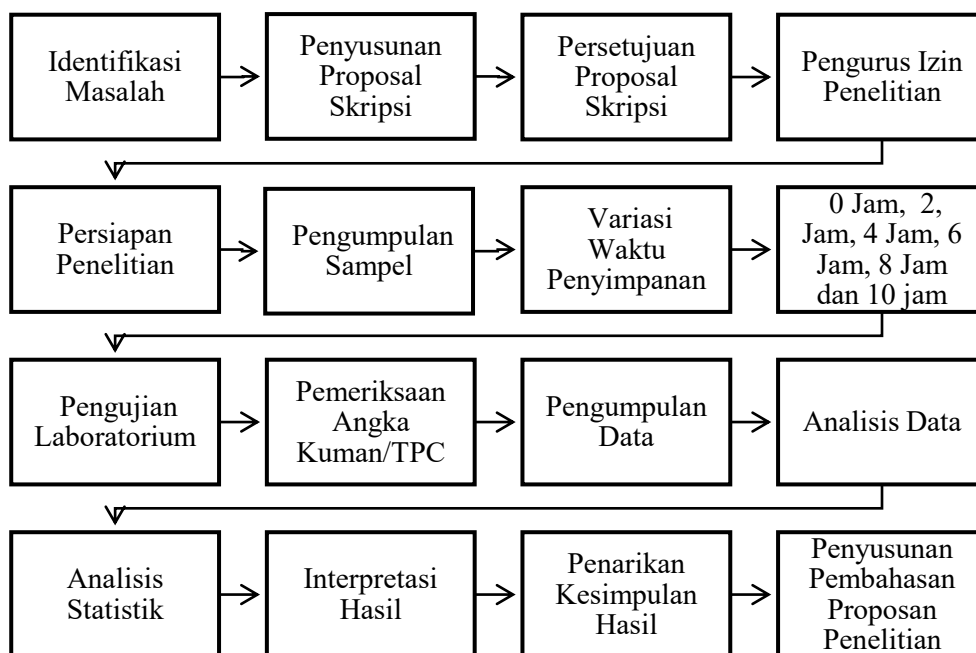


BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah kuantitatif dengan desain penelitian adalah eksperimen (*True Experiment*) dengan bentuk *Posttest Control Group Design*. Penelitian ini dilakukan dengan menghitung jumlah angka kuman pada lawar yang kemudian akan dianalisis untuk melihat pengaruh suhu dan waktu penyimpanan pada angka kuman di makanan lawar plek.

B. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian Tempat dan Waktu Penelitian

Gambar 4 Alur Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat penelitian untuk pemeriksaan angka kuman pada makanan lawar plek dilaksanakan pada UPTD. Balai Laboratorium Kesehatan Kerthi Bali Sadhajiwa Provinsi Bali.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September 2024 - Mei 2025.

C. Sampel Penelitian

1. Sampel penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah lawar plek.

2. Unit analisis

Pada unit analisis penelitian dari objek sampel yang digunakan adalah makanan tradisional lawar plek yang nantinya akan dilakukan pemeriksaan jumlah angka kuman dengan menggunakan metode hitung cawan (*Plate Count Method*) pada suhu kulkas 4⁰C dan suhu kamar 25⁰C dengan memberikan perlakuan durasi waktu penyimpanan makanan yaitu : 0, 2, 4, 6 dan 8 jam.

3. Besar sampel

a. Besar sampel

Pada penelitian ini menggunakan sebanyak 250 gram/sampel lawar plek.

