

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan analitik observasional karena meneliti dan menginterpretasikan suatu hubungan antara cemaran bakteri mikroba *Escherichia coli* terhadap skor keamanan pangan pada sampel serta melakukan pengujian laboratorium untuk mengetahui cemaran total mikroba tanpa memberikan intervensi kepada sampel. Rancangan yang digunakan adalah *cross-sectional* karena semua subjek penelitian diamati pada satu kali pengamatan tanpa memberikan intervensi.

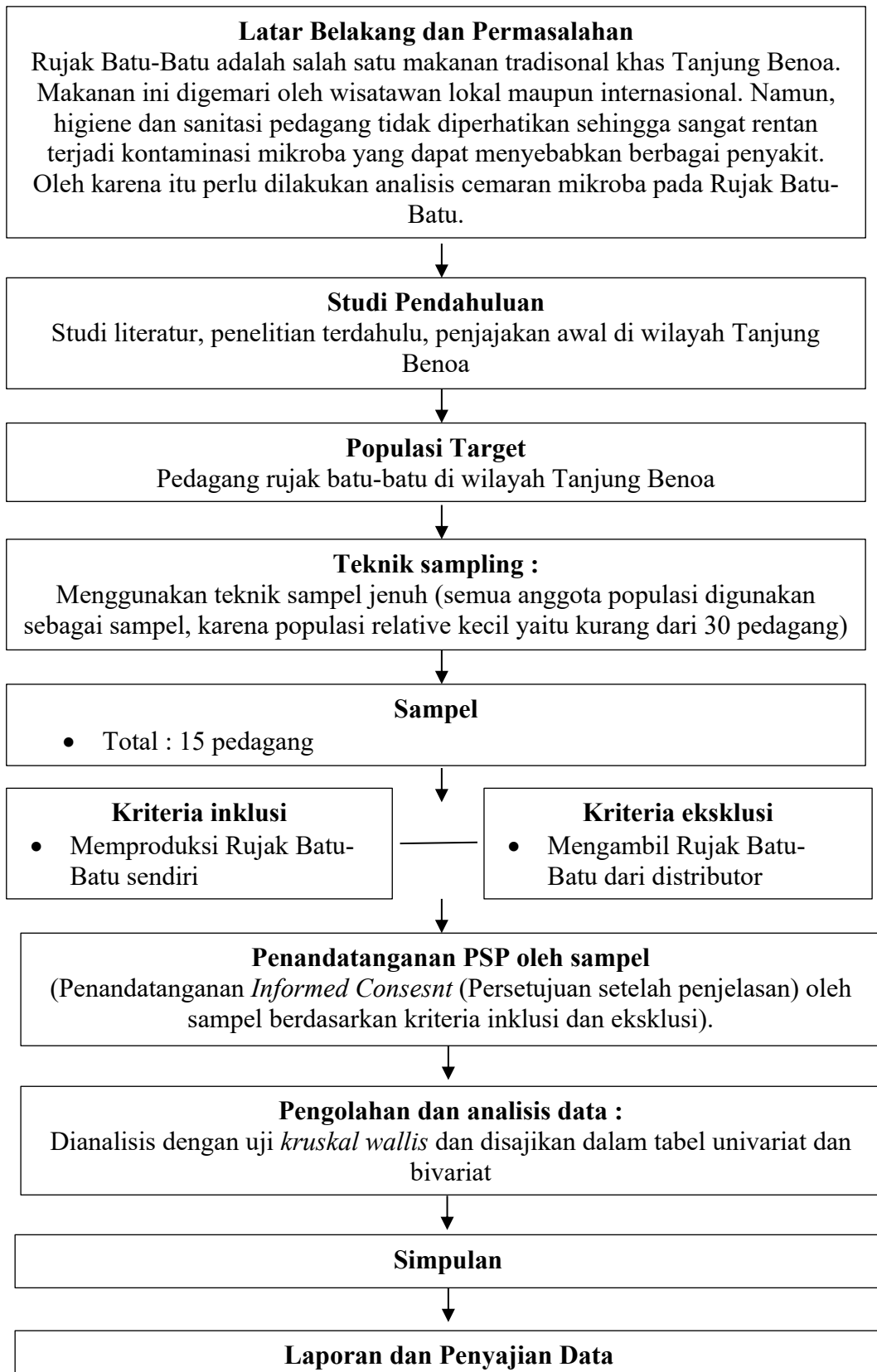
B. Alur Penelitian

Alur penelitian merupakan penjelasan dari tahapan dan proses yang dilakukan saat penelitian. Alur penelitian juga dijadikan sebagai panduan dalam perancangan penelitian. Pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 3.

C. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di wilayah Tanjung Benoa, Kuta Selatan (Pantai Tanjung Benoa dan wilayah sekitaran Tanjung Benoa), Laboratorium Panureksa Utama. Waktu penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan November 2024 – Maret 2025. Adapun pertimbangan lokasi yang dipilih sebagai tempat penelitian yakni :

1. Belum ada penelitian terkait keamanan pangan pada rujak batu-batu di wilayah Tanjung Benoa, Kuta Selatan
2. Tersedianya jumlah sampel yang sesuai dengan kriteria penelitian
3. Lokasi sangat strategis sehingga memudahkan peneliti melakukan penelitian.



Gambar 3. Alur Penelitian

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah pedagang rujak batu-batu yang berjualan di wilayah Tanjung Benoa, yang meliputi wilayah Tanjung Benoa terdapat 12 pedagang, dan Pesisir Pantai Tanjung Benoa terdapat 3 pedagang. Total populasi dari penelitian ini adalah 15 pedagang.

2. Sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rujak batu-batu yang dijual di wilayah Tanjung Benoa. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan teknik Sampel Jenuh. Menurut (Susilowati, 2021), Sampel jenuh adalah teknik penentuan sampel dimana semua anggota populasi digunakan sebagai sampel, karena populasi relative kecil yaitu kurang dari 30 pedagang.

Berdasarkan teknik sampling yang dilakukan terhadap populasi penelitian, didapat jumlah sampel penelitian yang digunakan yaitu 15 sampel pedagang rujak batu-batu yang diambil dari wilayah Tanjung Benoa, yang telah sesuai dengan kriteria sampel. Adapun kriteria inklusi dan eksklusi dalam penelitian ini yaitu:

a. Kriteria inklusi

1. Pedagang rujak batu-batu berjualan di wilayah Tanjung Benoa.
2. Pedagang rujak batu-batu bersedia dijadikan responden dalam penelitian.
3. Pedagang rujak batu-batu yang berjualan setiap hari.
4. Pedagang rujak batu-batu melakukan pemilihan bahan, pengolahan serta pendistribusian rujak batu-batu secara mandiri.
5. Minimal telah berjualan rujak batu-batu selama 2 bulan.
6. Berusia minimal 25 tahun – 60 tahun.

7. Pedagang rujak batu-batu kooperatif pada saat wawancara.
- b. Kriteria eksklusi
 1. Pedagang rujak batu-batu berjualan selain di wilayah Tanjung Benoa.
 2. Pedagang rujak batu-batu tidak memproduksi rujak batu-batu sendiri.
 3. Pedagang rujak batu-batu tidak kooperatif pada saat wawancara.

E. Jenis dan Teknik Pengambilan Data

1. Jenis data

Dalam penelitian ini terdapat dua data yang diambil yaitu data primer dan data sekunder.

a. Data primer

Data primer adalah data atau informasi yang diambil langsung oleh peneliti. Pada penelitian ini meliputi, analisis mikroba, data karakteristik identitas pedagang rujak batu-batu, karakteristik produksi rujak batu-batu, data skor keamanan pangan, data keamanan pangan rujak batu-batu dengan mengambil sampel rujak batu-batu dan dilakukan pengujian mikrobiologi yang meliputi Uji Angka Lempeng Total (ALT) dan Uji *Most Probable Number* (MPN). Angka Lempeng Total (ALT) adalah metode kuantitatif untuk menentukan jumlah mikroba dalam suatu sampel, sedangkan metode pengujiannya adalah menyiapkan sampel dalam pengenceran bertingkat dengan PDF, kemudian memasukkan 1 ml sampel tersebut ke dalam cawan Petri steril untuk setiap pengenceran, kemudian ditambahkan PCA secukupnya dan diaduk hingga rata, kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 -48 jam, setelah itu dilanjutkan dengan penghitungan angka cemaran total mikroba pada cawan petri.

