

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian deskriptif merupakan penelitian yang bertujuan untuk mendeskripsikan atau memberikan gambaran terhadap obyek yang diteliti melalui data atau sampel yang telah terkumpul (Sukmadinata, 2006). Penelitian ini memberikan gambaran terhadap obyek yang diteliti yaitu jamu kunyit asem yang beredar di Kecamatan Klojen Kota Malang berdasarkan data yang diperoleh untuk dapat diambil kesimpulan secara umum. Desain penelitian yang digunakan yaitu observasional yaitu mengumpulkan data dengan cara melakukan pengamatan langsung terhadap obyek penelitian.

3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari hingga Maret pada tahun 2021. Lokasi penelitian dilakukan di laboratorium mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Tabung durham, tabung reaksi, cawan petri, satu set alat pewarnaan gram, Bunsen spirtus, ose jarum, ose bulat, wadah, pipet volume, kertas perkamen, kapas, rak tabung reaksi, penghisap.

3.3.2 Bahan

Aquadest, Media Endo agar, media LB (*Lactose Broth*), media BGLBB (*Brilliant Green Lactose Bile Broth*), media PCA (*Plate Count Agar*), TTC, EMBA, SIM, MR-VP, larutan alfa naftol, larutan KOH 40%, simmons sitrat.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Variable bebas dalam penelitian ini adalah jamu kunyit asem. Dengan variasi merk jam

3.4.2 Variabel tetap

Variable terikat dalam penelitian ini adalah jumlah koloni *Escherichia Coli*

3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat ukur	Kriteria
Jumlah koloni <i>Escherichia Coli</i> pada jamu kunyit asam	Menentukan jumlah koloni dalam jamu kunyit asam di Pasar Besar Malang pada titik pengambilan pedagang 1, 2, dan 3 dinyatakan dalam satuan koloni/gr	Jumlah koloni dalam setiap sampel yang dianalisis	Angka Lempeng Total (ALT)	Berdasarkan SNI 01-4320-1996 tentang serbuk minuman tradisional, persyaratan Angka Lempeng Total 3×10^3 Koloni/gr

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik random sampling. Dengan cara membeli sampel pada pedagang jamu di toko pinggir jalan pada wilayah Kecamatan Klojen Kota Malang, dengan pembagian titik sebagai berikut :

- Titik 1 : Kelurahan Oro-oro Dowo
- Titik 2 : Kelurahan Gading Kasri
- Titik 3 : Kelurahan Sukoharjo

3.6.2 Uji Organoleptik

Contoh yang telah siap diuji disajikan dalam bilik-bilik pencicipan. Uji rasa dilengkapi dengan sampel jamu yang akan diuji, air putih, tisu, dan peralatan lain yang berhubungan dengan jenis contoh. Uji organoleptik dilakukan dengan teknik uji deskripsi. Penilaian contoh yang diuji dideskripsikan meliputi spesifikasi kenampakan, bau, rasa, tekstur/konsistensi, dan spesifikasi lainnya yang erat hubungannya dengan kondisi contoh. Sehingga dapat diperoleh kesimpulan yang menyatakan

spesifikasi kenampakan, bau, rasa, tekstur/konsistensi, dan spesifikasi lain (SNI 01-2346- 2006).

3.6.3 Preparasi Sampel

Sampel berupa jamu serbuk dengan perlakuan yaitu diambil sampel sebanyak 5 gram. Kemudian, sampel dilarutkan dalam 45 ml air dan dihomogenkan.

3.6.4 Uji Praduga (Presumptif Test)

Pada uji praduga, sampel jamu kunyit asam yang diperoleh dilakukan pengenceran hingga 10^{-3} . Medium pengenceran yang digunakan yaitu medium Lactose Broth (LB) menggunakan pengenceran seri 3 tabung. Sebanyak 9 tabung reaksi yang masing-masing berisi 9 ml medium LB telah disiapkan berikut tabung durham di dalamnya. Ditimbang sampel serbuk kunyit asam sebanyak 5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi aquades steril 45 ml. Sebanyak 1 ml dari pengenceran 10^{-1} sampel kunyit asam dan dimasukkan ke dalam 3 seri tabung yang pertama. Selanjutnya, 1 ml dari pengenceran 10^{-2} tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam 3 seri tabung yang kedua. Pengenceran terakhir dari 10^{-3} diambil 1 ml sampel jamu untuk dimasukkan ke dalam 3 seri tabung yang ketiga. Semua tabung uji selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Pada 24 jam pertama, tabung uji pengenceran diamati untuk dicatat pembentukan gas yang terperangkap dalam tabung durham. Apabila ada tabung yang tidak terbentuk gas, pengamatan dapat dilakukan setelah 48 jam.

3.6.5 Uji Konfirmasi (Confirmative Test)

Pada uji konfirmasi, dilakukan dengan cara menginokulasi sebanyak 1 ose sampel jamu yang positif terbentuk gas pada uji praduga ke dalam 10 ml medium Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLBB) 2%. Sampel uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Pengamatan dilakukan pada 24 jam pertama dan dilanjutkan hingga 48 jam. Sampel positif ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung durham sebagaimana pada uji praduga. Uji konfirmasi dilakukan untuk memperkuat dugaan dari uji praduga mengenai keberadaan bakteri Coliform pada sampel uji. Hasil pengamatan yang diperoleh dari uji konfirmasi selanjutnya dicatat dan dikonversi sesuai dengan table MPN untuk memberikan nilai duga berdasarkan kombinasi tabung positif dan negative.