Jumlah sampel (n) pada penelitian ini menggunakan rumus Federer untuk memverifikasi kecukupan sampel: $(t-1)(n-1) \geq 15$ (Sopiyudin, A. 2018)

Keterangan:

Suhu : 2 level (Suhu Ruang & Suhu Kulkas) $\rightarrow t_1 = 2$ perlakuan

Waktu (jam) : 5 level (0, 2, 4, 6, 8 jam) $\rightarrow t_2 = 5$ perlakuan

Total perlakuan kombinasi (faktor)

$$= t = t_1 \times t_2$$

$$= t = 2 \times 5$$

$$t = 10$$

t = jumlah kelompok perlakuan 10

n = jumlah pengulangan yang ditentukan

Perhitungan:

$$(10-1)(n-1) \geq 15$$

$$9 \times 1n \geq 15$$

$$1n \geq \frac{15}{9}$$

$$1n \geq 1,7$$

$$N \geq 2,7 \text{ dibulatkan menjadi } 3$$

Hasil perhitungan menunjukkan bahwa nilai n yang diperoleh 3 dengan total perlakuan yang digunakan adalah 10 perlakuan dimana pada masing-masing suhu kulkas dan suhu ruang penyimpanan diberikan durasi waktu penyimpanan (0,2,4,6,8 jam) dengan masing-masing 3 kali pengulangan sehingga total sampel yang diperoleh keseluruhan ada 30 sampel yang dilakukan.

Rincian pembagian sampel :

Suhu kulkas 4°C

1. Penyimpanan 0 jam: 3 Pengulangan.

2. Penyimpanan 2 jam: 3 Pengulangan.
3. Penyimpanan 4 jam: 3 Pengulangan.
4. Penyimpanan 6 jam: 3 Pengulangan.
5. Penyimpanan 8 jam: 3 Pengulangan.

Suhu kamar 25⁰C

1. Penyimpanan 0 jam: 3 Pengulangan.
2. Penyimpanan 2 jam: 3 Pengulangan.
3. Penyimpanan 4 jam: 3 Pengulangan.
4. Penyimpanan 6 jam: 3 Pengulangan.
5. Penyimpanan 8 jam: 3 Pengulangan.

4. Teknik pengambilan sampel

Untuk memastikan representativitas sampel, teknik pengambilan sampel yang dapat digunakan adalah Simple Random Sampling. Teknik ini memberikan setiap anggota populasi peluang yang sama untuk dipilih sebagai sampel, sehingga menghindari bias dalam pemilihan sampel. Metode ini telah digunakan dalam penelitian serupa, seperti yang dilakukan oleh Agustini dkk. (2020), di mana mereka menerapkan simple random sampling untuk meneliti cemaran mikroba pada lawar plek.

a. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi dalam penelitian ini mencakup lawar plek yang dibuat dari campuran darah serta daging sapi, babi, dan ikan laut mentah yang berasal dari wilayah Desa Ketewel.

b. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi dalam penelitian ini mencakup olahan lawar yang tidak menggunakan bahan utama berupa daging dan darah babi, sapi, atau ikan laut mentah sebagai campurannya.

5. Alat, bahan dan prosedur kerja

a. Alat

Tabung reaksi, pipet volumetrik, botol media, penghitung koloni (colony counter), gunting, pinset, jarum inokulasi (ose), stomacher, pembakar bunsen, pH meter, timbangan, magnetic stirer, pengocok tabung (vortex), inkubator, pemanas air, autoklaf; lemari steril (*clean bench*), lemari pendingin (*refrigerator*), kertas label.

b. Bahan

Sampel Lawar Plek, Media Plate Count Agar (PCA), Larutan NaCl fisiologis (0,85%), Aquadest steril, Alkohol 70% (untuk sterilisasi), Kapas alkohol, Sarung tangan steril, Masker medis.

c. Prosedur kerja

1) Pra-Analitik

a) Pengambilan sampel

- (1) Siapkan alat dan bahan yang diperlukan, lalu sterilkan seluruh peralatan sebelum digunakan dengan autoklaf listrik pada suhu 121°C selama 15 menit.
- (2) Kemudian ambil sampel makanan dan simpan dalam cool box untuk menjaga kualitasnya.
- (3) Lakukan pengukuran terhadap suhu, berat, dan pH dari sampel makanan yang telah diambil.

