BAB IV
METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Jenis penelitian deskriptif adalah bentuk penelitian dengan pencarian fakta dengan interpretasi tepat. Penelitian deskriptif mempelajari masalah-masalah dalam masyarakat, serta tata cara yang berlaku dalam masyarakat serta situasi-situasi tertentu termasuk tentang hubungan serta proses yang berlangsung dan pengaruhnya dari suatu fenomena (Nazir,2005).

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan di daerah wisata Sanur yang terdiri dari Kelurahan Sanur, Desa Sanur Kaja dan Desa Sanur Kauh. Tahap analisis dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini mulai dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan bulan Mei 2019.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh kacang tanah goreng yang digunakan oleh pedagang tipat cantok di daerah kawasan wisata Sanur.

2. Sampel penelitian

a. Unit analisis

Unit analisis pada penelitian ini adalah kacang tanah goreng yang digunakan oleh pedagang tipat cantok di kawasan wisata Sanur.

b. Besar sampel

Besar sampel penelitian ini didapat dari 24 pedagang tipat cantok di kawasan wisata Sanur akan diambil sampel sejumlah 12 warung. Masing-masing pedagang tipat cantok akan diambil sampel kacang goreng secara keseluruhan sebanyak 1 gram sehingga diperoleh jumlah seluruh sampel yang akan diambil dari 12 pedagang tipat cantok sebanyak 12 g.

c. Teknik sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik *cluster sampling*, yakni teknik sampling yang didasarkan pada suatu kelompok atau gugusan yang terdiri dari unit geografis (Azwar,2016). Jumlah pedagang tipat cantok yang tersebar di kawasan wisata Sanur memiliki jumlah yang bervariasi, maka penentuan pedagang tipat cantok yang akan diambil sebagai sampel melalui dua tahap *(two stage cluster sampling).* Tahap 1 dilakukan dengan pemilihan psu *(primary sampling unit)* yang akan digunakan sebagai sampel, kemudian tahap 2 dilakukan pemilihan pemilihan unit elementer dari setiap psu yang akan diambil dijadikan sampel dengan cara acak dan berimbang (Nazir, 2005).

Dari data primer yang diperoleh terdapat 3 wilayah di kawasan wisata Sanur. Pemilihan desa dilakukan dengan *fraction* 100% sehingga semua desa bisa dijadikan sampel. Hasil dari tahap satu ditarik kembali ke sampel tahap dua secara

ajak dan berimbang dengan *fraction* 50% dan diperoleh 12 pedagang tipat cantok yang akan diambil sampel kacang tanah gorengnya.

Tabel 2
Jumlah Pedagang Tipat Cantok pada Daerah Wisata Sanur

No.	Desa/Kelurahan	Total Pedagang Tipat Cantok	*Cluster sampling* (Jumlah pedagang x *fraction 50%)*	Total Pengambilan	Besar Sampel (1g)
1.	Kelurahan Sanur	12	12 x 0,5	6	6 x 1g = 6g
2.	Desa Sanur Kaja	4	4 x 0,5	2	2 x 1g = 2g
3.	Desa Sanur Kauh	8	8 x 0,5	4	4 x 1g = 4g
	Total	24		12	12 g

Untuk memilih pedagang di tiap kelurahan/desa yang akan diambil lawar babinya sebagai sampel digunakan teknik random sampling secara undian dengan tujuan untuk menghindari unsur subjektivitas (Azwar,2016).

3. Kriteria sampel

Kriteria sampel pada penelitian ini berupa kacang tanah goreng dengan kriteria inklusi segar, berwarna coklat dan tidak ada kontaminasi jamur secara makroskopis sedangkan kriteria eksklusi yaitu kacang tanah goreng bahan tipat

cantok yang tidak segar, berwarna kehitaman dan ada kontaminasi jamur secara makroskopis.

D. Jenis dan Cara Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer diperoleh dari sumber primer. Sumber primer adalah sumber data yang langsung memberikan data kepada pengumpul data (peneliti) (Sugiyono,2009). Dalam penelitian ini yang merupakan data primer adalah nilai Angka Kapang Khamir, hasil identifikasi *Aspergillus sp.*yang diperoleh dari pengujian di laboratorium, jumlah pedagang tipat cantok di daerah wisata Sanur dan hasil observasi.

b. Data sekunder

Data sekunder diperoleh dari sumber sekunder. Sumber sekunder adalah sumber yang tidak langsung memberikan data kepada pengumpul data (peneliti) misalnya dokumen (Sugiyono,2009). Dalam penelitian ini yang merupakan data sekunder adalah peta wilayah dan profil daerah wisata Sanur.

