

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif dilakukan terhadap sekumpulan objek yang biasanya bertujuan untuk melihat gambaran fenomena yang terjadi di dalam suatu populasi tertentu (Notoatmodjo, 2010). Penelitian ini bertujuan untuk melihat kualitas bakteriologis pada Susu Kedelai di Desa Batubulan, Kecamatan Sukawati.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat penelitian, pengambilan sampel penelitian dilakukan di Desa Batubulan, Kecamatan Sukawati pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

2. Waktu penelitian

Waktu pengambilan sampel dan pemeriksaan laboratorium untuk penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai Juni 2022.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah keseluruhan objek penelitian atau objek yang diteliti tersebut (Notoatmodjo, 2010). Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh susu kedelai yang dijual oleh pedagang di Desa Batubulan Kecamatan Sukawati.

2. Sampel penelitian

a. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah susu kedelai di Desa Batubulan Kecamatan Sukawati.

b. Jumlah dan besar sampel

Sampel adalah objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi. Dalam mengambil sampel penelitian ini digunakan cara atau teknik-teknik tertentu sehingga sampel tersebut sedapat mungkin mewakili populasinya. Teknik pengambilan sampel yang tidak baik dapat mempengaruhi validitas hasil penelitian (Notoatmodjo, 2010).

Mengingat jumlah populasi yang kurang dari 30 maka sampel yang digunakan adalah semua pedagang susu kedelai di Desa Batubulan, Kecamatan Sukawati yaitu sebanyak 8 pedagang susu kedelai. Jumlah susu kedelai yang diambil sebagai sampel pada masing-masing pedagang adalah 3 sampel susu kedelai, yakni susu kedelai dalam kemasan botol maupun plastik, sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah sebanyak 24 susu kedelai.

c. Kriteria sampel

Penentuan sampel susu kedelai dilakukan dengan cara menentukan kriteria inklusi dan eksklusi. Adapun kriteria inklusi dan eksklusi dari sampel penelitian ini yaitu :

- 1) Kriteria inklusi yaitu susu kedelai yang dijual di Desa Batubulan, yang dijual dalam bentuk kemasan plastik maupun botol, serta dijual oleh pedagang permanen di Desa Batubulan, Kecamatan Sukawati.

2) Kriteria eksklusi yaitu susu kedelai yang dijual dengan kemasan rusak dan dijual oleh pedagang tidak permanen di Desa Batubulan, Kecamatan Sukawati.

d. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik *nonprobability sampling* secara sampling jenuh. Teknik sampling jenuh adalah teknik penentuan sampel bila semua anggota populasi digunakan sebagai sampel. Hal ini dilakukan apabila jumlah populasi relative kecil, kurang dari 30 orang, atau penelitian yang ingin membuat generalisasi dengan kesalahan yang sangat kecil. *Nonprobability sampling* adalah teknik pengambilan sampel yang tidak memberi peluang/kesempatan sama bagi setiap unsur atau anggota populasi untuk dipilih menjadi sampel (Sugiyono, 2015). Teknik pengambilan susu kedelai dilakukan pada 8 pedagang susu kedelai di Desa Batubulan Kecamatan Sukawati dengan mengambil 3 sampel susu kedelai pada setiap pedagang.

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Data yang dikumpulkan berupa data primer yang didapatkan langsung dari sampel penelitian meliputi data hasil pemeriksaan laboratorium meliputi data nilai MPN *coliform* dan *coliform fecal* dengan satuan per 100 ml sampel, hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai.

2. Cara pengumpulan data

a. Observasi

Observasi (pengamatan) yang dilakukan yaitu dengan melakukan pengamatan langsung terhadap karakteristik susu kedelai yang dijual, pengamatan

terhadap kemasan susu kedelai, tempat penyimpanan produk, serta kebersihan lokasi penjualan.

b. Pemeriksaan laboratorium

Pengumpulan data yang dilakukan yaitu berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium susu kedelai mengenai identifikasi bakteri *Escherichia coli*.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Alat tulis
- b. Kamera untuk mendokumentasikan kegiatan penelitian
- c. Alat dan bahan untuk pemeriksaan laboratorium
- d. Tabel MPN

E. Alat, Bahan dan Prosedur Kerja

1. Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah oven (wagtech) (1 buah), autoclave (SX-500, TOMY) (1 buah), incubator (T01892, Esco) (1 buah), neraca analitik (AS 220.R2, Radwag) (1 buah), biosafety cabinet (BSC-1800 II B2-X, Biobase) (1 buah), hotplate magnetic stirrer (JISICO) (1 buah), api bunchen (1 buah), ball pipet (d & n ball pipet) (1 buah), ose bulat (1 buah), mikropipet (Biocorex) 100-1000 μ l (1 buah), tip biru (24 buah), erlenmeyer (Iwaki-Pyrex®) 1000 ml dan 500 ml (1 buah), beaker glass (Iwaki-Pyrex®) 1000 ml (1 buah), gelas ukur (Iwaki-Pyrex®) 500 ml (1 buah), pipet ukur (Iwaki-Pyrex®) 1 ml dan 10 ml (24 buah), tabung reaksi (Iwaki-Pyrex®) (168 buah), rak tabung reaksi (5 buah), tabung durham (168 buah), petridisk steril (24 buah), batang pengaduk, kapas, label, korek api, gunting.

2. Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sampel susu kedelai, media *Lactose Broth* (LB) (*OXOID*), *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) (*OXOID*), *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) (*OXOID*), *Nutrient Agar* (NA) miring (*OXOID*).

3. Prosedur kerja

a. Pre-analitik

1) Pengambilan sampel

Sampel penelitian diambil dari pedagang di Desa Batubulan, Kecamatan Sukawati. Sampel yang diambil berjumlah 24 sampel susu kedelai. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam *coolbox*. Selanjutnya sampel diperiksa di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

2) Persiapan sampel

Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian. Setelah alat dan bahan disiapkan kemudian alat yang akan digunakan dalam penelitian disterilisasi terlebih dahulu didalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (waktu dihitung setelah suhu 121°C tercapai). Sampel yang digunakan dalam penelitian dihomogenkan terlebih dahulu.

b. Analitik

Pemeriksaan sampel susu kedelai dilakukan di Laboratorium Bakteriologis Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Sebelum melakukan penelitian terlebih dahulu peneliti menggunakan APD (alat pelindung diri) berupa masker, sarung tangan, haircap, dan jas laboratorium. Setelah menggunakan APD selanjutnya dilakukan pemeriksaan sampel. Adapun prosedur kerja yang dilakukan adalah

sebagai berikut, pengujian dengan metode MPN (*Most Probable Number*) ragam I (5-1-1) 7 tabung, adalah sebagai berikut (Mastra dkk., 2020) :

1) Uji pendugaan (*Presumptive test*)

Uji pendugaan (*presumptive test*) adalah sebagai berikut :

a) Siapkan 5 buah tabung yang berisikan 10 ml (tabung 1a s/d 5a) media LB double strength yang di dalamnya terdapat tabung Durham terbalik, dan disiapkan 2 tabung yang masing-masing berisi media LB single strength sebanyak 10 ml (tabung 1b dan 2b) yang di dalamnya terdapat tabung Durham terbalik.

b) Dengan pipet steril 10 ml, inokulasikan masing-masing 10 ml sampel susu kedelai ke dalam tabung 1a s/d 5a

c) Dengan pipet steril 1 ml, inokulasikan 1 ml sampel susu kedelai ke dalam tabung 1b

d) Dengan pipet steril 1 ml, inokulasikan 0,1 ml sampel susu kedelai ke dalam tabung 2b

e) Tabung-tabung dikocok perlahan agar sampel susu kedelai menyebar merata keseluruh bagian media

f) Inkubasi pada suhu 35°C selama 24-48 jam

g) Amati masing masing tabung untuk melihat ada atau tidak adanya gas.

(1) Test perkiraan atau test pendahuluan yang positif ditandai dengan terbentuknya gas, tetapi hal ini belum memastikan adanya *coliform* di dalam susu kedelai, karena media LB dapat juga difermentasi oleh bakteri lain selain *coliform*, oleh sebab itu test perkiraan yang positif dilanjutkan dengan *Confirmative Test* (Test penegasan).

2) Uji penegasan (*confirmative test*)

Adapun prosedur Uji penegasan (*confirmative test*) :

- a) Memindahkan sebanyak 1-2 ose dari tiap-tiap tabung uji pendugaan (*presumptive test*) yang menunjukkan hasil positif ke dalam tabung uji penegasan (*confirmative test*) yang berisi 10 ml media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) dibuat 2 seri.
- b) Satu seri tabung BGLB diinkubasi pada suhu 35°C-37°C selama 24-48 jam (untuk memastikan adanya *coliform*) dan satu seri lainnya diinkubasi pada suhu 44°C selama 24 jam (untuk memastikan adanya *coliform fecal*).
- c) Pembacaan dilakukan setelah 24-48 jam dengan melihat jumlah tabung BGLB yang menunjukkan positif dengan adanya gelembung gas pada tabung Durham. Kemudian baca hasil pada tabel MPN.

3) Uji Pelengkap (*completed test*)

Adapun prosedur Uji Pelengkap (*completed test*) (Habullah, dkk., 2015):

- 1) Masing-masing biakan positif pada uji penegasan (*confirmative test*), diambil satu ose dan diinokulasikan pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA)
- 2) Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- 3) Koloni yang tumbuh pada media tersebut diidentifikasi warnanya. Koloni warna hijau dengan kilap logam dan bintik biru kehijauan dari media EMBA yang menandakan keberadaan bakteri *Escherichia coli*.
- 4) Digoreskan pada media miring *Nutrient Agar* (NA)
- 5) Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam hingga terdapat pertumbuhan koloni di atas permukaan media miring
- 6) Biakan dari media miring *Nutrien Agar* digunakan untuk uji IMViC.

c. Post-analitik

Data hasil pemeriksaan pada sampel susu kedelai yang telah didapatkan kemudian dikumpulkan dan diinterpretasikan untuk menentukan nilai MPN dengan mengkombinasikan jumlah tabung positif pada uji penegasan (*confirmative test*) di setiap serinya, serta membandingkan hasil penelitian dengan Peraturan SNI 7388:2009 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data yang dikumpulkan dari hasil pemeriksaan laboratorium dan observasi diolah dan data disajikan dalam bentuk tabel dan narasi.

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif yaitu membandingkan hasil pemeriksaan laboratorium atau kenyataan di lapangan dengan teori yang ada. Jumlah bakteri didapatkan dari tabel *Most Probable Number* (MPN), yang memberikan nilai duga terdekat dengan kombinasi tabung yang positif dan tabung negatif.