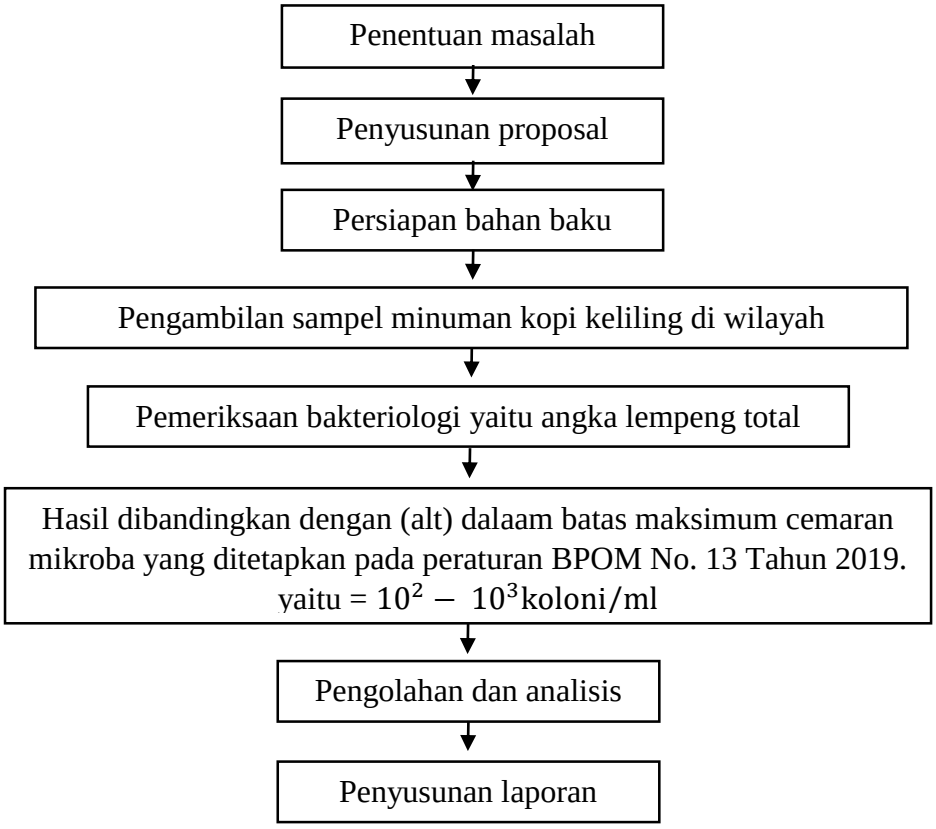
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif yang bertujuan untuk mengetahui tingkat cemaran mikroba melalui pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT) pada minuman kopi yang dijual di Desa Sidakarya, Kecamatan Denpasar Selatan. Penelitian deskriptif kuantitatif digunakan untuk menggambarkan kondisi objek penelitian berdasarkan data numerik hasil perhitungan koloni bakteri tanpa memberikan perlakuan khusus terhadap sampel. Menurut Sugiyono, (2020), penelitian deskriptif kuantitatif digunakan untuk mendeskripsikan dan menganalisis data apa adanya yang diperoleh melalui proses pengukuran secara objektif.

B. Alur Penelitian



Gambar 2 Skema Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tahapan pengambilam sampel dilakukan di Desa Sidakarya, Kecamanatan Denpasar Selatan, sedangkan pemeriksaan sampel dilakukan di UPTD. Balai Laboratorium Kesehatan Kerthi Bali Sadhajiwa Provinsi Bali.

2. Waktu penelitian

Waktu pelaksanaan penelitian dilaksanakan dari bulan Januari hingga April 2026.

D. Populasi Dan Sampel

1. Populasi penelitian

Menurut Sugiyono (2019), populasi penelitian adalah seluruh subjek, objek, atau unit yang memiliki karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari kemudian ditarik kesimpulan. Populasi penelitian ini adalah seluruh pedagang minuman kopi keliling di Desa Sidakarya, Kecamatan Denpasar Selatan yang berjumlah 6 pedagang minuman kopi keliling.