Selanjutnya Uji *Most Probable Number* (MPN), Metode ini terdiri dari 3 tahap yaitu : Uji penduga (*Presumptive test*) menggunakan media media *Lactosa Broth* (LB)

untuk mengetahui kandungan bakteri coliform dalam sampel. Uji penguat (*Confirmed test*) menggunakan media *Briliant Green Lactosa Bile Broth* (BGLB) untuk membedakan bakteri *coliform* dengan *fecal coli* yang ditandai dengan adanya gas pada tabung durham. Sedangkan Uji Pelengkap (*Completed test*) menggunakan media agar (EMBA) bertujuan untuk memastikan keberadaan bakteri *Escherichia coli*.

b. Data sekunder

Data sekunder adalah data yang dikumpulkan peneliti berupa gambaran umum lokasi penelitian yang diperoleh dari profil Desa Tanjung Benoa.

2. Teknik pengumpulan data

a. Data primer

Adapun beberapa teknik pengumpulan data primer pada penelitian ini yaitu :

- 1) Data identitas pedagang, diambil dengan metode wawancara langsung dengan bantuan kuesioner. Data yang dikumpulkan berupa nama lengkap responden, umur, jenis kelamin, alamat, pekerjaan terakhir dan nomer handphone.
- 2) Data gambaran umum rujak batu-batu dilakukan dengan pengamatan langsung dan wawancara. Data yang dikumpulkan berupa bahan dasar pembuatan rujak batu-batu, cara pengolahan, jumlah produksi, jarak waktu produksi dan distribusi serta cara penyimpanan rujak batu-batu setelah distribusi.
- 3) Data skor keamanan pangan diperoleh dengan cara observasi dan penilaian langsung menggunakan form skor keamanan pangan.
- 4) Data keamanan pangan aspek mikrobiologi dikumpulkan dengan melihat hasil pemeriksaan laboratorium sampel yang diuji dengan melakukan analisis uji *Total Plate Count* (TPC), *Most Probable Number* (MPN), dan *Eosin Methylene*

Blue Agar (EMBA) di laboratorium Panureksa Utama.

Adapun prosedur pengambilan sampel rujak batu-batu yaitu :

- a) Pengambilan sampel rujak batu-batu dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seluruh gambaran dan kualitas rujak batu-batu melalui pengujian mikrobiologi.
- b) Memindahkan sebagian rujak batu-batu yang telah disajikan dari alat saji yang berupa plastik ke dalam kotak plastik bersih, kemudian tutup hingga tidak ada celah udara yang masuk. Lengkapi identitas sampel meliputi nama pedagang, kode sampel, suhu dan waktu pembelian.
- c) Sebagian sampel rujak batu-batu yang masih berada didalam plastik dilakukan pengukuran suhu menggunakan termometer tusuk/termometer khusus makanan lalu mencatatnya.
- d) Meletakkan sampel steril di dalam *cooler box* dan dikirim ke laboratorium Panureksa Utama.
- e) Waktu pengiriman sampel tidak lebih dari 3 jam dengan jarak tempuh lokasi penelitian ke laboratorium Panureksa Utama yaitu 29 km dengan waktu $\pm$ 51 menit.

b. Data sekunder

Data sekunder merupakan data yang diperoleh dengan mencatat data yang terdapat di lokasi penelitian dan mencari dokumen Desa Tanjung Benoa.

F. Instrumen Pengumpulan Data

1. Alat dan bahan uji total mikroba

- a. **Alat :** Pulpen, buku catatan, Tabung reaksi, *Erlenmeyer*, *Petri dish*, Pipet ukur, Tabung durham, Lampu bunsen, Kawat ose, Timbangan analitik ketelitian 0.0001 g, Pipet volumetri 1 ml, 5 ml, 10 ml, 20 ml, 50 ml, Mikropipet, Pipet

tetes, Wadah *polystyrene*, Botol *polypropylene*, Sendok plastik, Cawan petri ukuran 15 mm x 100 mm, Pisau, *Aluminium foil*, Gelas piala 25 ml, 100 ml, 250 ml, Corong gelas, Penyangga dan statip, Desikator, Pemanas listrik, Blender / *homogenizer*, *Oven*, *Refrigerator*.

