

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Metode yang akan digunakan pada penelitian ini adalah desain deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui gambaran adanya bakteri *Coliform* dan *E.coli* pada air minum dalam kemasan.

#### **B. Tempat dan waktu**

Uji mikrobiologi pada penelitian ini dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Waktu pelaksanaan selama 13 bulan yang dimulai pada Oktober 2018 hingga Oktober 2019.

#### **C. Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini adalah air minum kemasan merek X dan merek Y. Sampel dalam penelitian ini adalah satu botol air minum dalam kemasan merek X dan merek Y.

#### **D. Identifikasi variabel penelitian dan definisi operasional**

##### 1. Identifikasi variabel penelitian

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah air minum dalam kemasan merek X dan merek Y.
- b. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah hasil uji mikrobiologi dan uji kimiawi.
- c. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah metode, alat yang digunakan (Inkubator, Oven dan *Autoclave*) dan suhu.

## 2. Definisi operasional

- a. Air minum dalam kemasan merek X adalah air minum dalam kemasan botol 300 ml yang beredar di Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- b. Air minum dalam kemasan merek Y adalah air minum dalam kemasan botol 300 ml yang beredar di Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta.
- c. Uji mikrobiologi digunakan untuk mendeteksi adanya bakteri *Coliform* dan *E.coli* meliputi *presumptive phase*, *confirmed phase* dan *completed phase*.
- d. Uji kimiawi digunakan untuk mendeteksi adanya kadar logam dimana dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri serapan atom.

## E. Instrumen Penelitian

### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi (*Iwaki Pyrex®*), timbangan analitik (*Mettler Tholedo®*), tabung durham, rak tabung, gelas ukur, bunsen, loop steril, cawan petri disposable (*Asahi Glass Co., LTD*), pipet volume (*Iwaki Pyrex®*), kompor listrik, *Laminar Air Flow*, oven (*Oven Memmert*), autoklaf (*Allamerica*), dan inkubator (*Memmert Model INE 400*), *Atomic Absorption Spectrometer*.

## 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air minum dalam kemasan botol 300ml merek X yang beredar di Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan merek Y yang beredar di Universitas 'Aisyah Yogyakarta, lacto broth (*Oxoid*), brilliant green lacto broth (*Oxoid*), nutrien agar (*Merck*) dan aquadest

## F. Cara kerja

### 1. Uji Fisik

Uji fisik pada sampel X dan Y dilakukan secara organoleptis. Uji rasa pada sampel X dan Y dilakukan oleh seorang peneliti dan responden sebanyak 20 orang dengan meminum (merasakan). Uji bau pada sampel X dan Y dilakukan dengan indra penciuman peneliti. Uji bau dilakukan dengan menuangkan setengah bagian air dalam botol kemasan 300 ml ke dalam gelas kemudian membau air tersebut. Uji warna pada sampel X dan Y dilakukan dengan indra penglihatan peneliti dengan mengidentifikasi warna pada air dalam botol tersebut.

### 2. Uji Kimiawi

Uji kimiawi berupa uji logam untuk sampel air minum dalam kemasan merek x dan merek y dilakukan di Kementerian Perindustrian Republik Indonesia Badan Penelitian dan Pengembangan Industri Balai Besar Kulit Karet dan Plastik. Uji kadar logam kadmium dilakukan dengan mengaspirasikan contoh uji ke dalam spektrofotometri serapan atom-nyala dan mengukur serapannya pada panjang gelombang 228,8nm dan bila

diperlukan, dilakukan pengenceran. Kemudian mencatat hasilnya dan dihitung dengan menggunakan rumus  $Cd \text{ (mg/L)} = C \times fp$  dimana C adalah kadar yang didapat hasil pengukuran (mg/L) dan fp adalah faktor pengenceran (SNI, 2009).

Pada uji logam besi diaspirasikan dengan spektrofotometri serapan atom-nyala dengan panjang gelombang 248,3 (SNI, 2009). Untuk uji mangan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri serapan atom-nyala (SNI, 2009).