2. Instrumen pengumpulan data

a. Alat tulis berupa buku,pulpen dan pensil untuk membantu proses pengisian data observasi

b. Kamera digital, untuk dokumentasi

3. Cara pengumpulan data

Data dikumpulkan melalui observasi yaitu pengamatan langsung (observasi). Observasi merupakan suatu prosedur yang terencana meliputi melihat

dan mencatat jumlah dan aktifitas tertentu yang ada hubungannya dengan masalah yang kita teliti (Riyanto,2011). Observasi dilakukan di lokasi pedagang tipat cantok di daerah kawasan wisata Sanur dan kemudian diuji di laboratorium Bakteriologi untuk menghitung jumlah Angka Kapang Khamir dan mengidentifikasi *Aspergillus sp*.

A. Alat, Bahan, dan Prosedur Kerja

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet tetes, pipet volume (*Iwaki-Pyrex* reaksi (*Iwaki-Pyrex*®® volume 10 dan 5 mL, masing-masing 1 buah), tabung reaksi (10 mL, 40 buah), *beaker glass* (*Iwaki-Pyrex* volume 250 mL, 1 buah), erlenmeyer (*Iwaki-Pyrex Pyrex*® 26®, 1 buah), gelas ukur (*Iwaki-* volume 500 mL, 1 buah), lampu spiritus (1 buah), petridish (81 buah), spatula (1 buah), batang pengaduk (1 buah), ose (1 buah), kaca objek (20 buah), kaca penutup (20 buah), mikropipet (*SOCOREX,* 1 buah), neraca analitik (*Wagtech PW 124 Series, Max Capacity:120g and Readbility: 0,0001g,* 1 buah*)*, autoclave (*TOMY SX-50, Heat source:1,5kW electric fire, Weight:50kg, Chamber capacity: internal volume: 44L,* 1 buah), *magnetik stirer* (*Jisico*, masing-masing 1 buah), mikroskop (*Olympus CX21, Optical system:UIS, Dimention and weight:154(W) x 391(H) x 238(D) mm,approx.5,9 kg,* 1 buah), *Biosafety Cabinet* (*Biobase*, Model BSC-1800 II B2-X No. BSC40B1605005, *Max Opening 400mm, Inflow Velocity: 0,53+-0,025m/S and Downflow Velocity: 0,33+-0,025m/S,* 1 buah), mortar dan alu.

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kacang tanah goreng yang diperoleh dari pedagang tipat cantok di kawasan Denpasar Selatan, *Lactophenol Cotton Blue* 5% (Merck) dan NaCl 0,9%. Media yang digunakan untuk pengujian AKK adalah *Sabouraud Dextrose Agar* (*OXOID*, 93,6gr), *chloramphenicol* (2 tablet*), aquadest* (1,44L), alkohol 70%.

3. Prosedur kerja

Menurut Thearesti (2015) menjelaskan prosedur kerja dalam angka kapang khamir adalah sebagai berikut :

a. Persiapan sampel

Kemasan kacang tanah goreng dibuka secara aseptis di dekat api bunsen.

b. Pengenceran sampel

1) Disiapakan 4 tabung reaksi.

2) Diberi label pada tabung 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} dan 10^{-4}

3) Diisi tabung rekasi dengan 9 mL pelarut NaCl 0,9%.

4) Sampel kacang tanah goreng dihaluskan dengan mortar dan alu secara aseptis dan ditimbang sebanyak 1 g kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dengan label 10^{-1} yang telah berisi 9 mL pelarut NaCl 0,9%.

5) Dihomogenkan dengan cara dikocok beberapa kali hingga homogen.

6) Dari tabung pengenceran 10^{-1} dipindahkan ke tabung pengenceran 10^{-2} diambil sebanyak 1 mL larutan dan Pengenceran dibuat hingga pengenceran 10^{-2} kemudian dikocok hingga homogen. Pengenceran dibuat hingga pengenceran 10^{-4}

c. Uji angka kapang khamir

1) Disiapkan media SDA yang telah diisi dengan antibiotik.

2) Dipipet sebanyak 100µl suspensi sampel pada pengenceran 10^{-1} dimasukkan kedalam media SDA yang telah diberi label pengenceran 10^{-1}. Dilakukan juga pada sampel pada pengenceran ke 10^{-2} dan 10^{-3}.. Diratakan diatas media dengan bantuan spreader.