- b. Bahan :** *Pepton Dilution Fluid* (PDF), *Plate Count Agar* (PCA), *Lactose Broth* (LB), *Mac Conkey Broth* (MCB), *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB), *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA), Sampel makanan (rujak batu-batu)

2. Instrumen penilaian skor keamanan pangan

- 1) Formulir Identitas Pedagang, Formulir Skor Keamanan Pangan

3. Prosedur kerja uji total mikroba

a. Cara kerja

- 1) Langkah pertama melakukan pengenceran sampel menggunakan PDF dengan tiga tingkat pengenceran yaitu 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} .
- 2) Siapkan *petri dish* steril dan masukkan 1 ml sampel pada masing-masing pengenceran.
- 3) Tambahkan PCA secukupnya kemudian aduk hingga merata.
- 4) Lakukan inkubasi dengan suhu 37°C selama 24 – 48 jam dengan posisi cawan petri dibalik.
- 5) Menghitung angka total mikroba pada setiap cawan petri.
- 6) Jumlah total bakteri = jumlah koloni per cawan x 1/faktor pengenceran

4. Prosedur kerja uji cemaran *Escherichia coli*

a. Prosedur Kerja Uji Penduga

- 1) Lakukan pengenceran bertingkat pada sampel mulai dari 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , setiap pengenceran mendapatkan 3 buah tabung reaksi yang telah berisi 10 ml *Lactose*

Broth (LB).

- 2) Ambil sampel sebanyak 1 ml kemudian masukkan pada setiap tabung pengenceran.
- 3) Beri label untuk setiap sampel dan pengenceran agar tabung tidak tertukar dan mempermudah pengamatan.
- 4) Inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.
- 5) Lakukan pengamatan pada setiap tabung untuk melihat adanya gas yang terbentuk, untuk memperjelas tabung dapat dikocok secara perlahan. Jika terbentuk gas pada tabung reaksi pengujian dilanjutkan dengan Uji penguat.

b. Prosedur Kerja Uji Penguat

- 1) Sampel dengan hasil positif kemudian melanjutkan pengujian dengan media BGLB sebanyak 2 seri.
- 2) Siapkan tabung reaksi yang masing-masing telah berisi media BGLB, ambil sampel dari media LB sebanyak 1-2 ose.
- 3) Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam incubator. Inkubasi seri pertama dilakukan pada suhu 37°C selama 18-24 jam untuk menentukan adanya *coliform*, sedangkan seri kedua diinkubasi pada suhu 44,5°C selama 18-24 jam untuk memastikan adanya *Escherichia coli*.
- 4) Melihat hasil inkubasi, adanya bakteri *Escherichia coli* ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung Durham, untuk memastikan keberadaan bakteri *E.coli* sampel yang positif harus melanjutkan pengujian yaitu Uji Pelengkap.

c. Prosedur Kerja Uji Pelengkap

- 1) Siapkan petri dish steril, kemudian ambil 1 ose sampel di dalam media Brilliant *Green Bile Lactose Broth* (BGLB) dengan hasil positif.

- 2) Goreskan ke permukaan media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA) secara zig-zag
- 3) Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- 4) Kemudian amati pertumbuhan koloni pada media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA).
- 5) Koloni yang menampakkan adanya warna merah dengan hijau metalik merupakan koloni bakteri *Escherichia coli*.

