambahkan camilan ke tabung reaksi dan letakkan di rak. Periksa untuk melihat apakah hasilnya negatif.

2. Test Penegasan (*Confirmative Test*)

Media yang digunakan adalah *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB) 2%.

Test ini untuk menegaskan hasil positif dari test perkiraan. Cara pemeriksaan :

1. Dari setiap tabung dugaan positif, satu atau dua ases dipindahkan ke tabung konfirmasi yang berisi sepuluh mililiter BGLB 2%. Dua tabung BGLB 2% dari setiap tabung dugaan dimasukkan ke dalam tabung.
2. Satu rangkaian tabung BGLB 2% diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 24 hingga 48 jam untuk memeriksa koliform, sedangkan rangkaian lainnya diinkubasi pada suhu 44°C selama 24 jam untuk memeriksa koliform tinja.
3. Jumlah tabung BGLB 2% positif ditentukan dengan melakukan pembacaan setelah 24 hingga 48 jam. Uji konfirmasi ini harus dilakukan untuk melakukan pemeriksaan bakteriologis pada makanan dan minuman.

3. Pembacaan Hasil Pemeriksaan Laboratorium

Hasil uji konfirmasi ditentukan dengan menghitung jumlah tabung dalam setiap set—satu tabung pada suhu 37°C dan satu tabung pada suhu 44°C. Indeks MPN Coliform dan indeks MPN Escherichia coli untuk tabung pada suhu 37°C dan 44°C, masing-masing akan dihitung setelah angka-angka tersebut dibandingkan dengan tabel MPN.

3.8 Defenisi Operasional

Tabel 3.2 Defenisi Operasional

Variabel	Defenisi Operaional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Kandungan Bakteri <i>Escherichia Coli</i>	Keberadaan bakteri <i>Escherichia coli</i> pada minuman es rasa-rasa yang dijual pedagang kantin SDN	Pemeriksaan Sesuai PEMENKES No.2 tentang Air Minum	Uji Laboraturium	1.Memen uhi syarat apabila jumlah bakteri 0/100ml per sampel (negatif) 2.Tidak memenuh i syarat apabila jumlah bakteri >0/100 ml per sampel (positif)	Nomin al
Hygiene Penjamah Makanan	Semua yang mencakup kebersihan pedagang dengan tujuan mencegah kontaminasi minuman mulai dari tahap persiapan hingga penyajian dengan memperhatikan kebersihan seluruh anggota tubuh	Kuesioner Kepmenkes RI No. 942/Menkes/SK/VII/2003	Observasi dan wawancara	1.Ya 2.Tidak - Memenu hi syarat jika $\geq 65\%$ - Tidak memenuh i syarat jika $\leq 65\%$	Ordina l

	agar tidak mengontaminasi minuman.				
Hygiene Peralatan	Kebersihan alat untuk mencegah kontaminasi pada minuman Peralatan yang abis digunakan harus dicuci bersih dan memakai sabun	Kuesioner Kepmenkes RI No. 942/Menkes/SK/VII/2003	Obsevasi wawancara	dan	1.Ya 2.Tidak - Memenuhi syarat jika $\geq 65\%$ -Tidak memenuhi syarat jika $\leq 65\%$
Sanitasi Air, Bahan Makanan/Minuman dan Penyajian	Air minum harus memenuhi persyaratan tidak berasa,tidak berbau dan tidak berwarna, Bahan makanan/minuman harus baik mutunya, Penyajian makanan menggunakan alat yang baik dan bersih, tempat penyajian bersih dan terhindar dari binatang pengganggu	Kuesioner Kepmenkes RI No. 942/Menkes/SK/VII/2003	Observasi wawancara	dan	1.Ya 2.Tidak - Memenuhi syarat jika $\geq 65\%$ -Tidak memenuhi syarat jika $\leq 65\%$
Sanitasi Sarana Penjaja	Sarana penjaja harus memiliki lokasi yang bersih dan jauh	Kuesioner Kepmenkes RI No.	Observasi wawancara	dan	1.Ya 2.Tidak
					Ordina 1

dari debu dan pencemaran.	942/Menkes/SK/VII/2003	- Memenuhi syarat jika $\geq 65\%$ -Tidak memenuhi syarat jika $\leq 65\%$
---------------------------	------------------------	--

3.9 Analisa Data

1. Analisis Univariat

Deskripsi dan uraian masing-masing variabel penelitian merupakan tujuan dari analisis univariat. Notoatmodjo mengatakan bahwa hasil khas dari analisis semacam ini adalah distribusi frekuensi dan persentase masing-masing variabel. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 11 Tahun 2016 dengan ketentuan baku hygiene dan sanitasi pengolahan pangan. Tujuannya adalah untuk mengetahui bagaimana petugas pengawas pangan di SDN Buntu Lembar Asahan menangani pangan dan apakah minuman yang ditangani mengandung *Escherichia coli*. Pedoman sanitasi dan hygiene makanan jajanan dapat dilihat pada dokumen 942/Menkes/SK/VII/2003. Hasil pemeriksaan laboratorium *Escherichia coli* akan diolah kemudian disajikan dalam bentuk tabel sesuai dengan PERMENKES Nomor 2 Tahun 2023 tentang Air Minum.