

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif adalah penelitian yang mengarah pada gejala-gejala, fakta-fakta atau kejadian-kejadian secara sistematis dan akurat, mengenai sifat-sifat populasi atau daerah tertentu (Hardani, 2020). Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi jumlah bakteri pada Pie Susu yang diperjualbelikan di wilayah Denpasar.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-Juni 2024.

3.3. Bahan Penelitian

Sampel pie susu dengan merek A didapatkan dari salah satu toko oleh-oleh yang berada di Denpasar yang kemudian dikirimkan ke kabupaten Malang menggunakan kurir pada tanggal 15 Mei 2024 dan sampai di kabupaten Malang tanggal 17 Mei 2024. Tertulis tanggal produksi pie susu yaitu pada tanggal 13 Mei 2024 dan tanggal *expired* nya pie susu pada box kemasaannya tanggal 21 Mei 2024.

Sampel pie susu disimpan di suhu ruang. Sampel pie susu disimpan di suhu ruang sampai h-1 sebelum masa *expired* yaitu pada tanggal 20 Mei 2021 dan dibawa ke laboratorium mikrobiologi Politeknik Kesehatan Malang untuk diuji nilai Angka Lempeng Totalnya. Untuk sampel dengan merek yang sama yang diuji h+1 sesudah masa *expired* penyimpanannya berada di laboratorium sampai 1 hari melewati masa *expired* yang tertulis pada box dan kemudian diuji pada tanggal 22 Mei 2024.

Dalam 1 box berisi 10 bungkus sampel pie susu. Berat 1 box nya kurang lebih 200 gram berarti 1 bungkus pie susu memiliki berat 20 gram. Untuk setiap pengujian diambil 5 bungkus secara acak dan dihaluskan menggunakan alu mortar kemudian ditimbang 10 gram untuk tiap pengenceran.

3.4. Alat dan Bahan

3.4.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah oven, *hot plate*, *laminar air flow*, *beaker glass* 1 L, *beaker glass* 250 mL, *beaker glass* 100 mL, timbangan, batang pengaduk, spatula, kaca arloji, *magnet stirrer*, gelas ukur 100 mL, autoklaf, Erlenmeyer 250 mL, Erlenmeyer 1 L, alu mortar, rak tabung reaksi, tabung reaksi, cawan petri, mikropipet, *vortex*, bola pump, pipet ukur 10 mL, *colony counter*, bunsen, korek api, *blue tips* 1000 μ l, *beaker glass* 50 mL dan botol semprot.

3.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel pie susu media *Pepton Water*, media *Plate Count Agar* (PCA), aluminium foil, kapas steril, tisu, label, kertas dan aquadest.

3.5. Variabel Penelitian

3.5.1. Variabel Bebas (*Independent*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah nilai cemaran bakteri dengan menggunakan metode Angka Lempeng Total.

3.5.2. Variabel Terikat (*Dependent*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kelayakan konsumsi pie susu dengan menghitung mikrobiologi nilai ALT h-1 sebelum masa *expired* dan h+1 sesudah masa *expired*.

3.6. Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala data
Nilai Angka Lempeng Total	Menentukan jumlah koloni bakteri aerob pada sampel pie susu yang diperjualbelikan di wilayah Denpasar dengan menggunakan teknik <i>pour plate</i> .	Melakukan preparasi, pengenceran, inokulasi, inkubasi dan perhitungan koloni pada sampel pie susu yang diuji h-1 sebelum <i>expired</i> dan h+1 sesudah masa <i>expired</i> dalam 1 merek yang sama.	Menurut SNI 2973:2022 yaitu berkisar $<10^4$ CFU/mL hingga $>10^4$ CFU/mL.	Rasio
Kelayakan konsumsi pie susu dengan menghitung mikrobiologi nilai ALT h-1 sebelum masa <i>expired</i> dan h+1 sesudah masa <i>expired</i> .	Suatu kondisi pie susu yang tingkat kontaminasinya dilihat dengan cara menghitung nilai ALT pie susu dengan ketentuan h-1 sebelum masa	Uji Angka Lempeng Total	Menurut SNI 2973:2022. Layak konsumsi $<10^4$ CFU/mL dan tidak layak konsumsi $\geq 10^4$ CFU/mL.	Ordinal