2. Sampel penelitian

Sampel penelitian ini adalah minuman kopi yang dijual oleh pedagang keliling di Desa Sidakarya, Kecamatan Denpasar Selatan. Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah minuman kopi cair.

a. Unit Analaisis

Unit analisis pada penelitian ini adalah kualitas bakteriologis minuman kopi yang diperoleh dari pedagang keliling di Desa Sidakarya, Kecamatan Denpasar Selatan.

b. Besar Sampel

Penentuan jumlah sampel dalam penelitian ini didasarkan pada teknik sampling jenuh, yaitu teknik pengambilan sampel apabila seluruh anggota populasi digunakan sebagai sampel (Sugiyono, 2019). Berdasarkan hasil pendataan lapangan yang dilakukan pada bulan November, jumlah pedagang minuman kopi keliling yang aktif beroperasi di Desa Sidakarya berjumlah 6 pedagang minuman kopi. Oleh karena itu, seluruh pedagang minuman kopi keliling yang teridentifikasi tersebut dijadikan sampel penelitian. Berdasarkan ketentuan dalam Peraturan BPOM Tahun 2019 mengenai Batas Maksimum Cemaran Mikroba pada pangan, pengambilan sampel harus dilakukan secara representatif agar hasil uji mencerminkan kondisi produk yang sebenarnya. Pedoman tersebut sejalan dengan prinsip ISO 4833 tentang metode enumerasi bakteri mesofilik, yang menekankan pentingnya jumlah dan keragaman sampel untuk meminimalkan bias serta meningkatkan validitas data mikrobiologi. Oleh karena itu, penelitian ini menetapkan pengambilan 5 sampel dari setiap pedagang sebagai standar minimal yang memenuhi prinsip representatif menurut regulasi tersebut. Mengacu pada jumlah pedagang minuman kopi keliling yang ada di Wilayah Sidakarya, Kecamatan Denpasar Selatan, yaitu sebanyak 6 pedagang, total sampel yang dikumpulkan berjumlah 30 sampel minuman kopi. Jumlah ini dianggap memadai untuk menggambarkan kondisi cemaran mikroba pada minuman kopi yang dijual di wilayah penelitian serta sesuai dengan persyaratan regulasi dan standar mikrobiologi yang berlaku.

c. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah *non probability sampling* dengan teknik sampling jenuh. Menurut (Sugiyono, 2018) sampling jenuh

yaitu teknik penentuan sampel bila semua anggota populasi digunakan sebagai sampel.

3. Kriteria sampel

Sampel penelitian harus memenuhi kriteria sebagai berikut:

a. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1) Pedagang kopi keliling yang beroperasi di Desa Sidakarya, Kecamatan Denpasar Selatan.
2) Pedagang yang menjual minuman kopi siap konsumsi yang diproduksi secara langsung atau disiapkan di tempat.
3) Pedagang yang bersedia memberikan izin pengambilan sampel minuman kopi.

b. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1) Pedagang yang semula bersedia memberikan produknya untuk keperluan penelitian, pada akhirnya membatalkan kesediaannya dan tidak memberikan izin untuk membeli dagangannya sebagai sampel penelitian
2) Sampel minuman kopi yang telah dibeli mengalami kerusakan selama proses transportasi menuju lokasi penelitian sehingga tidak dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut.
3) Pedagang menyampaikan bahwa seluruh dagangannya telah habis terjual sehingga tidak dapat menyediakan sampel untuk penelitian.

E. Jenis Dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang diperoleh secara langsung dari subjek penelitian meliputi data tingkat kebersihan personal pedagang dan data hasil pemeriksaan laboratorium yaitu menguji sampel minuman kopi yang dijual keliling di Desa Sidakarya, Kecamatan Denpasar Selatan menggunakan Angka Lempeng Total dengan metode tuang.

b. Data sekunder

Data sekunder adalah data yang diperoleh dari sumber tidak langsung dan sudah tersedia sebelumnya. Pada penelitian ini, data sekunder meliputi informasi pendukung yang diperoleh dari instansi terkait, literatur ilmiah, serta dokumen resmi. Data yang dikumpulkan mencakup profil wilayah tempat penelitian, jumlah pedagang atau unit usaha kopi keliling, standar mutu mikrobiologi pangan berdasarkan regulasi Peraturan BPOM No. 13 Tahun 2019., serta referensi ilmiah mengenai metode Angka Lempeng Total. Selain itu, data sekunder juga diperoleh dari laporan laboratorium terdahulu, publikasi penelitian sebelumnya tentang kualitas mikrobiologis kopi siap saji, dan dokumen yang berkaitan dengan higiene sanitasi pengolahan minuman.

