

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis dan Desain Penelitian**

Jenis penelitian adalah eksperimen dan desain penelitian adalah uji *Anova* yaitu untuk mengetahui pengaruh waktu dan suhu penyimpanan susu kedelai pada suhu 4°C dengan jumlah Bakteri *Coliform* berdasarkan waktu penyimpanan 0x24 jam, 1x24 jam, 2x24 jam, 3x24 jam, 4x24 jam, 5x24 jam, 6x24 jam. Variabel penelitian meliputi variabel bebas yaitu waktu dan suhu penyimpanan susu kedelai dan variabel terikat yaitu jumlah bakteri *coliform*.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### 1. Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung dan Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Tanjungkarang.

##### 2. Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April 2021.

#### **C. Subyek Penelitian**

##### 1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah susu kedelai yang dijual di Kota Bandar Lampung.

##### 2. Sampel

Sampel penelitian adalah susu kedelai yang dijual di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung yaitu 18 susu kedelai yang dijual menetap di warung makan, warung sembako, warung nasi uduk serta pasar tradisional.

(Titik Sampel pada lampiran 1)

#### D. Variabel dan Definisi Operasional

Variabel Penelitian	Definis	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Susu Kedelai	Produk olahan kedelai Yang dijual di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung	Panca Indra	Indra penglihatan dan Indra perasa	Berwarna putih dan rasa manis	Nominal
Bakteri <i>coliform</i>	Bakteri <i>coliform</i> yang terdapat pada susu kedelai yang dijual di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung	Metode <i>Most Probable Number</i> (MPN) Dengan ragam 5 1 1.	Tabel Formula Thomas Ragam 5 1 1.	Berdasarkan SNI (Standar Nasional Indonesia) No. 7388:2009 yaitu : Memenuhi syarat jika MPN coliform <20 koloni/ml sampel. Tidak memenuhi syarat jika MPN coliform >20 koloni/ml sampel..	Ordinal
Waktu	Lama penyimpanan susu kedelai adalah 0x24 jam, 1x24 jam, 2x24 jam, 3x24 jam, 4x24 jam, 5x24 jam, dan 6x24 jam.	Dilihat timer waku	Timer penghitung waktu	Berdasarkan waktu /24 jam	Ordinal
Suhu	Suhu yang digunakan untuk penyimpanan susu kedelai adalah suhu 4°C.	Menjaga suhu agar tetap stabil dengan termometer.	Termometer Suhu	Suhu tetap stabil pada 4°C.	Nominal

## E. Pengumpulan Data

### 1. Persiapan Alat

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung durham, Erlenmeyer, pipet ukur (0,1ml;1,0ml;10ml), beaker glass, gelas ukur, alumunium foil, batang pengaduk, kapas, vacuum pump, jarum ose, timbangan, incubator, autoclave, oven, lampu spirtus, ice box (Styrofoam box dan dry ice).

### 2. Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas seperti tabung reaksi, Erlenmeyer, pipet ukur (0,1ml;1,0ml;10ml) yang akan di sterilkan disiapkan, lalu dibungkus dengan kertas copy dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 160°C selama 1 jam. Setelah selesai alat-alat tersebut didinginkan dan siap digunakan (Soemarno, 2000).

### 3. Bahan

Bahan yang digunakan adalah media Lactose Broth (LB), media Brilliant Green Lactose Bille Broth (BGLBB), alkohol 70%, aquadest, dan sampel susu kedelai yang diambil langsung di pengolahan industry Kelurahan Gunung Sulah Bandar Lampung.

### 4. Pembuatan Media

Pembuatan media *Lactose Broth* dan *Brilliant Green Lactose Broth* untuk 2 sampel setiap kali pemeriksaan, yaitu :

#### a. *Lactose Broth Single Strenght.*

- 1) Media *Lactose Broth* (LB) ditimbang sebanyak 1,82 gram, dilarutkan di dalam 140 ml aquadest.
- 2) Media tersebut kemudian dilarutkan di atas hot plate.
- 3) Media dimasukkan masing-masing 10 ml media ke dalam 14 tabung reaksi yang telah terisi tabung durham.
- 4) Media di sterilisasi dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C (Merc, 1992).

#### b. *Lactose Broth Triple Strenght.*

- 1) Media *Lactose Broth* (LB) ditimbang sebanyak 20,46 gram, dilarutkan di dalam 175 ml aquadest.

- 2) Media tersebut dilarutkan di atas hot plate.
- 3) Media dimasukkan masing-masing 5 ml ke dalam 35 tabung reaksi yang telah terisi tabung durham.
- 4) Media di sterilisasi dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C (Merc, 1992).

c. *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB)

- 1) Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB) ditimbang sebanyak 9,8 gram, dilarutkan ke dalam aquadest sebanyak 245 ml.
- 2) Media tersebut dilarutkan di atas hot plate.
- 3) Media dimasukkan masing-masing sebanyak 5 ml ke dalam 49 tabung reaksi yang telah terisi tabung durham.
- 4) Media disterilisasi dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C (Merc, 1992).

