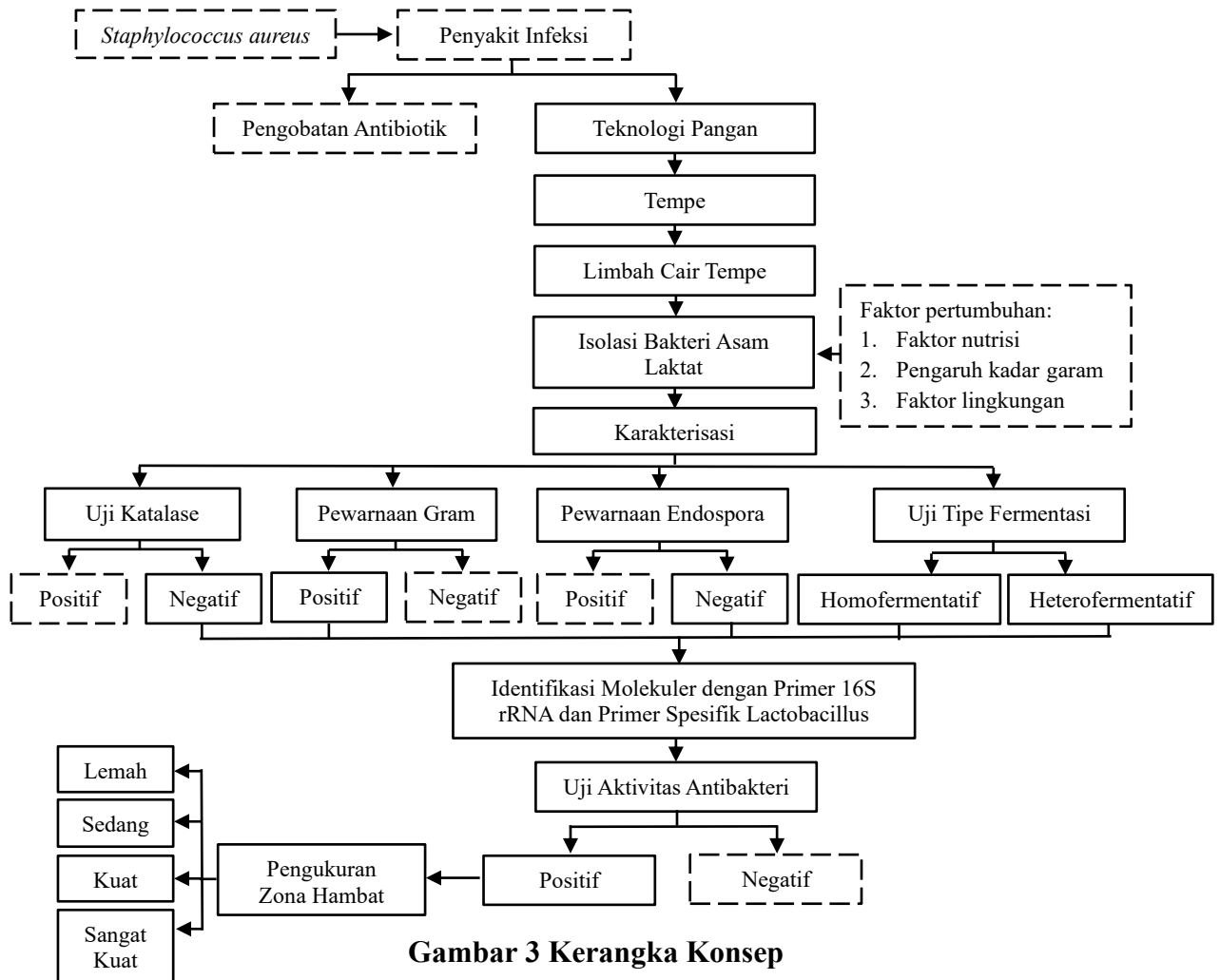


BAB III

KERANGKA KONSEP

A. Kerangka Konsep

Tempe dibuat melalui proses fermentasi biji kedelai, dalam proses fermentasi tersebut BAL berperan sebagai kelompok bakteri heterogen yang berkontribusi penting serta dikenal memiliki potensi sebagai sumber antibakteri alami. Dari uraian tinjauan pustaka tersebut dapat dibuat kerangka konsep sebagai berikut.