3.6.6 Uji Lengkap (Completed Test)

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui keadaan Coliform tertentu, yaitu *Escherichia Coli* yang tumbuh pada medium pertumbuhan yang spesifik. Pada konfirmasi keberadaan *Escherichia Coli*, sebanyak 1 ose dari sampel uji konfirmasi yang memberikan nilai positif ditumbuhkan pada medium NA (dengan posisi di miringkan). Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu ruang. Hasil positif *Escherichia Coli* pada sampel uji ditandai dengan pertumbuhan koloni berwarna hijau kilap logam pada medium.

3.6.7 Uji NA (Nutrient Agar)

Koloni yang terdapat pada uji lengkap tersebut diinokulasi ke dalam media NAS dengan cara menusukkan ose jarum hingga dasar tabung kemudian digoreskan. Setelah itu, diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

3.6.8 Pewarnaan Gram

Hasil positif yang ditunjukkan pada media EMBA dapat dilanjutkan dengan pewarnaan gram untuk membedakan jenis gram bakteri gram positif dan gram negatif. Pewarnaan gram diawali dengan pembuatan preparat terlebih dahulu dari bakteri yang digunakan. Preparat diperoleh dari 1-3 ose biakan positif media EMBA lalu diletakan di preparat dan diberikan 1-2 tetes larutan aquades kemudian dikeringkan. Preparat yang telah kering diberi 1 tetes larutan kristal violet yang didiamkan selama 1 menit serta dibilas dengan air yang mengalir. Kemudian, diberi larutan iodium yang didiamkan selama 1 menit dan dibilas dengan air yang mengalir. Setelah itu, di tambahkan alkohol 95% hingga warna pada preparat menghilang, sehingga dapat dilakukan penambahan safranin selama 30 detik dan dibilas dengan air yang mengalir. Proses selanjutnya adalah pengeringan yang dilanjutkan dengan pengamatan dengan mikroskop dengan perbesaran 100 kali.

3.6.9 Pengujian Biokimia (IMVIC)

a) Uji indol

Biakan NAS ditanam 1 ose ke dalam SIM. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 3-5 tetes pereaksi indol. Di homogenkan lalu didiamkan selama beberapa menit. Uji indol akan menunjukkan hasil positif bila larutan terdapat cincin

merah.

b) Uji MR (Metil Merah)

Biakan NAS ditanam 1 ose ke dalam MR-VP. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 3-5 tetes merah metil. Di homogenkan lalu didiamkan selama beberapa menit. Uji merah metil (Methyl Red) akan menunjukkan hasil positif bila larutan berwarna merah.

c) Uji VP (Voges Proskauer)

Biakan NAS ditanam 1 ose ke dalam MR-VP. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 0,6 ml larutan alfa naftol dan 0,2 ml larutan KOH 40%. Di homogenkan lalu didiamkan selama beberapa menit. Uji VP (Voges Proskauer) akan menunjukkan hasil positif bila larutan menunjukkan warna merah.

d) Uji Sitrat

Biakan NAS ditanam 1 ose ke dalam simmons sitrat. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji sitrat akan menunjukkan hasil positif bila tidak terjadi pertumbuhan dan tidak mengeluarkan warna keruh.

3.6.10 Pengujian Angka Lempeng Total

Pengenceran sampel yang telah dibuat sebelumnya dipipet masing- masing 1 mL secara aseptis kedalam cawan petri steril dan dibuat duplo. Media PCA sebanyak 20 mL yang telah dicairkan yang bersuhu $45\pm 1^\circ\text{C}$ dalam waktu 15 menit dari pengenceran pertama dituangkan pada setiap cawan petri. Cawan petri digoyangkan secara perlahan agar sampel tersebar merata pada media dan biarkan hingga memadat. Uji kontrol dilakukan untuk mengetahui sterilitas media dan pengencer. Uji sterilitas media dilakukan dengan cara menuangkan media PCA dalam suatu cawan petri dan dibiarkan memadat. Uji sterilitas pengencer dilakukan dengan cara menuangkan media PCA yang ditambahkan sebanyak 1 mL pengencer PDF lalu dibiarkan memadat.

Seluruh cawan petri diinkubasi terbalik pada suhu 35°C selama 24 jam hingga 48 jam. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung. Dihitung Angka Lempeng Total dalam 1 mL contoh dengan mengalikan jumlah rata- rata koloni pada cawan dengan faktor

pengenceran yang digunakan (PPOMN, 2006).

3.7 Pengolahan dan Penyajian Data

3.7.1 Pengolahan Data

Data-data yang dikumpulkan dari hasil pengujian dan observasi diolah dengan menggunakan teknik pengolahan data secara tabulating data yaitu data disajikan dalam bentuk tabel dengan narasi.

3.7.2 Pengujian Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif yaitu membandingkan kenyataan dilapangan atau hasil pemeriksaan dengan teori serta Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 12 Tahun 2014 tentang persyaratan mutu obat tradisional.