F. Pengolahan Dan Analisis Data

1. Pengolahan data

a. Pengolahan data

Data-data yang dikumpulkan dari hasil pengujian, wawancara dan observasi diolah dengan mengunakan teknik pengolahan data secara tabulating data yaitu data yang disajikan dalam tabel dengan diberi narasi.

b. Analisa data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif yaitu membandingkan kenyataan dilapangan atau hasil pemeriksaan dengan teori serta Peraturan BPOM No. 13 Tahun 2019 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan dan dinyatakan memenuhi syarat apabila nilai ALT pada minuman kopi tidak melebihi $10^2/10^3$ koloni/Ml.

2. Teknik pengumpulan data

Cara pengumpulan data melalui wawancara dan observasi yaitu pengamatan secara langsung terhadap pedagang minuman kopi keliling dan melakukan pemeriksaan laboratorium untuk mengetahui angka lempeng total yang bertujuan untuk mengetahui apakah sesuai dengan standar (BPOM) No. 13 Tahun 2019 tentang batas maksimal cemaran mikroba dalam pangan.

a. Observasi

Observasi berfungsi untuk melengkapi dengan cara melihat dan mencatat pada pada lembar sampling atau format observasi minuman kopi yang disusun berisi tentang jam dan tanggal saat sampel kopi diambil dari pedagang kopi keliling, dan juga tingkat kebersihan pedagang kopi keliling.

b. Angka Lempeng Total (ALT)

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan melalui pemeriksaan laboratorium untuk menentukan kualitas bakteriologis minuman kopi menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT). Pemeriksaan ALT digunakan sebagai teknik pengumpulan data kuantitatif untuk mengetahui jumlah total bakteri aerob mesofilik yang terdapat dalam sampel minuman kopi.

Pengumpulan data diawali dengan pengambilan sampel minuman kopi dari pedagang sesuai dengan kriteria inklusi yang telah ditetapkan. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam wadah steril, diberi label, dan segera dibawa ke laboratorium untuk mencegah perubahan jumlah mikroba. Selanjutnya, sampel dilakukan pengenceran bertingkat menggunakan larutan pengencer steril hingga diperoleh tingkat pengenceran yang sesuai. Sebanyak 1 mL dari masing-masing pengenceran diinokulasikan ke dalam cawan petri steril menggunakan media *Plate Count Agar* (PCA) dengan metode tuang (*pour plate*). Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 35–37°C selama 48–72 jam. Setelah masa inkubasi selesai, koloni bakteri yang tumbuh dihitung pada cawan yang memiliki jumlah koloni antara 30–300 koloni.

Hasil perhitungan koloni dinyatakan dalam satuan CFU/mL (*Colony Forming Unit* per mililiter) dan digunakan sebagai data utama penelitian. Data ALT yang diperoleh selanjutnya dibandingkan dengan standar batas maksimum cemaran mikroba berdasarkan Peraturan BPOM Nomor 13 Tahun 2019 untuk menentukan apakah sampel minuman kopi memenuhi atau tidak memenuhi persyaratan keamanan pangan. Dengan demikian, pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT) berfungsi sebagai teknik pengumpulan data objektif dan terukur dalam menilai tingkat cemaran mikroba pada minuman kopi, serta menjadi dasar dalam

mengevaluasi hubungan antara higiene sanitasi dengan kualitas bakteriologis produk yang diteliti.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah alat tulis, alat dokumentasi, dan lembar observasi**.**

4. Alat, bahan,dan prosedur kerja

a. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah api bunsen, batang pengaduk, erlenmeyer, *hot plate, magnetic stirrer*, gelas beaker, cawan petri, gelas ukur, spatula, *auto clave*, neraca analitik, *incubator*, spidol, ose, *aluminium foil*, plastik, tabung reaksi, *cool box*, mikropipet, korek api, tisu, karet, kertas buram, plastik dan gunting.

b. Bahan

Media yang digunakan antara lain: air garam fisiologis, media *Plate Count Agar* (PCA),media *Buffer Peptone Water* (BPW), dan sampel kopi**.**

c. Prosedur kerja

1) Pengambilan sampel

Sampel diambil oleh peneliti dengan persetujuan pedagang kopi keliling, lalu dibawa ke UPTD. Balai Laboratorium Kesehatan Kerthi Bali Sadhajiwa Provinsi Bali menggunakan *coolbox* serta langsung dilakukan pemeriksaan pada hari itu juga.