Gambar 3 Kerangka Konsep

Keterangan:

————— : Diteliti

- - - - - : Tidak Diteliti

Keterangan:

Berdasarkan kerangka konsep tersebut, penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang semakin mengkhawatirkan seiring dengan meningkatnya fenomena resistensi antibiotik, dengan mengeksplorasi sumber antibiotik baru melalui pendekatan teknologi pangan. Penelitian ini memanfaatkan limbah cair tempe sebagai bahan baku alternatif, dengan harapan menemukan senyawa antimikroba baru yang efektif melawan bakteri resisten.

Proses penelitian diawali dengan isolasi dan karakterisasi awal menggunakan uji katalase, pewarnaan gram, uji pewarnaan endospora, serta uji tipe fermentasi. Uji tipe fermentasi dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam memfermentasi karbohidrat dan menentukan tipe fermentasinya, yaitu homofermentatif atau heterofermentatif. Hanya isolat yang hasil uji katalasenya negatif, uji Gramnya positif, dan pewarnaan endosporanya negatif kemudian akan dilanjutkan dengan identifikasi secara molekuler.

Identifikasi molekuler dilakukan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer universal 16S rRNA dan primer spesifik *Lactobacillus*. Primer 16S rRNA digunakan untuk mendeteksi keberadaan DNA bakteri secara umum, sedangkan primer spesifik *Lactobacillus* digunakan untuk mengonfirmasi bahwa bakteri asam laktat yang diperoleh mengarah pada genus tersebut. Kemudian, isolat tersebut akan dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Isolat yang membentuk zona bening akan diukur zona hambatnya dan dikategorikan sebagai lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat.

B. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2019).

a. Variabel bebas (*independent variable*)

Variabel bebas (*independent variable*) merupakan variabel yang memengaruhi atau menjadi faktor penyebab perubahan atau timbulnya variabel terikat (*dependent variable*). Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebas adalah jenis isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari limbah cair tempe.

b. Variabel terikat (*dependent variable*)

Variabel terikat (*dependent variable*) merupakan variabel yang menerima pengaruh atau menjadi dampak dari keberadaan variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang diukur berdasarkan diameter zona hambat (mm).

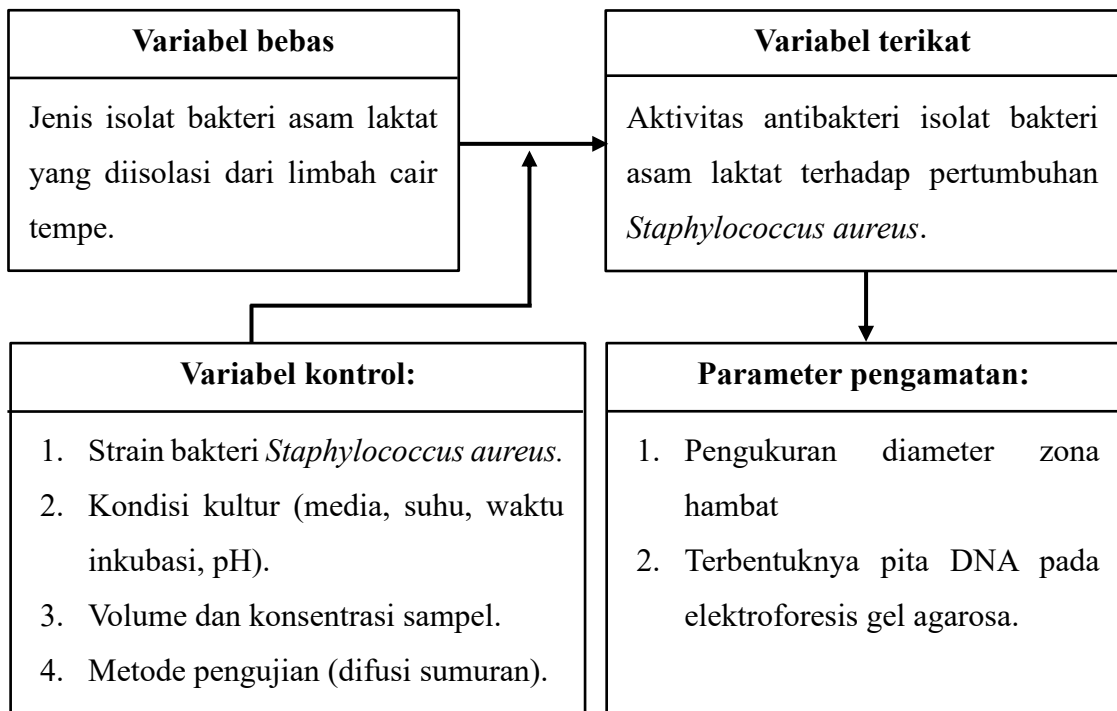
c. Variabel kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan untuk memastikan bahwa pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat tidak dipengaruhi oleh faktor eksternal yang tidak termasuk dalam lingkup penelitian. Dalam penelitian ini yang menjadi variabel kontrol adalah strain bakteri uji (*Staphylococcus aureus*) yang digunakan, seluruh kondisi kultur (meliputi media, suhu, waktu inkubasi, dan pH), volume dan konsentrasi sampel, serta metode pengujian yang digunakan (metode difusi sumuran).

