

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Jenis penelitian ini adalah eksperimen dengan desain penelitian Rancangan Acak Kelompok (RAK) yaitu pengaruh suhu penyimpanan dan lama penyimpanan terhadap angka kapang pada roti kemasan produksi rumahan di Desa Gadingrejo. Variable bebas adalah suhu penyimpanan dan lama penyimpanan roti kemasan, sedangkan variable terikat adalah angka kapang pada roti kemasan.

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

##### 1. Lokasi

Pengambilan sampel roti kemasan produksi rumahan di Pabrik Roti Rumahan di Desa Gadingrejo. Pemeriksaan angka kapang dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Tanjungkarang.

##### 2. Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei – Juni 2022.

#### **C. Subjek Penelitian**

Subjek penelitian ini adalah roti kemasan produksi rumahan yang baru diproduksi dari Pabrik Roti Rumahan di Desa Gadingrejo. Jumlah sampel penelitian ini yaitu 15 sampel roti kemasan produksi rumahan dengan rumus pengulangan menggunakan rumus Federer:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(9-1) \geq 15$$

$$(n-1)(8) \geq 15$$

$$8n - 8 \geq 15$$

$$8n \geq 23$$

$$n \geq 2,875 \text{ (dibulatkan menjadi 3)}$$

#### **Keterangan :**

t = banyaknya perlakuan

n = banyaknya ulangan (Hanafiah, 1997)

## D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan definisi operasional

No	Variabel penelitian	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Roti Kemasan	Roti Kemasan produksi rumahan yang diambil dari Pabrik Roti Rumahan di Desa Gadingrejo	Panca Indra	Indra Penglihatan dan Indra perasa	Tidak berjamur dan rasa manis	Nominal
2	Suhu Penyimpanan	Suhu Penyimpanan roti kemasan produksi rumahan yang diambil dari pabrik roti rumahan di Desa Gadingrejo	Menghitung suhu penyimpanan	Thermometer	Suhu dingin (10° - 15° C) Suhu ruang (25° - 28° C)	Interval
3	Lama penyimpanan	Masa Penyimpanan roti kemasan produksi rumahan yang diambil dari pabrik roti rumahan di Desa Gadingrejo	Menghitung lama hari penyimpanan	Kalender	1 hari 2 hari 3 hari 4 hari 5 hari 6 hari 7 hari	Ordinal
4	Angka Kapang	Jumlah angka Kapang yang terkandung dalam roti kemasan dari pabrik roti rumahan di Desa Gadingrejo	Hitung Cawan	SNI 3788-2009 (maksimal 1x10 <sup>4</sup> koloni/g)	Memenuhi Syarat Tidak Memenuhi Syarat	Ordinal

## E. Teknik Pengumpulan Data

### 1. Prosedur Penelitian

- a. Mengajukan permohonan surat izin penelitian dari Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang untuk melakukan penelitian di Laboratorium Bakteriologi dan Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang.
- b. Pengumpulan bahan – bahan pemeriksaan

### 2. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara membeli roti kemasan di Pabrik Roti Rumahan di Desa Gadingrejo. Masing – masing roti kemasan

diberi label yang mencantumkan kode sampel, tanggal dan waktu pengambilan sampel, nama pabrik, kemudian diletakkan dalam box penyimpanan, lalu sampel dibawa ke Laboratorium Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, penyimpanan dilakukan dalam 2 suhu dan 7 waktu. Sampel dibawa ke laboratorium kemudian dilakukan perlakuan penyimpanan 1 – 7 hari pada kondisi suhu ruang disimpan dalam box kemudian diletakkan di ruangan di laboratorium dan suhu dingin disimpan dalam plastik yang diikat rapat kemudian diletakkan ke dalam kulkas di laboratorium.

### 3. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah cawan tuang.

### 4. Persiapan Alat dan Bahan

#### a. Alat

Oven, cawan petri, pipet ukur 1 mL dan 10 mL, incubator, autoklaf, Erlenmeyer, gelas ukur, spatula, neraca electric, batang pengaduk, hot plate, voertex, tabung reaksi, kapas, kertas kopi/Koran, lampu spiritus dan mikroskop.