2) Preparasi sampel

Preparasi sampel mengikuti ketentuan ISO 6887 yang dirujuk dalam ISO 4833. Pada dasarnya, bagian uji yang diambil harus minimal 10 gram, atau 10 mL bila

sampelnya berbentuk cair, kecuali ada aturan khusus lainnya. Untuk membuat pengenceran 10^{-1}, ambil 10 gram sampel lalu tambahkan 90 mL pengencer seperti BPW atau peptone, sehingga terbentuk suspensi dengan tingkat pengenceran 10^{-1}. Penimbangan sampel harus berada dalam batas ketelitian ±5%, sedangkan volume pengencer yang digunakan harus diukur dengan ketepatan ±2%.

Langkah pengerjaan:

a) Timbang sekitar 10 g sampel secara aseptik dengan toleransi ±5%, lalu masukkan ke dalam kantong *stomacher* atau botol yang sudah steril.
b) Tambahkan 90 mL pengencer steril (seperti BPW atau *peptone salt*), kemudian homogenkan menggunakan stomacher selama 60 detik, atau dengan *vortex*/ cara manual sesuai prosedur yang berlaku.
c) Catat waktu saat suspensi awal dibuat karena standar ISO menyarankan jeda waktu antara pembuatan suspensi dan proses tuang agar (*pour plate*) tidak lebih dari 45 menit.

Sampel akan dilakukan pengenceran bertingkat

a) Ambil 1 mL dari sediaan 10^{-1} dan masukkan ke dalam tabung berisi 9 mL pengencer (menjadi 10^{-2}).
b) Lanjutkan cara yang sama hingga diperoleh pengenceran yang dibutuhkan, misalnya 10^{-3} dan 10^{-4}.
c) Gunakan *micropipette* steril pada setiap tahap.

3) Pemeriksaan angka lempeng total

Persiapan media PCA sesuai ISO 11133 (dirujuk dalam ISO 4833):

a) Timbang bubuk PCA sesuai petunjuk pada label produk (misalnya 23,5 g untuk 1 liter). Larutkan bubuk tersebut ke dalam akuades steril.

b) Panaskan campuran hingga benar-benar larut, kemudian lakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada 121 °C selama 15 menit.

c) Setelah sterilisasi, dinginkan media dalam water bath hingga mencapai suhu 44–47 °C. Suhu tidak boleh turun di bawah 44 °C agar media tetap cair untuk metode pour plate. Media yang sudah cair sebaiknya langsung digunakan dan tidak disimpan lebih dari 4 jam.

4) Penanaman Sampel teknik pour plate (sesuai ISO 4833)

a) Siapkan cawan petri steril. Untuk tiap tingkat pengenceran yang digunakan, pipet 1,0 mL suspensi pengenceran ke dalam cawan. ISO 4833 menetapkan bahwa pour plate dapat menggunakan pengenceran tertentu, dan 1 mL umum dipilih karena membantu menurunkan batas deteksi.

b) Segera tuang PCA cair bersuhu 44–47 °C sebanyak ±15–20 mL ke dalam cawan (untuk ukuran 90 mm). Aduk perlahan dengan cara memutar cawan sampai campuran sampel dan agar tercampur rata. Biarkan hingga memadat. Catatan: waktu dari pengambilan aliquot hingga menuang agar sebaiknya tidak lebih dari 45 menit sejak suspensi awal dibuat agar hasil tetap valid.

c) Pada sampel yang berpotensi menghasilkan koloni menyebar, dapat ditambahkan lapisan agar tambahan (overlay) sekitar 4 mL setelah lapisan pertama mengeras, sesuai ketentuan ISO 4833.

d) Setelah agar mengeras, balik cawan dan inkubasi pada suhu 30 ± 1 °C selama 72 ± 3 jam.