(4) Gunakan sendok steril untuk mengambil 25 gram dari masing-masing jenis makanan yang tersedia, kemudian tempatkan pada wadah steril yang sudah diberikan label suhu kulkas 4°C dan suhu kamar 25°C serta durasi waktu penyimpanan (0 jam, 2 jam, 4 jam, 6 jam, dan 8 jam)

b) Pembuatan larutan pengencer

(1) Sebanyak 25 gram sampel lawar plek dilarutkan dalam 225 mL larutan NaCl 0,85%.

(2) Kemudian lakukan homogenisasi dilakukan dengan menggunakan vortex selama 1-2 menit.

(3) Bagikan sampel homogen ke dalam beberapa wadah steril.

(4) Simpan sampel pada kondisi dua suhu yang berbeda dan terkontrol pada suhu kulkas 4°C dan suhu kamar 25°C dengan waktu penyimpanan yang ditentukan (misalnya 0 jam, 2 jam, 4 jam, 6 jam, dan 8 jam)

2) Analitik

a) Cara Uji

(1) Pindahkan 1 ml suspensi pengenceran 10^{-1} tersebut dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml BPW untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} .

(2) Kemudian buat pengenceran dan seterusnya sampai 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dengan cara yang sama seperti pada cara pertama.

(3) Selanjutnya masukkan sebanyak 1 ml suspensi dari setiap pengenceran ke dalam cawan petri secara duplo.

(4) Tambahkan 15 ml sampai dengan 20 ml PCA yang sudah didinginkan hingga temperatur $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pada masing-masing cawan yang sudah berisi suspensi. Supaya larutan contoh dan media PCA tercampur seluruhnya, lakukan

pemutaran cawan ke depan dan ke belakang atau membentuk angka delapan dan diamkan sampai menjadi padat.

(5) Inkubasikan pada temperatur 34 °C sampai dengan 36 °C selama 24 jam sampai dengan 48 jam dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik.

(6) 48 jam dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik.

(7) Amati hasil pertumbuhan koloni pada media agar.

(8) Kemudian hitung jumlah Total Plate Count (TPC) dengan menggunakan alat Colony Counter.

(9) Hasil TPC akan diperoleh setelah perhitungan.

3) Pasca analitik

a) Interpretasi Hasil

Data jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan dibandingkan berdasarkan waktu penyimpanan, hasil dinyatakan dalam CFU/g (Colony Forming Units per gram). Menurut (Ratu, 2024) perhitungan jumlah koloni bakteri dalam suatu sampel dapat dilakukan berdasarkan kriteria berikut:

(1) Cawan dengan jumlah koloni

Jika dua cawan dari pengenceran terendah menghasilkan kurang dari 25 koloni, maka semua koloni dari tiap pengenceran dihitung. Rata-rata jumlah koloni per cawan kemudian dikalikan dengan faktor pengenceran untuk memperoleh nilai TPC.

(2) Cawan dengan jumlah koloni lebih dari 250

Jika koloni yang tumbuh melebihi 250 per cawan, tetap dilakukan penghitungan untuk menggambarkan distribusi koloni secara representatif walaupun jumlah koloni melebihi batas atas yang direkomendasikan.

(3) Koloni menyebar (spreader)

Koloni yang menyebar (spreader) diklasifikasikan menjadi tiga tipe:

(a) Koloni berbentuk rantai yang tidak terpisah dengan jelas akibat terurainya rumpun bakteri.

(b) Terjadinya lapisan air antara permukaan agar dan dasar cawan petri.

(c) Munculnya lapisan air di sisi atau di atas permukaan agar.

Jika cawan yang digunakan untuk menumbuhkan sampel didominasi oleh koloni penyebar seperti tipe a dan luas pertumbuhannya melebihi 25% hingga 50% dari seluruh permukaan cawan, maka cawan tersebut dikategorikan sebagai cawan spreader. Jumlah rata-rata koloni dari tiap tingkat pengenceran dihitung dan hasilnya dilaporkan sebagai TPC. Selain ketiga tipe spreader tersebut, semua bentuk lainnya tetap dihitung sebagai satu koloni. Untuk tipe a jika hanya ada satu rantai koloni, maka dihitung sebagai satu koloni tunggal. Namun, bila terdapat satu atau lebih rantai koloni yang berasal dari sumber yang berbeda, maka setiap sumber dihitung sebagai satu koloni. Hal yang sama juga berlaku untuk tipe b dan c di mana masing-masing dihitung sebagai satu koloni.