	<i>expired</i> dan h+1 sesudah masa <i>expired</i> .			
--	------------------------------------------------------------	--	--	--

3.7. Prosedur Penelitian

3.7.1. Sterilisasi Alat

Alat yang akan digunakan untuk penelitian ini terlebih dahulu disterilkan dengan cara membungkus semua alat dengan. Tujuan dari pembungkusan adalah agar alat tidak terkontaminasi bakteri dari luar dan agar alat tidak pecah karena kebanyakan alat terbuat dari kaca. Sterilisasi menggunakan oven umumnya pada suhu 160-170°C selama 1-2 jam. Sterilisasi panas kering cocok untuk sterilisasi serbuk yang tidak stabil terhadap uap air, alat yang terbuat dari kaca seperti erlenmeyer, tabung reaksi, beaker glass dan lain-lain (Fauzi, 2013).

3.7.2. Pembuatan dan Sterilisasi Media

Media yang digunakan adalah *Plate Count Agar (PCA)*. Prosedur pembuatan media ini adalah dengan cara menimbang sebanyak 22,5 gram dan dilarutkan dengan 1000 mL aquadest, lalu dipanaskan dan diaduk hingga larutan menjadi warna kuning jernih menggunakan *hot plate* dan *magnet stirrer*. Media ini disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media agar yang sudah dibuat umumnya dituang dalam cawan petri. Cawan petri terdapat berbagai macam ukuran. Untuk cawan petri yang berdiameter 15 cm dapat menampung media sebanyak 15-20 ml, sedangkan untuk cawan petri yang berdiameter 9 cm dapat menampung media sebanyak 10 ml (Wulandari et al., 2020).

3.7.3. Preparasi dan Pengenceran Sampel

Penanaman sampel untuk uji Angka Lempeng Total menggunakan metode dilusi/ pengenceran. Pie susu yang akan diuji, kemasannya dibuka secara aseptis lalu dihancurkan hingga halus menggunakan alu mortar dan ditimbang sebanyak 10 gram, dimasukkan kedalam media Pepton sebanyak 90 mL, kemudian dihomogenkan dengan *vortex* selama 30 detik. Faktor pengenceran kemudian di pipet menggunakan mikropipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam media

pepton sebanyak 9 mL, selanjutnya dihomogenkan menggunakan *vortex*. Prosedur yang sama diulangi hingga faktor pengenceran 10^{-3} (Noviawati et al., 2018).

3.7.4. Pengujian Angka Lempeng Total

Setiap pengenceran sampel di pipet 1 mL menggunakan mikropipet dan dimasukkan dalam cawan petri steril. Pengerjaan tiap pengenceran di lakukan secara duplo. Kemudian menambahkan 12-15 ml media PCA yang sudah didinginkan kira-kira suhu $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ke dalam masing-masing cawan yang sudah berisi sampel. Cawan digoyangkan ke depan-belakang dan ke kanan-kiri agar sampel dan media PCA agar tercampur. Setelah agar memadat, semua cawan petri yang sudah berisi sampel dan media di inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dengan posisi terbalik. Larutan kontrol dibuat dengan cara mencampur larutan pengencer dengan media PCA (SNI, 2015). Diperlukan kontrol negative untuk mengetahui bahwa media yang digunakan tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme, sehingga hasil positif cemaran mikroba benar-benar berasal dari sampel, bukan dari media atau cara pengerjaan yang tidak aseptis (Novaryatiin & Mulia, 2017). Setelah di inkubasi, setiap cawan yang terdapat koloni dihitung menggunakan *colony counter*.

3.7.5. Perhitungan Koloni Angka Lempeng Total

1. Pilih cawan petri yang koloninya 25-250 koloni.

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Dengan :

N adalah jumlah koloni sampel, dinyatakan dalam koloni per ml atau koloni per g;

$\sum C$ adalah jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung;

n_1 adalah jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung;

n_2 adalah jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung;

d adalah pengenceran pertama yang digunakan (SNI, 2015).