5. Cara pengambilan sampel

- a. Pengambilan sampel dilakukan dengan membeli susu kedelai sebanyak 18 sampel saat pagi hari di pedagang menetap yaitu warung makan, warung sembako, warung nasi uduk serta pasar tradisional di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung secara bertahap, yaitu minggu pertama Kelurahan Perumnas Way Halim 4 sampel, Kelurahan Gunung Sulah 5 sampel. Minggu kedua Kelurahan Way Halim Permai 3 sampel, Kelurahan Jagabaya 1,2,3 ada 4 sampel, dan Kelurahan Gunung Sulah 2 sampel.
- b. Sampel dibeli
- c. Dibeli 9 plastik susu kedelai dari pedagang menetap yaitu warung makan, warung sembako, warung nasi uduk serta pasar tradisional di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung. Sampel dibungkus dengan wadah plastik dan diikat dengan karet. Sampel diberi label dengan mencantumkan nama dan kode sampel, tanggal pembelian, asal lokasi, dan waktu pembelian. Sampel dimasukkan ke dalam ice box yang tertutup rapat.

d. Sampel segera dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Tanjungkarang dalam waktu kurang dari 2 jam setelah sampel diambil, sampel yang waktu 0x24 jam langsung diperiksa ketika sampai di laboratorium lalu sampel lain disimpan di suhu 4°C selama 1x24 jam, 2x24 jam, 3x24 jam, 4x24 jam, 5x24 jam, 6x24 jam, kemudian setiap hari nya dilihat pertumbuhan jumlah bakteri coliform dengan menggunakan metode MPN.

#### 6. Pra Analitik

Sebelum diperiksa plastik sampel didesinfektan dengan kapas alkohol 70%. Perlakuan yang sama untuk seluruh sampel.

#### 7. Analitik

Pemeriksaan sampel dengan menggunakan metode MPN (Most Probable Number) menggunakan ragam 5 1 1, pada penelitian ini dilakukan 2 tahap pemeriksaan yaitu :

##### a. Uji Penduga (*Presumptive Test*)

- 1) Disiapkan 5 tabung yang masing-masing berisi Lactose Broth Strenght sebanyak 5 ml dan 2 tabung reaksi yang masing-masing berisi lactose broth single strength sebanyak 10 ml.
- 2) Sampel dipipet sebanyak 10 ml lalu dimasukkan kedalam tabung triple strength, sebanyak 5 tabung tabung triple strength yang masing-masing tabung diisi dengan 10 ml sampel.
- 3) Sampel dipipet sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam 1 tabung single strength.
- 4) Sampel dipipet sebanyak 0,1 ml lalu dimasukkan ke dalam 1 tabung single strength.
- 5) Sampel dan media dihomogenkan, lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.
- 6) Interpretasi Hasil :

Positif (+) : Terbentuk gas dan kekeruhan pada tabung reaksi

Negatif (-) : Tidak terbentuk gas dan tidak terjadi kekeruhan pada tabung reaksi, atau keruh saja, tidak terbentuk gelembung pada tabung durham.

- b. Uji Penegasan (Comfirmed test)
- 1) Dipindahkan 1 ose dari masing-masing media *Lactose Broth* yang positif ke dalam tabung yang berisi media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLBB).
  - 2) Tabung diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.
  - 3) Interpretasi Hasil :  
Positif (+) : Terbentuk gas dan kekeruhan pada tabung reaksi.  
Negatif (-) : Tidak terbentuk gas dan tidak terjadi kekeruhan pada tabung reaksi, atau keruh saja, tidak terbentuk gelembung gas pada tabung durham.
  - 4) Hasil pada tabung BGLBB kemudian dikonfirmasi dengan tabel MPN Formula Thomas ragam 5 1 1 sehingga diperoleh jumlah bakteri coliform (Soemarno, 2000).

Interpretasi hasil :

1. Memenuhi syarat, berdasarkan SNI (Standar Nasional Indonesia) 7388:2009 tentang batas maksimum cemaran Coliform dalam pangan yaitu <20 koloni/ml.
2. Tidak memenuhi syarat, berdasarkan SNI (Standar Nasional Indonesia) 7388:2009 tentang batas maksimum cemaran Coliform dalam pangan yaitu > 20 koloni/ml.

## F. Pengolahan dan Analisa Data

### 1. Pengolahan Data

Data diolah dengan mencatat hasil pemeriksaan total bakteri *coliform* pada susu kedelai yang disimpan di suhu kulkas selama 0x24 jam, 1x24 jam, 2x24 jam, 3x24 jam, 4x24 jam, 5x24 jam, 6x24 jam. Kemudian setiap harinya dilihat pertumbuhan bakteri *coliform* yang dikonfirmasi dengan tabel MPN Formula Thomas ragam 5 1 1 untuk mengetahui jumlah total bakteri *coliform*.

## 2. Analisa Data

Analisa data adalah uji *Anova* yaitu untuk mengetahui apakah ada pengaruh waktu dan suhu penyimpanan susu kedelai pada suhu 4°C dengan jumlah jumlah Bakteri *Coliform* berdasarkan waktu penyimpanan 0x24 jam, 1x24 jam, 2x24 jam, 3x24 jam, 4x24 jam, 5x24 jam, 6x24 jam.

### **G. Ethical Clearance (Persetujuan Etik)**

Penelitian ini menggunakan minuman susu sebagai subyek, sampel diperiksa adalah susu kedelai yang akan diperiksa secara Bakteriologi menggunakan metode MPN (Most Probable Number) ragam 5 1 1 dengan konfirmasi hasil dengan tabel Formula Thomas ragam 5 1 1 sehingga perlu dilakukan proses telaah secara etik dengan menyerahkan naskah proposal ke Komite Etik Poltekkes Tanjungkarang untuk dinilai kelayakannya. Seluruh subyek penelitian akan diberi penjelasan mengenai tujuan dan prosedur penelitian dan diminta persetujuan dengan *informed consent* tertulis. Pengambilan sampel susu kedelai dilakukan sesuai dengan standar operasional prosedur yang berlaku. Dalam proses pengambilan sampel susu kedelai terdapat kemungkinan terjadinya kontaminasi yang dapat ditangani dengan melakukan sterilisasi alat dan menggunakan APD yang baik dan benar yang disediakan oleh peneliti. Identitas subyek pemilik industri pengolahan susu kedelai dirahasiakan. Seluruh biaya yang dibutuhkan dalam penelitian ini ditanggung oleh peneliti.