(4) Cawan tanpa pertumbuhan koloni

Jika tidak ditemukan koloni pada semua tingkat pengenceran, maka hasil TPC dinyatakan kurang dari 1 dikalikan dengan pengenceran terendah. Hasil ini juga diberi tanda bintang (*), menandakan bahwa jumlah koloni di bawah ambang batas kuantifikasi.

(5) Duplo cawan: satu dalam kisaran 25–250 koloni

Jika satu cawan menunjukkan 25–250 koloni dan cawan duplonya menunjukkan lebih dari 250 koloni, maka kedua cawan tetap dihitung dalam perhitungan TPC.

b) Pelaporan Hasil

- (1) Pembulatan ke dua angka signifikan dilakukan sebagai berikut: jika angka ketiga adalah 6 atau lebih besar, maka angka ketiga diubah menjadi 0 dan angka kedua dinaikkan satu digit. Contohnya, angka 456 dibulatkan menjadi 460 ($4,6 \times 10^2$).
- (2) Jika angka ketiga adalah 4 atau kurang, maka angka ketiga dijadikan 0 dan angka kedua tetap. Misalnya, angka 454 menjadi 450 ($4,5 \times 10^2$).
- (3) Jika angka ketiga adalah 5 dan angka kedua adalah bilangan genap, maka angka ketiga dibulatkan menjadi 0 tanpa mengubah angka kedua. Contohnya, 445 dibulatkan menjadi 440 ($4,4 \times 10^2$).
- (4) Jika angka ketiga adalah 5 dan angka kedua adalah bilangan ganjil, maka angka ketiga diubah menjadi 0 dan angka kedua dinaikkan satu digit. Misalnya, angka 455 dibulatkan menjadi 460 ($4,6 \times 10^2$).

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Penelitian ini menggunakan data primer, yang diperoleh dari hasil pemeriksaan jumlah angka kuman pada sampel lawar plek berdasarkan suhu dan waktu penyimpanan di Desa Ketewel.

b. Data Sekunder

Data sekunder dalam penelitian ini terdiri dari berbagai jenis informasi yang diperoleh melalui studi literatur yang telah terdokumentasi dan dipublikasikan. Sumber data tersebut mencakup artikel ilmiah, buku, serta referensi lain yang relevan dengan topik penelitian.

2. Teknik pengumpulan data

Data penelitian ini diperoleh dari survey pedagang lawar plek dengan cara pengambilan sampel lawar plek. Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan dengan cara TPC/ALT di UPTD. Balai Laboratorium Kesehatan Kerthi Bali Sadhajiwa Provinsi Bali yang berlokasi di Jl. Angsoka, No. 12, Dangin Puri Kangin, Kecamatan Denpasar Utara, Kota Denpasar.

3. Instrumen pengumpulan data

Pengumpulan data dilakukan menggunakan instrument sebagai berikut :

- a. Media transport (wadah kotak makanan steril), sebagai alat untuk membawa sampel makanan dan Coolbox, sebagai tempat penyimpanan sampel pada saat penelitian.
- b. Alat tulis, untuk memberi kode pada sampel, mencatat data observasi dan hasil penelitian.
- c. Lembar skala penilaian (Rating scale), sebagai salah satu alat untuk melakukan observasi dan mencatat hasil penelitian.
- d. Smartphone, yang digunakan untuk dokumentasi kegiatan penelitian.

E. Pengolahan Dan Analisa Data

1. Teknik pengolahan data

Data yang diperoleh dari pemeriksaan jumlah angka kuman pada tiap sampel yang diberikan perlakuan akan diorganisir, disusun, serta disederhanakan menggunakan perangkat lunak komputer. Selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel dan grafik serta dijelaskan secara naratif untuk mempermudah interpretasi.

