

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif. Penelitian deskriptif dilakukan terhadap sekumpulan objek yang biasanya bertujuan untuk melihat gambaran fenomena yang terjadi di dalam populasi tertentu (Notoatmodjo, 2012). Penelitian ini bertujuan menggambarkan angka lempeng total dan mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* pada jamu kunyit asam di kelurahan Renon.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Lokasi untuk pengambilan sampel dilakukan di kelurahan Renon. Tahap analisis sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Analisis Kesehatan.

2. Waktu penelitian

Waktu penelitian sampel dan pemeriksaan laboratorium untuk penelitian dilaksanakan pada bulan Januari-April 2019.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah sekelompok subjek yang menjadi objek atau sasaran peneliti (Notoatmodjo, 2012). Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh jamu kunyit asam yang dijual oleh 6 pedagang di kelurahan Renon.

2. Besar sampel

Sampel adalah bagian dari sejumlah karakteristik yang dimiliki oleh populasi yang digunakan untuk penelitian yang nanti kesimpulan dari penelitian tersebut berlaku untuk populasi (Tersiana, 2018). Sejumlah pedagang jamu kunyit asam di Kelurahan Renon yang akan digunakan sebagai sampel yaitu sebanyak 6 pedagang. Jumlah jamu kunyit asam yang diambil sebagai sampel pada masing-masing pedagang adalah jamu kunyit asam dalam kemasan botol, sehingga jumlah sampel sebanyak 6 jamu kunyit asam.

3. Teknik sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik sampling *Non Probability* yaitu sampling jenuh. *Non Probability* artinya setiap anggota populasi tidak memiliki kesempatan atau peluang yang sama sebagai sampel. Teknik sampling jenuh adalah penentuan sampel bila semua anggota populasi digunakan sebagai sampel (Sugiyono, 2011). Teknik ini dilakukan bila jumlah populasi *relative* kecil, kurang dari 30 atau penelitian yang ingin membuat generalisasi dengan kesalahan yang sangat kecil. Istilah lain sampel jenuh adalah sensus, dimana semua anggota populasi dijadikan sampel (Sugiyono, 2011). Dalam penelitian ini sampel yang akan diambil adalah jamu kunyit asam dari pedagang yang ada di kelurahan Renon.

D. 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 hasil pemeriksaan laboratorium yaitu menguji

sampel jamu kunyit asam menggunakan Angka Lempeng Total dengan metode hitung cawan dan mengidentifikasi *Escherichia coli*.

b. Data Sekunder

Data sekunder dalam penelitian ini adalah peta wilayah kelurahan Renon.

2. Cara Pengumpulan Data

Cara pengumpulan data melalui observasi dan wawancara yaitu pengamatan secara langsung terhadap jamu kunyit asam yang dijual di Kelurahan Renon dan kemudian diuji di laboratorium Bakteriologi untuk mengetahui angka lempeng total dan mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* pada jamu kunyit asam.

a. Observasi

Observasi berfungsi untuk melengkapi dengan format atau blanko pengamatan. Format observasi jamu kunyit asam yang disusun berisi tentang kemasan jamu kunyit asam, merek jamu kunyit asam, nomor registrasi BPOM, tanggal kedaluwarsa dan indikasi penyimpanan produk, serta kebersihan lokasi penjualan.

b. Wawancara

Melakukan wawancara dimana terlebih dahulu penulis melakukan pendekatan kepada pedagang jamu kunyit asam kemudian menjelaskan maksud dan tujuan penulis sehingga pedagang jamu kunyit asam dapat memahami maksud penelitian dan mengetahui umur, jenis kelamin, dan lama berjualan pedagang jamu kunyit asam, serta mengetahui sumber jamu kunyit asam yang dijual.

3. Instrumen penelitian

a. Instrumen pengumpulan data

Instrument yang digunakan pada penelitian ini adalah alat tulis, alat dokumentasi, dan lembar observasi dan wawancara.

b. Instrumen pemeriksaan laboratorium

Alat penelitian yang diperlukan antara lain: Erlenmeyer volume 100 mL (4 buah), gelas ukur volume 500 mL (2 buah), tabung reaksi volume 20 mL (50 buah), mikropipet 1000 μ l (1 buah) dan 100 μ l (1 buah), *Coolbox* (1 buah), rak tabung (2 buah), *colony counter* (1 buah), blue tip (31 buah), yellow tip (30 buah), Spiritus (1 buah), petri dish (200 buah), pinset (1 buah), spidol (1 buah), batang pengaduk (1 buah), ballpipet (2 buah), spatula (2 buah), ose (1 buah), spreader (1 buah), neraca analitik (1 buah), inkubator (1 buah), autoclave (1 buah), *Biosafety Cabinet* (1 buah), *magnetic stirrer*, aluminium foil, benang gulung, kapas berlemak, label, korek api dan gunting.