Jumlah total bakteri = jumlah koloni per cawan x 1/faktor pengenceran

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

a. Data karakteristik pedagang

Data karakteristik pedagang akan dikategorikan serta disajikan dalam bentuk tabel distribusi yang dianalisis secara deskriptif.

b. Data skor keamanan pangan

Hasil penilaian skor keamanan pangan akan diakumulasikan lalu dikategorikan dengan kategori baik, sedang, rawan tetapi aman dikonsumsi, serta rawan tidak aman dikonsumsi.

c. Data cemaran total mikroba

Data cemaran total mikroba berupa hasil pengujian laboratorium akan ditampilkan dalam bentuk tabel yang dikategorikan berdasarkan standar cemaran total mikroba dan akan dibandingkan berdasarkan skor keamanan pangan.

d. Data cemaran bakteri *coliform*

Data cemaran bakteri *coliform* berupa hasil pengujian laboratorium akan ditampilkan dalam bentuk tabel yang dikategorikan berdasarkan standar cemaran

bakteri *coliform* dan akan dibandingkan berdasarkan skor keamanan pangan.

e. Data *Escherichia coli*

Data cemaran bakteri E.coli berupa hasil pengujian laboratorium akan ditampilkan dalam bentuk tabel yang dikategorikan berdasarkan standar cemaran bakteri E.coli dan akan dibandingkan berdasarkan skor keamanan pangan.

2. Teknik analisis data

a. Analisis univariat

Analisis univariat digunakan untuk memperoleh gambaran berdasarkan data karakteristik pedagang dan skor keamanan pangan yang akan ditampilkan dengan tabel frekuensi yang akan dianalisis secara deskriptif.

b. Analisis bivariat

Analisis bivariat dilakukan pada 2 variabel untuk mengetahui hubungan antara cemaran total mikroba, cemaran bakteri *coliform*, cemaran bakteri E.coli terhadap skor keamanan pangan. Uji hipotesa dalam penelitian ini menggunakan uji *kruskal wallis*.

1) Hipotesa Uji Statistik :

- a) H_0 = tidak ada hubungan cemaran total mikroba, cemaran bakteri *coliform*, cemaran bakteri E.coli terhadap skor keamanan pangan.
- b) H_a = ada hubungan cemaran total mikroba, cemaran bakteri *coliform*, cemaran bakteri E.coli terhadap skor keamanan pangan.

2) Pengambilan Keputusan :

- a) Jika nilai *Asymp.Sig* > 0,05 maka tidak ada hubungan atau H_0 diterima dan H_a ditolak.
- b) Jika nilai *Asymp.Sig* < 0,05 maka tidak ada hubungan atau H_0 ditolak dan H_a

diterima.

H. Etika Penelitian

Penelitian yang melibatkan manusia sebagai subjek atau kajian harus mendapatkan persetujuan etik sebelum melakukan penelitian. Penelitian ini diawali dengan melakukan berbagai prosedur etik penelitian, antara lain :

1. Lembar persetujuan (*Informed Consent*)

Lembar persetujuan adalah formulir yang berisi permintaan persetujuan dari calon responden yang ingin berpartisipasi dalam penelitian ini dengan menandatangani formulir persetujuan. Pada saat penelitian dilakukan informed consent diperoleh sebelum responden melengkapi formulir identifikasi dan formulir kepatuhan agar responden memahami maksud dan tujuan penelitian serta mengetahui dampak penelitian.

2. Kerahasiaan (*Confidentiality*)

Kerahasiaan merupakan masalah etika karena menjamin kerahasiaan hasil penelitian, informasi dan lain-lain. Semua informasi yang dikumpulkan dirahasiakan oleh peneliti. Dalam penelitian ini, peneliti menjelaskan kepada responden bahwa peneliti akan merahasiakan jawaban responden atas survey tersebut. Peneliti mencatat tanggapan responden dan tidak membagi informasi yang diperoleh dari responden. Semua data yang dikumpulkan tunduk pada jaminan kerahasiaan para peneliti, yang akan diungkapkan dalam hasil penelitian.

3. Perlindungan dari ketidaknyamanan (*Protection From Discomfort*)

Melindungi responden dari penyakit fisik dan psikologis. Jika kondisi terganggu tidak benar-benar mengizinkan pengukuran, terganggu tidak boleh memaksakan kondisi tersebut.

4. Keuntungan (*Beneficence*)

Merupakan sebuah prinsip untuk memberi manfaat kepada orang lain agar responden tertarik dengan hasil penelitian yang dilakukan. Dalam proses penelitian, sebelum mengisi kuesioner, peneliti menjelaskan manfaat penelitian, serta manfaat bagi responden dan penelitian.