3) Disimpan media yang telah diinokulasikan suspensi sampel pada suhu 20-25°C selama 3-5 hari.

d. Pembacaan hasil dan pelaporan

1) Pembacaan hasil

a) Dihitung jumlah koloni yang ada pada masing-masing cawan petri.

b) Koloni-koloni yang bergabung menjadi satu dihitung sebagai satu koloni

c) Dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol.

2) Pelaporan

Pelaporan hanya dilakukan untuk cawan petri yang menghasilkan jumlah koloni antara 10-150 koloni. Jumlah koloni dari kedua cawan petri dalam satu pengenceran dihitung kemudian dikalikan faktor pengencerannya. Jika pada cawan petri dari 2 tingkat pengenceran yang berurutan menunjukkan jumlah antara 10-150 koloni, maka dihitung jumlah koloni dan dikalikan faktor pengenceran, kemudian diambil rata-rata.

Untuk kemungkinan lain:

1. Bila hanya salah satu dari kedua cawan petri dari pengenceran yang sama menunjukkan jumlah koloni antara 10-150 koloni maka dihitung jumlah koloni dari kedua cawan dan dikalikan faktor pengenceran (Apabila pengerjaan dilakukan secara duplo).

2. Bila pada tingkat pengenceran yang lebih rendah didapat koloni yang lebih besar dari dua kali jumlah koloni pada pengenceran diatasnya, maka dipilih tingkat pengenceran terendah (misal pada pengenceran 10^{-2} didapatkan 60 koloni dan pada pengenceran 10^{-3} diperoleh 30 koloni maka dipilih jumlah koloni pada tingkat pengenceran yang lebih rendah yaitu 10^{-2} 60 koloni)

Bila pada pengenceran yang lebih tinggi didapatkan jumlah koloni kurang dari dua kali jumlah koloni dibawahnya, maka diambil angka rata-rata dari jumlah koloni dari kedua pengenceran tersebut. Hasil dinyatakan sebagai Angka Kapang Khamir dalam tiap gram sampel (misal pada pengenceran 10^{-2} didapatkan koloni 6 dan pengenceran 10^{-3} didapat koloni 10, maka Angka Kapang Khamir adalah:

$$\frac{6+10}{2} x\, 10^{-3} = 8\, x\, 10^{3}$$

3. Bila dari seluruh cawan petri tidak ada satupun yang menunjukkan jumlah antara 10-150 koloni, maka dicatat angka sebenarnya dari tingkat pengenceran terendah dan dihitung sebagai Angka Kapang Khamir perkiraan.

4. Bila tidak ada pertumbuhan pada semua cawan dan bukan disebabkan karena faktor inhibitor, maka Angka Kapang Khamir dilaporkan sebagai kurang dari satu dikalikan faktor pengenceran terendah.

e. Identifikasi *Aspergillus sp.*

Menurut Rahmi and Asterina (2013) cara identifikasi *Aspergillus sp.* dapat dilakukan dengan pengamatan karakter morfologi kapang. Pengamatan morfologi kapang menggunakan biakan kapang endofit umur lima hari dari hasil pemurnian. Pengamatan meliputi warna dan permukaan koloni, garis-garis radial dari pusat koloni ke arah tepi koloni, dan lingkaran-lingkaran konsentris. Pengamatan mikroskopis preparat meliputi bentuk hifa, ada atau tidaknya rhizoid, bentuk sel

reproduksi seksual dan aseksualnya. Untuk mengamatan morfologi mikroskopis kapang sebelumnya membuat preparat untuk pengamatan yang menggunakan mikroskop adalah sebagai berikut:

1. Disiapkan alat bahan yang diperlukan.
2. Inokulum kapang pada media agar diambil dari cawan petri dengan menggunakan jarum ose.
3. Inokulum kapang tersebut diletakkan di atas objek glass steril.
4. Ditutup dengan menggunakan cover glass.
5. Mengamati morfologi jamur (bentuk hifa, konidia, dan spora) yang terbentuk
6. Diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian akan dikumpulkan dan diolah kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan uraian kalimat.

2. Analisis data

Analisis data deskriptif dengan mendeskripsikan data yang diperoleh dari data hasil pengujian AKK dan identifikasi *Aspergillus sp.* pada kacang tanah goreng dan kemudian hasil AKK dibandingkan dengan BPOM RI Nomor 16 Tahun 2016 tentang kriteria mikrobiologi dalam pangan olahan tidak boleh mengandung Angka Kapang Khamir lebih dari 10^2 koloni/g.