Media yang digunakan antara lain: Aquadest, NaCl 0.9%, *Media Plate Count Agar*, *Lactose Broth* dan *Media Brilliant Green Lactose Broth*.

E. Pemeriksaan Laboratorium

1. Pengambilan sampel

Sampel diambil oleh peneliti dengan persetujuan pedagang jamu kunyit asam, kemudian sampel disimpan kedalam *coolbox* dan langsung dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan serta langsung dilakukan pemeriksaan pada hari itu juga.

2. Preparasi sampel

Sampel yang digunakan dihomogenkan terlebih dahulu, kemudian di desinfeksi bagian luar kemasan jamu.

3. Pembuatan media

- a. Ditimbang masing-masing media *Plate Count Agar*, *Lactose Broth*, dan *Brilliant Green Lactose Broth*.
- b. Dilarutkan dengan aquadest dan dihomogenkan menggunakan kompor listrik.
- c. Dilakukan pengecekan pH.
- d. Disterilisasi menggunakan autoklaf.
- e. Disiapkan media untuk pengujian dan untuk control. Media untuk control diikuti dalam setiap tahap pengujian hingga inkubasi, namun tidak ditambahkan sampel.

4. Pemeriksaan angka lempeng total

Langkah dalam pemeriksaan angka lempeng total pada sampel jamu kunyit asam adalah sebagai berikut:

- a. Disiapkan 5 buah tabung reaksi yang telah berisi 9 mL larutan pengencer yaitu NaCl 0,9% dan tandailah kelima tabung sesuai dengan pengenceran seperti berikut: 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} dan kontrol serta tanggal pemeriksaan.
- b. Disiapkan 5 buah petri dish dan tandai sesuai dengan pengenceran seperti berikut: 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} dan kontrol serta tanggal pemeriksaan dibalik petridish.
- c. Bahan atau sampel dikocok sampai homogen kemudian dibuka secara aseptis di dekat nyala api spiritus.

- d. Dipipet sampel sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung 1 yang telah berisi 9 mL larutan pengencer secara aseptis dekat nyala api spiritus sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} dan campuran dihomogenkan.
 - e. Kemudian dari hasil pengenceran 10^{-1} tersebut dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung ke-2 yang telah berisi 9 mL larutan pengencer secara aseptis dekat nyala api spiritus sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} dan campuran dihomogenkan.
 - f. Pengenceran dilakukan demikian seterusnya hingga diperoleh pengenceran bertingkat 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} .
 - g. Dari setiap pengenceran dipipet 0,1mL dan dimasukkan kedalam cawan petri yang telah berisi media *plate count agar* padat yang dikerjakan secara aseptis dekat nyala api spiritus.
 - h. Kemudian segera diratakan sampel dengan metode sebar menggunakan spreader perlahan agar sampel tercampur rata pada media.
 - i. Kemudian diinkubasi pada suhu $35-37^{\circ}\text{C}$ selama 24-48 jam dengan posisi terbalik.
 - j. Kontrol dibuat dengan cara dimasukkan sebanyak 0,1mL NaCl 0,9% pada media *plate count agar* padat dalam petridish “kontrol”.
5. Pembacaan hasil angka lempeng total
- a. Hitung jumlah koloni yang tumbuh pada tiap-tiap petridish.
 - b. Koloni yang bergabung menjadi satu atau membentuk satu deretan yang terlihat sebagai garis tebal atau jumlah koloni meragukan dihitung sebagai satu koloni kuman.

- c. Hitung jumlah koloni yang tumbuh pada petridish berisi kontrol. Apabila jumlah koloni pada petridish kontrol lebih dari 10 maka pemeriksaan harus diulang karena sterilisasi dianggap kurang baik.

Perhitungan hanya dilakukan pada petridish yang menghasilkan jumlah koloni antara 30-300 dan bila jumlah koloni pada petridish kontrol lebih kecil dari 10 maka jumlah koloni pada masing-masing petridish harus terlebih dahulu dikurangi dengan jumlah koloni kontrol.

