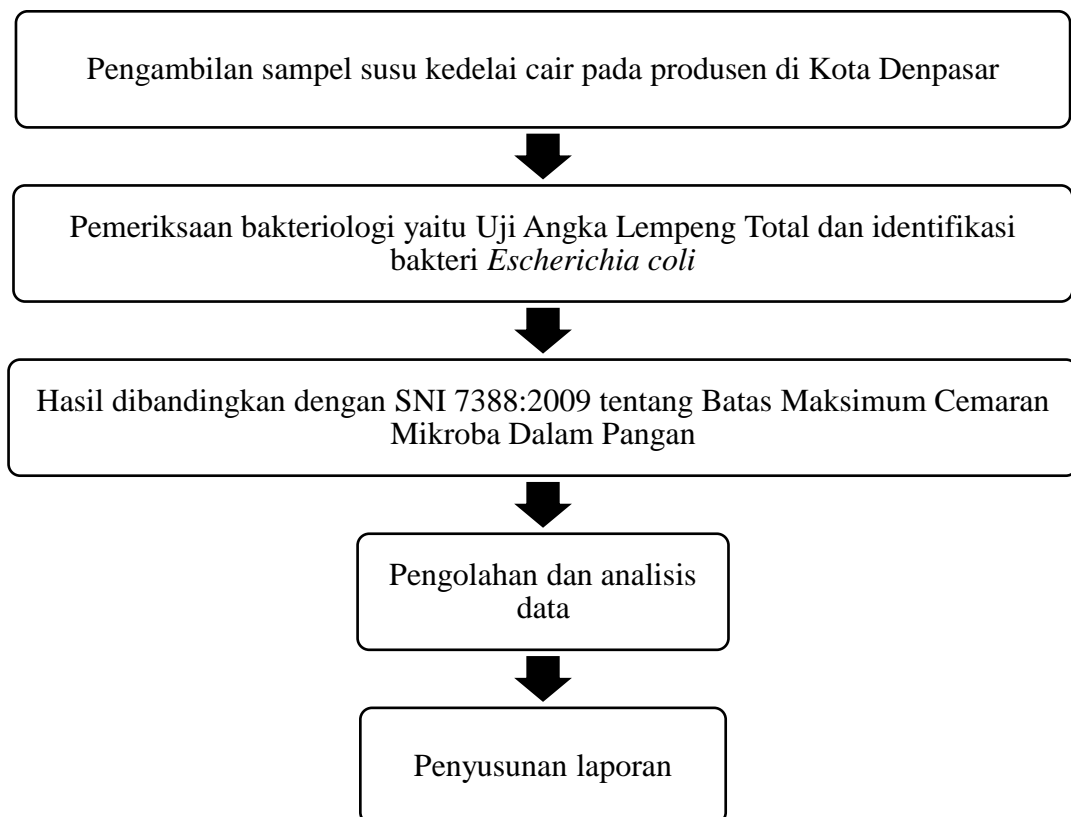


BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskripsif. 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 Identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai yang diproduksi di Kota Denpasar.

B. Alur penelitian



Gambar 1. Alur penelitian

C. Tempat dan waktu penelitian

1. Tempat Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Kota Denpasar, sedangkan pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Panureksa Utama, Jalan Genetri No. 11A Denpasar.

Lokasi pengambilan sampel :

Denpasar Utara	: 3 sampel
Denpasar Barat	: 2 sampel
Denpasar Selatan	: 3 sampel
Denpasar Timur	: 0 sampel

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan dari bulan Februari-April 2021

D. Populasi dan sampel penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah 8 produsen susu kedelai di wilayah Kota Denpasar.

2. Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian adalah susu kedelai yang diproduksi oleh 8 orang produsen di wilayah Kota Denpasar. Dalam penelitian ini yang digunakan adalah susu kedelai cair.

a. Unit analisis

Unit analisis pada penelitian ini adalah susu kedelai yang diperoleh dari 8 produsen di Kota Denpasar

b. Besar sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu kedelai yang diproduksi oleh 8 produsen di Kota Denpasar yang diambil sebanyak satu sampel dalam sekali produksi tiap produsen susu kedelai.