Replikasi: Untuk setiap pengenceran, buat dua *plate* (duplikat) agar hasil lebih akurat.

5) Pembacaan hasil angka lempeng total

Hitung koloni pada cawan yang berisi tidak lebih dari 300 koloni (batas umum, dengan rentang ideal 10–300 untuk hasil yang lebih akurat). Jika penanaman dilakukan menggunakan 1 mL dari pengenceran, maka perhitungan CFU/g disesuaikan dengan tingkat pengenceran yang digunakan sesuai rumus perhitungan.

6) Pelaporan hasil

a) Pilih Cawan yang Valid

Menurut ISO 4833-1:2013, cawan yang dapat digunakan untuk perhitungan adalah:

Cawan dengan 30–300 koloni (paling ideal).

Jika tidak ada yang berada pada rentang tersebut, dapat digunakan:

15–300 koloni, tetapi harus dicatat dalam laporan.

Jika suatu cawan lebih dari ¼ permukaannya tertutup penyebaran bakteri (*spreading*), maka cawan harus dibuang.

b) ISO 4833 menggunakan rumus berikut (ISO 7218 + ISO 4833-1:2013):

$$N = \frac{\Sigma C}{(n1+0{,}1n2)\times d}$$

Keterangan:

N = hasil ALT (CFU/mL atau CFU/g)

ΣC = total koloni dari semua cawan yang dipilih

n1 = jumlah cawan dari pengenceran pertama yang digunakan

n2 = jumlah cawan dari pengenceran kedua

d = faktor pengenceran terendah (misal $10^{-2} \rightarrow d = 10^{-2}$)

Contoh Perhitungan:

Misal menanam:

1 mL dari 10^{-2} menghasilkan 120 koloni

1 mL dari 10^{-3} menghasilkan 18 koloni

Maka cawan valid = 10^{-2} (120 koloni) dan 10^{-3} (18 koloni)

Masukkan ke rumus:

ΣC = 120 + 18 = 138

n1 (10^{-2}) = 1 cawan

n2 (10^{-3}) = 1 cawan

d = 10^{-2}

$$N = \frac{138}{(1 + 0{,}1\text{x}1) \times 10^{-2}}$$

$$N = \frac{138}{1{,}1 \times 10^{-2}}$$

N = 138÷0,011

N=12.545 CFU/mL

Hasil dilaporkan sebagai:

1,25×104 CFU/mL

Cara melaporkan hasil menurut pedoman ISO 4833:

a)Pengenceran yang dipilih

b) Jumlah koloni per cawan

c) Nilai akhir (CFU/mL atau CFU/g)

d) Catatan jika data berada di luar rentang ideal 30–300

G. Etika Penelitian

Penelitian angka lempeng total pada kopi keliling di Desa Sidakarya, Kecamatan Denpasar Selatan dilakukan dengan mengikuti aturan etika yang ditetapkan oleh WHO, yaitu memastikan bahwa setiap orang yang terlibat dalam penelitian diperlakukan dengan hormat, diberi penjelasan yang jelas, dan tidak dirugikan (WHO, 2022). Walaupun sampel berasal dari kopi, proses pengambilannya tetap melibatkan pedagang, sehingga peneliti harus meminta persetujuan sukarela setelah memberikan penjelasan tentang tujuan penelitian, cara pengambilan sampel, manfaat, serta jaminan bahwa identitas pedagang akan tetap dirahasiakan. Hal ini sesuai dengan Pedoman Etik Penelitian Kesehatan Nasional Indonesia, yang mewajibkan penelitian memiliki manfaat jelas, menggunakan metode yang benar, menjaga kerahasiaan data, serta memperoleh izin dari Komite Etik sebelum dilaksanakan (KEPK, 2022). Selain itu, prinsip etika yang dianjurkan dalam penelitian di negara berkembang juga diterapkan, seperti memastikan penelitian tidak merugikan pedagang, adil, serta menjaga keamanan informasi yang diberikan (Moodley *et al*., 2020). Dengan menerapkan panduan tersebut, penelitian dapat berjalan dengan aman, etis, dan sesuai aturan yang berlaku.