6. Contoh Perhitungan

Pengenceran	Jumlah Koloni
Kontrol	2 koloni
Pengenceran 10^{-1}	347 koloni
Pengenceran 10^{-2}	162 koloni
Pengenceran 10^{-3}	98 koloni
Pengenceran 10^{-4}	57 koloni
Pengenceran 10^{-5}	22 koloni

Kontrol dari hasil tersebut memenuhi syarat dan hasil yang dapat dihitung adalah pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}

Cara menghitung angka lempeng total:

Angka lempeng total

$$\begin{aligned}
 &= \frac{((162 - 2) \times 100 + ((98 - 2) \times 1000 + ((57 - 2) \times 10.000)}{3} \\
 &= \frac{16.000 + 96.000 + 550.000}{3} \\
 &= \frac{662.000}{3} \\
 &= 220.667 \text{ koloni tiap gram}
 \end{aligned}$$

7. Pemeriksaan bakteri *Escherichia coli*

Langkah pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* pada jamu kunyit asam antara lain sebagai berikut:

a. Uji penduga

- 1) Disiapkan 7 tabung reaksi yang masing-masing berisi media Lactose Broth sebanyak 10 ml yang didalamnya terdapat tabung Durham yang terbalik. Tabung disusun pada rak tabung reaksi, masing-masing tabung diberi tanda nomor urut, volume, dan tanggal pemeriksaan.
- 2) Dengan pipet steril ambil bahan pemeriksaan yang telah disiapkan masukkan ke dalam tabung 1-5 masing-masing sebanyak 10 ml. tabung ke 6 sebanyak 1 ml dan tabung ke 7 sebanyak 0,1 ml. masing-masing tabung tersebut di goyang-goyangkan agar specimen dan media bercampur rata.
- 3) Inkubasikan pada suhu 37° C, selama 8-24 jam. Setelah itu dilihat ada tidaknya pembentukan gas pada tabung durham dan catat semua tabung yang menunjukkan peragian lactose membentuk gas. Pembentukan gas pada tabung durham pada tes pendahuluan dinyatakan tes positif dan dilanjutkan dengan tes penegasan. Apabila tes dalam waktu 24 jam tidak membentuk gas, dimasukkan ke incubator kembali pada suhu 37° C selama 24 jam. Bila tes negatif berarti bakteri *Coliform* negative.

b. Uji penegasan

Media yang dipergunakan adalah BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*). Tes ini untuk menegaskan hasil positif dari tes penduga. Tes penegasan ini merupakan tes yang minimal harus dikerjakan untuk pemeriksaan bakteriologis makanan atau minuman.

- 1) Dari tiap-tiap tabung pada uji penduga yang hasilnya positif, dipindahkan 1-2 ose ke dalam tabung uji penegasan yang berisi 10 ml BGLB 2%. Dari masing-masing tabung uji penduga diinokulasikan ke dalam tabung BGLB.
- 2) Satu seri tabung BGLB 2% diinkubasi pada suhu 37° C selama 24-48 jam (untuk memastikan adanya bakteri total Coliform dan satu seri yang lain diinkubasikan pada suhu 44° C selama 24 jam (untuk memastikan adanya *Coliform fecal*).
- 3) Pembacaan dilakukan setelah 24-48 jam dengan melihat jumlah tabung BGLB 2% yang menunjukkan positif gas.

c. Pelaporan Hasil

Pembacaan hasil dari tes penegasan dilakukan dengan cara menghitung jumlah tabung yang menunjukkan adanya gas, baik pada inkubasi 37° C maupun pada suhu 44° C. Angka yang diperoleh dicocokkan dengan table MPN, maka akan diperoleh indeks MPN total *Coliform* untuk tabung yang diinkubasi pada suhu 37° C dan indeks MPN *Coliform fecal* untuk tabung yang diinkubasi pada suhu 44° C.

F. Pengolahan dan Teknik Analisa Data

1. Pengolahan data

Data-data yang dikumpulkan dari hasil pengujian dan observasi diolah dengan menggunakan teknik pengolahan data secara tabulating data yaitu data disajikan dalam bentuk tabel dengan narasi.

2. Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif yaitu membandingkan kenyataan dilapangan atau hasil pemeriksaan dengan teori

serta Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 12 Tahun 2014 tentang persyaratan mutu obat tradisional.