#### b. Bahan

Bahan yang diperiksa roti kemasan, medium PDA (Potato Dextrose Agar), larutan kloramfenicol, PDF (Pepton Dilution Fluid) dan aquades.

### 5. Prinsip Pemeriksaan

Pertumbuhan kapang pada media PDA, setelah diinkubasi pada suhu 25°C selama 3-5 hari (SNI 2332.7:2009).

### 6. Prosedur Kerja

#### a. Sterilisasi alat

Alat gelas yang dipakai pada penelitian ini dicuci dan dikeringkan sebelumnya lalu dilapisi menggunakan kertas Koran atau kertas kopi. Disterilkan menggunakan oven pada suhu 170°C selama 60 menit (Sujaya, 2017).

b. Pembuatan larutan *Pepton Dilution Fluid* (PDF)

Timbang bubuk pepton Sebanyak 1 g, kemudian dicampurkan dengan aquades sebanyak 1 L, dipanaskan sampai larut dan homogen setelah itu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dalam tekanan 1 atm (SNI, 2009).

c. Pembuatan larutan kloramfenicol

Setiap 100 mL *Potato Dextrose Agar* (PDA) diberi 1 mL larutan 500mcg antibiotic kloramfenikol dalam 10 mL aquades (SNI, 2009).

d. Pembuatan persiapan media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) ditimbang sebanyak 39 gram kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam 1000 mL aquades, lalu dipanaskan di atas hot plate. Setelah larut sempurna dimasukkan larutan kloramfenikol (agar menghindari tumbuhnya bakteri kontaminan), kemudian medium di sterilkan pada autoklaf dalam suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm (Artanti dkk, 2018).

e. Pembuatan pengenceran sampel

Mengambil roti kemasan yang sudah diberi perlakuan penyimpanan waktu (1 sampai 7 hari) dan suhu (suhu ruang (25° - 28° C) dalam box penyimpanan di ruangan dan suhu dingin (10° - 15° C) dalam plastik di dalam kulkas). Ditimbang 25g roti kemasan, masukkan ke dalam Erlenmeyer berisi 225 mL larutan PDF hingga diperoleh pengenceran 1: 10. Homogenkan campuran beberapa kali dengan cara di vortex (SNI, 2009).

f. Prosedur pemeriksaan angka kapang

1) Pipet 1 mL pengenceran  $10^{-1}$  dari Erlenmeyer lalu masukkan ke tabung yang berisi 9 mL larutan pengenceran PDF sampai di peroleh pengenceran  $10^{-2}$ , homogenkan dengan cara di vortex.

2) Pipet 0,5 mL masing – masing sampel yang sudah dilakukan pengenceran ( $10^{-1}$  dan  $10^{-2}$ ) ke cawan petri. Tuangkan medium PDA sejumlah 15 mL ke cawan petri kemudian homogenkan dengan pola angka delapan.

- 3) Setelah media membeku, inkubasi selama 3 – 5 hari pada suhu ruang
  - 4) Pengamatan dapat dikontrol di hari ke-3 hingga hari ke-5. Koloni kapang dapat dihitung pada hari ke-5 (SNI 2332.7:2009).
- a. Identifikasi Hasil
- Identifikasi hasil dilakukan dengan pengamatan morfologi secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati warna dan tekstur koloni, sedangkan pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mengamati sediaan yang diperoleh dengan slide culture dengan bantuan mikroskop (Wibowo, 2018).

## **F. Pengolahan Data dan Analisis Data**

### 1. Pengolahan Data

Data yang dihasilkan berupa data primer yaitu data yang diperoleh peneliti berupa angka kapang dengan perlakuan suhu dan lama penyimpanan yang tumbuh pada media PDA

$$\begin{aligned} \text{Angka Kapang} &= A \times B \\ &= N \text{ koloni/gram} \end{aligned}$$

Keterangan :

A = jumlah koloni dari kedua cawan petri yang menunjukkan jumlah antara 10 – 150 koloni.