2. Apabila koloni dalam cawan pada seluruh pengenceran lebih dari 250 koloni maka laporkan hasilnya sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD), tetapi jika salah

satu pengenceran mempunyai jumlah koloni mendekati 250 koloni laporkan sebagai perkiraan ALT.

3. Apabila koloni dalam cawan pada seluruh pengenceran kurang dari 25 koloni, catat koloni yang ada, tetapi nyatakan sebagai kurang dari 25 koloni dan dikalikan dengan $1/d$, dimana d adalah faktor pengenceran pertama yang digunakan dan dilaporkan sebagai perkiraan ALT (SNI, 2015).

3.7.6.. Destruksi

Destruksi merupakan proses pemusnahan pada hasil pekerjaan mikrobiologi yang telah mengandung mikroorganisme sebelum dilakukan pencucian. Tujuan dari destruksi adalah membersihkan semua mikroorganisme yang terdapat pada alat-alat yang telah digunakan pada saat pengujian karena tidak dapat dipastikan alat-alat yang digunakan itu bersih sebelum didestruksi, bisa saja masih ada bakteri yang dapat membahayakan. Proses destruksi ini dilakukan dengan cara memasukkan alat-alat yang sudah dipakai pengujian (yang kontak langsung dengan bakteri) ke dalam autoklaf, kemudian diaktifkan pada suhu 121°C selama 30 menit. Bila telah selesai, wadah yang mengandung media dan mikroba hasil percobaan (yang telah cair) dapat dibuang ke limbah, kemudian alat dicuci menggunakan sabun (Wiguna, 2015).

3.8. Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

3.8.1. Pengolahan Data

Pengolahan data merupakan proses untuk menghasilkan penyajian data yang bermakna dan kesimpulan yang semestinya (Notoadmodjo, 2012). Pengolahan data dalam penelitian ini terdiri dari 2 tahap yaitu : *coding* dan *tabulating*. Tahap-tahap pengolahan data dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

a. Coding

Coding merupakan proses pemberian label atau kode pada data yang terkumpul. Melalui proses *coding*, data yang awal berbentuk deskriptif diubah menjadi bentuk yang lebih terstruktur. Adapun pengkodean untuk penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Replikasi

Replikasi 1 = R1

Replikasi 2 = R2

2. Pengenceran

Pengenceran $10^{-1} = 10^{-1}$

Pengenceran $10^{-2} = 10^{-2}$

Pengenceran $10^{-3} = 10^{-3}$

3. Hari

H-1 = 1 hari sebelum

H-2 = 1 hari sesudah

b. *Tabulating*

Tabulating merupakan proses data yang dibentuk menjadi sebuah tabel, dengan mengelompokkan dan mengatur data sesuai dengan kriteria yang ditentukan. Tujuan dari *tabulating* adalah agar data yang didapat jelas dan terstruktur, sehingga memudahkan dalam analisis dan interpretasi data (AGUSTIAJI, 2023).

3.8.2. Analisis Data

Pada penelitian ini menggunakan analisis deskriptif yang hanya mendeskripsikan atau menggambarkan hasil penelitian dari suatu variabel. Menurut (Gozali, 2016), statistic deskriptif adalah kegiatan mengelompokkan, meringkas dan menyajikan data agar mudah di baca dan mudah untuk dipahami.

Tujuan utama analisis statistic deskriptif adalah untuk memberikan gambaran mengenai variabel-variabel yang digunakan dalam penelitian ini seperti nilai angka lempeng total, serta bertujuan untuk mengolah dan menganalisis data supaya dapat disajikan dalam tampilan yang lebih baik (AGUSTIAJI, 2023).

3.8.3. Penyajian Data

Dalam penelitian yang menggunakan analisis statistik deskriptif, penyajian data biasanya dalam bentuk data atau diagram. Tapi dalam penelitian ini, hasil analisis di sajikan dalam bentuk data yang dibawahnya terdapat penjelasan dari hasil data tersebut.