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

Merupakan kriteria yang perlu dipenuhi untuk setiap sampel susu kedelai yang diambil sebagai anggota sampel. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah susu kedelai yang baru saja selesai didibuat.

b. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi merupakan kriteria yang tidak dapat diambil sebagai sampel. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah susu kedelai yang sudah dijual atau dititipkan di warung atau pasar.

E. Jenis, Teknik, dan Instrumen 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 susu kedelai menggunakan Angka Lempeng Total dengan metode tuang dan mengidentifikasi ada *Escherichia coli* atau tidak ada *Escherichia coli*.

b. Data Sekunder

Data sekunder dalam penelitian ini adalah SNI 7388:2009 tentang Batas Maksimum Cemarkan Mikroba Dalam Pangan.

2. Teknik pengumpulan data

Cara pengumpulan data melalui wawancara dan observasi yaitu pengamatan secara langsung terhadap sumber susu kedelai tersebut diproduksi dan melakukan pemeriksaan laboratorium untuk mengetahui angka lempeng total dan mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* yang bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya bakteri *Escherichia coli* pada sampel susu kedelai tersebut.

a. Wawancara

Melakukan wawancara dimana terlebih dahulu penulis melakukan pendekatan kepada produsen susu kedelai kemudian menjelaskan maksud dan tujuan penulis sehingga produsen susu kedelai dapat memahami maksud penelitian dan mengetahui nama, umur, jenis kelamin, pendidikan dan lama memproduksi susu kedelai, dan menanyakan beberapa pertanyaan yang menjadi faktor resiko cemarkan bakteriologis pada produk susu kedelai.

b. Observasi

Observasi berfungsi untuk melengkapi dengan format atau blanko pengamatan. Format observasi susu kedelai yang disusun berisi tentang hygiene sanitasi lingkungan produksi.

3. Instrumen pengumpulan data

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

4. Alat, bahan dan prosedur kerja

a. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, api bunsen, batang pengaduk, erlenmeyer, *ball pipet*, pipet ukur, *hot plate*, *magnetic stirrer*, gelas beaker, cawan petri, gelas ukur, spatula, *auto clave*, neraca analitik, *incubator*, *colony counter*, oven, spidol, ose, aluminium foil, benang gulung, kapas berlemak, korek api, *cool box*, mikropipet, korek api dan gunting.

b. Bahan

Media yang digunakan antara lain: air garam fisiologis, media *Plate Count Agar*, media EMBA, reagen kovacks, *blue* atau *yellow tip*, sampel susu kedelai (10 mL), dan SIM.

c. Prosedur kerja

1) Pengambilan sampel

Sampel diambil oleh peneliti dengan persetujuan produsen susu kedelai, lalu dibawa ke Laboratorium Panureksa Utama, Jalan Genetri No. 11A Denpasar menggunakan coolbox serta langsung dilakukan pemeriksaan pada hari itu juga.

2) Preparasi sampel

Preparasi sampel berdasarkan (Mastra, Jirna, Burhannuddin, Suyasa, & Hayati, 2019)

- a) Sampel yang digunakan dihomogenkan terlebih dahulu, kemudian di desinfeksi bagian luar kemasan susu kedelai.
- b) Dimasukkan 10 mL bahan tersebut ke dalam labu erlenmeyer berskala.
- c) Dituangkan 90 ml air garam fisiologis.
- d) Dikocok sebanyak kurang lebih 25 kali sampai homogen.
- e) Bahan dengan pengenceran tersebut siap dipergunakan untuk pemeriksaan

3) Pemeriksaan angka lempeng total

Prosedur kerja Angka Lempeng Total berdasarkan (Mastra et al., 2019)