- a. *Editting* (pengolahan data): Memeriksa kelengkapan dan kesesuaian data hasil laboratorium agar tidak terjadi kesalahan dalam proses analisis.
- b. *Coding* (pemberian kode data): Memberikan kode pada setiap variabel seperti pada suhu penyimpanan kulkas 4°C dengan kode A sedangkan suhu kamar 25°C dengan waktu penyimpanan (0 jam, 2 jam, 4 jam, 6 jam dan 8 jam) serta hasil angka kuman yang diperoleh dari uji TPC.
- c. Entry (pemasukan data): memasukan data hasil yang diperoleh dari hasil pemeriksaan jumlah angka kuman di sampel lawar plek.
- d. Tabulasi Data: Data yang telah dikodekan kemudian disusun dalam tabel untuk mempermudah analisis statistik.

2. Analisa data

Data yang diperoleh dari hasil perhitungan angka kuman total (*Total Plate Count* - TPC) pada sampel lawar plek dikumpulkan dan dicatat secara sistematis. Data hasil uji TPC disajikan dalam bentuk tabel untuk setiap interval suhu dan waktu penyimpanan yang telah ditentukan. Data yang diperoleh diawali dengan uji normalitas untuk mengetahui apakah data yang diperoleh berdistribusi normal atau tidak (Sukmadhani, 2019). Dan uji yang digunakan adalah uji *Kolmogorov-Smirnov*

dan *Shapiro-Wilk* karena distribusi penggunaan sampel < 50 . Data dapat dinyatakan berdistribusi normal, jika nilai probabilitas (*p value*) $> \alpha$ (0,05).

Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Jika hasil menunjukkan varians antar kelompok homogen ($p > 0,05$), maka analisis parametrik dapat digunakan. Kemudian apabila data yang diperoleh berdistribusi normal dan homogen maka bisa menggunakan uji *Two Way ANOVA* untuk melihat apakah terdapat pengaruh pada suhu dan waktu penyimpanan pada angka kuman di makanan lawar plek. Hasil analisis di lihat adalah pada nilai signifikan jika nilai ($p < 0,05$) maka menunjukkan adanya pengaruh yang bermakna antara variabel bebas dan variabel terikat. Sebaliknya, jika *p-value* lebih dari 0,05 maka dinyatakan tidak terdapat pengaruh yang signifikan pada suhu dan waktu penyimpanan terhadap angka kuman di makanan lawar plek khas bali

F. Etika Penelitian

Menurut (Allen 2017) dan (Christensen, Johnson & Turner, 2014) etika penelitian terdiri dari :

1. Menghormati. Penting bagi peneliti untuk mengakui dan menghormati responden. Dengan menghormati hak responden, peneliti memberikan ruang bagi responden untuk mendapatkan informasi lengkap dan akurat sebagai dasar pembuatan keputusan keikutsertaannya dalam penelitian. Persuasi peneliti kepada responden dijaga agar tetap menghormati hak responden.
2. Sikap baik. Dalam konteks ini, peneliti menjaga kesejahteraan responden dengan memaksimalkan manfaat yang diperoleh responden dan meminimalkan kerugian yang mungkin dialami pada partisipasinya dalam penelitian.

3. Keadilan. Prinsip keadilan berlaku pada pemilihan responden penelitian yang dilakukan dengan adil. Seluruh responden secara adil merasakan manfaat dan menerima beban yang sama.
4. Kejujuran. Keputusan etis yang perlu dijaga oleh peneliti adalah kejujuran. Penipuan dan pemalsuan data merupakan bentuk permasalahan pada etika terkait prinsip kejujuran. Pelanggaran etika kejujuran lainnya adalah membiaskan hasil penelitian.
5. Akurasi. Prinsip akurasi berlaku pada informasi yang diberikan kepada responden dalam proses pengumpulan data. Selain itu prinsip akurasi perlu dijaga pada tahap analisis data dan pelaporan hasil