### 3. Uji Mikrobiologi

#### *a. Presumptive phase*

Uji praduga sampel air minum dalam kemasan merek x dan y dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Dalam uji praduga dimulai dengan menyiapkan tabung reaksi steril dan tabung durham steril, dilanjutkan menimbang lacto broth sebanyak 2,6 gram dan ditambahkan aquadest sebanyak 200 ml kemudian dilarutkan diatas kompor listrik. Selanjutnya masukkan sebanyak 5 ml lacto broth ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham, masukkan sampel sebanyak 10 ml tiap tabung reaksi, pastikan tidak ada gelembung udara di dalam tabung durham. Inkubasi sampel selama 24 jam dengan suhu  $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Inkubasi dapat dilakukan hingga 2 x 24 jam untuk tabung yang belum menunjukkan tanda adanya bakteri. Tabung yang telah menunjukkan tanda adanya bakteri (tabung positif) dapat dilanjutkan ke

tahap *confirmed phase* (Clesceri, dkk. 1999).

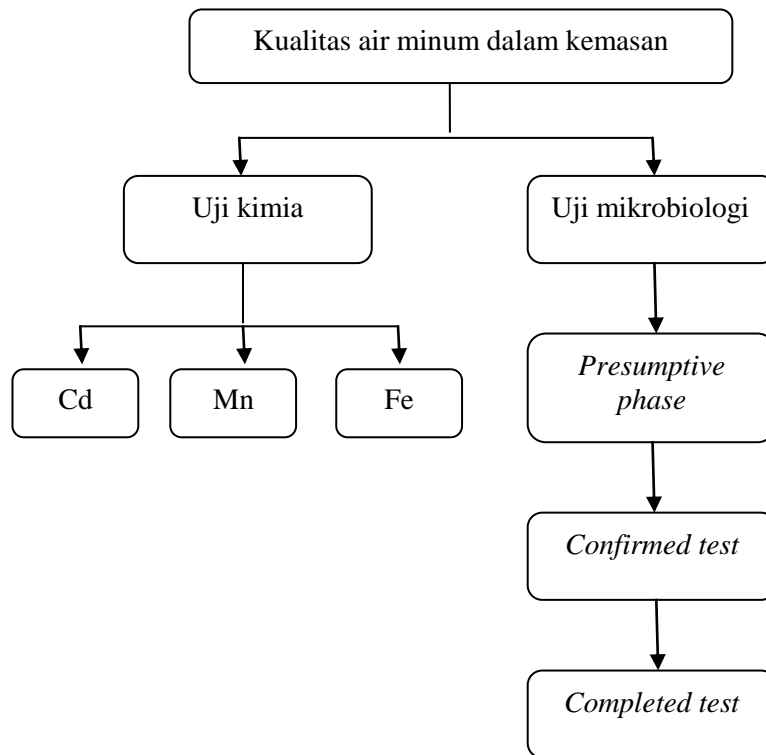
b. *Confirmed phase*

*Confirmed phase* dilakukan dengan melarutkan *brilliant green lacto broth* sebanyak 8 gram dengan 200 ml aquadest. Kemudian masukkan larutan brilliant green lacto broth sebanyak 10 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham. Setelah itu pindahkan kultur bakteri yang ada dibagian tengah pada tabung positive presumptive phase. Pengambilan kultur sampel dilakukan menggunakan loop steril. Inkubasi sampel selama 24 jam dengan suhu  $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Inkubasi dapat dilakukan hingga 2 x 24 jam untuk tabung yang belum menunjukkan tanda adanya bakteri. Tabung yang telah menunjukkan tanda adanya bakteri (tabung positif) dapat dilanjutkan ke tahap *completed phase* (Clesceri, dkk. 1999).

c. *Completed phase*

*Completed phase* dilakukan dengan melarutkan nutrisi agar sebanyak 8,4 gram dengan 300 ml aquadest. Setelah larut, tuang nutrisi agar ke dalam cawan petri *disposable*. Oleskan sampel tabung positive tahap confirmed test dengan loop steril ke cawan petri yang berisi nutrisi agar. Inkubasi sampel dengan suhu  $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam  $\pm$  2jam. Kemudian cek koloni (Clesceri, dkk. 1999).

### G. Skema Langkah Kerja



**Gambar 2. Skema Langkah Kerja**

### H. Analisis data

Analisa data dalam penelitian ini adalah data yang diperoleh selama melakukan penelitian dari uji kimia meliputi uji logam cadmium, mangan dan besi serta uji mikrobiologi meliputi tahap *presumptive phase*, *confirmed phase* dan *completed phase*. Analisa data uji logam dan uji mikrobiologi dilakukan oleh peneliti dari hasil penelitian sendiri uji mikrobiologi dan dari Balai Besar Kulit, Karet dan Plastik untuk uji logam.