- a) Disiapkan enam buah tabung steril dan diberi tanda 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dan disusun pada rak tabung.
- b) Disiapkan tujuh buah *petridish* steril, enam buah *petridish* diberi label sesuai kode pengenceran dan satu buah *petridish* diberi kode kontrol.
- c) Diisi dengan 9 ml air garam fisiologis atau NaCl 0,9% pada tabung ke dua sampai dengan ke enam.
- d) Dihomogenkan bahan yang telah disiapkan dalam labu Erlenmeyer dan di ambil 10 ml dan dimasukkan pada tabung ke satu.
- e) Dipindahkan 1 ml bahan dari tabung ke satu ke dalam tabung dua dengan pipet, cairan dihomogenkan.
- f) Dipindahkan 1 ml bahan dari tabung ke dua ke dalam tabung tiga dengan pipet, cairan dihomogenkan.
- g) Demikian seterusnya sampai tabung ke enam.
- h) Pengenceran yang diperoleh pada ke enam tabung adalah 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} sesuai dengan kode pengenceran sebelumnya.

- i) Dari masing-masing tabung di atas dimulai dari tabung ke enam dengan menggunakan pipet steril, diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam masing-masing *petridish*, sesuai dengan kode pengenceran yang sama.
 - j) Dituang *Plate Count Agar (PCA)* cair yang telah dipanaskan dalam *waterbath* $\pm 45^{\circ}\text{C}$ sebanyak 15 – 20 ml ke dalam masing-masing *petridish*. Masing-masing *petridish* digoyang perlahan-lahan hingga tercampur merata dan dibiarkan dingin dan membeku.
 - k) Dimasukkan ke dalam inkubator 37°C selama 2 x 24 jam dalam keadaan terbalik.
 - l) Kontrol dibuat dari cairan air garam fisiologis atau NaCl 0,9% sebanyak 1 ml.
 - m) Pembacaan dilakukan setelah 2 x 24 jam dengan cara menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada tiap *petridish*.
- 4) Pembacaan hasil angka lempeng total
- a) Hitung 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.

5) Pelaporan hasil

- a) Pelaporan didasarkan pada perhitungan angka kuman yang diperoleh.
- b) Perhitungan hanya dilakukan pada *petridish* yang menghasilkan jumlah koloni antara 30 – 300 serta bila jumlah *petridish* kontrol lebih kecil dari 10. Jumlah koloni pada masing-masing *petridish* harus terlebih dahulu dikurangi dengan jumlah koloni pada *petridish* kontrol

Contoh perhitungan

Kontrol	: 1 koloni
Pengenceran 10^{-1}	: 326 koloni
Pengenceran 10^{-2}	: 157 koloni
Pengenceran 10^{-3}	: 94 koloni
Pengenceran 10^{-4}	: 37 koloni
Pengenceran 10^{-5}	: 28 koloni
Pengenceran 10^{-6}	: 22 koloni

$$\begin{aligned} \text{Angka Kuman} &= \frac{(157-1) \times 100 + (94-1) \times 1000 + (37-1) \times 10.000}{3} \\ &= \frac{15.600 + 93.000 + 360.000}{3} \\ &= \frac{468.600}{3} \\ &= 156.200 \text{ kuman tiap gram (sampel padat) ml (sampel cair)} \end{aligned}$$

- 6) Identifikasi *Escherichia coli*
- a) Inokulasi pada media EMBA
- Dari pengenceran 10^{-1} sampel diambil sebanyak 1 kali ose dan kemudian di streak pada media EMBA.
 - Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
 - Diamati pertumbuhan bakteri dengan melihat warna koloni, apabila positif maka akan terbentuk koloni berwarna hijau metalik dengan titik hitam ditengahnya.
- b) Uji biokimia Indol (SIM)
- Satu koloni tunggal dari media EMBA diambil dengan menggunakan ose jarum.
 - Koloni tersebut kemudian ditusukkan ke media SIM sedalam $\pm \frac{1}{4}$ bagian (tidak sampai ke dasar).
 - Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.
 - Ditambahkan 250 μl reagen *kovac* dalam media SIM, dikocok perlahan dan dibiarkan dalam posisi tegak. Diamati permukaan media, apabila menghasilkan lapisan perekasi berwarna merah muda maka positif Indol.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

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

2. Analisa Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif yaitu membandingkan kenyataan dilapangan atau hasil pemeriksaan dengan teori serta SNI 7388:2009 Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan dan dinyatakan memenuhi syarat apabila nilai ALT pada susu kedelai tidak melebihi 5×10^4 koloni/mL