d. Parameter pengamatan

Parameter pengamatan merupakan indikator yang digunakan untuk memperoleh data penelitian. Parameter dalam penelitian ini meliputi aktivitas antibakteri yang diamati berdasarkan terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran dan diukur dalam satuan milimeter (mm), serta identifikasi molekuler isolat bakteri yang dilakukan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer 16S rRNA dan primer spesifik *Lactobacillus*. Hasil PCR diamati berdasarkan keberadaan pita DNA pada elektroforesis gel agarosa serta ukuran fragmen hasil amplifikasi.

Keterkaitan dan mekanisme hubungan antar variabel yang diteliti yaitu sebagai berikut:



Gambar 4 Hubungan Antar Variabel Penelitian

2. Definisi operasional

Definisi operasional adalah penjelasan tentang bagaimana cara mengukur suatu variabel sehingga variabel tersebut dapat diamati, diukur, dan diuji secara empiris. (Sugiyono, 2019)

Tabel 2
Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Skala Ukur
1	2	3	4
Limbah Cair Tempe (Air Rendaman Kedelai)	Cairan sisa proses perendaman kedelai selama 24 jam pada pembuatan tempe yang dikumpulkan secara langsung dari tempat produksi tempe dan digunakan sebagai sumber isolat bakteri asam laktat.	Observasional	Nominal
Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)	BAL yang diisolasi dari limbah cair tempe air rendaman kedelai pada media MRS Agar yang kemudian diuji katalase, pewarnaan Gram, dan uji pewarnaan endospora dengan ciri-ciri uji katalase negatif (tidak terbentuk gelembung gas), pewarnaan Gram positif (basil atau kokus berwarna ungu), uji pewarnaan endospora negatif (tidak membentuk spora), dan tipe fermentasi (Giyatno & Retnaningrum, 2020).	Isolasi pada MRS Agar, uji katalase, uji pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, dan uji tipe fermentasi.	Nominal

1	2	3	4
Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat	Deteksi DNA bakteri asam laktat dilakukan dengan metode PCR menggunakan primer 16S rRNA sebagai tahap awal, kemudian dikonfirmasi menggunakan primer spesifik <i>Lactobacillus</i> (Putri & Achyar, 2023).	PCR menggunakan primer 16S rRNA dan primer spesifik <i>Lactobacillus</i> . Kemudian divisualisasi dengan elektroforesis gel agarosa. Hasil positif ditandai dengan munculnya pita DNA pada elektroforesis gel agarosa	Nominal
Aktivitas Antibakteri (Zona Hambat)	Kemampuan isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dari limbah cair tempe hasil perendaman kedelai dalam menghambat pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar sumur uji (Christensen <i>et al.</i> , 2021). Besarnya aktivitas antibakteri ditentukan berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk, dinyatakan dalam satuan milimeter (mm), dan selanjutnya diklasifikasikan ke dalam kategori lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat ((Davis & Stout, 1971) dalam (Misriani, Manalu & Nasution, 2023)).	Uji <i>agar well diffusion</i> , mengukur diameter zona bening dengan jangka sorong setelah inkubasi 24 jam. Kategori: Lemah : <5 Sedang : 5-10 Kuat : 10-20 Sangat Kuat : > 20	Ordinal