B = factor pengencer

N = angka kapang (SNI 2332.7:2009)

### 2. Analisis Data

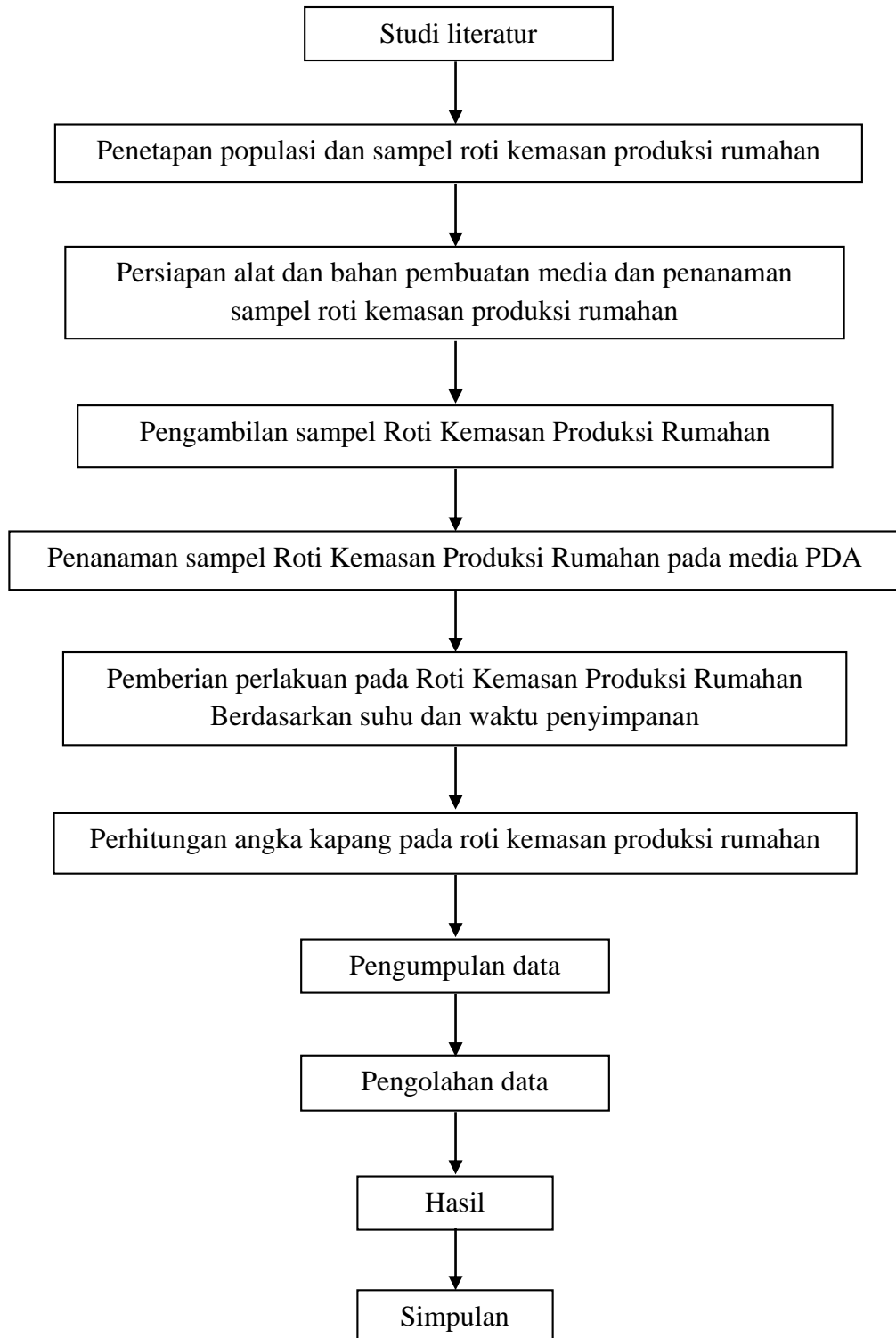
#### a. Analisis Univariat

Hasil yang didapat dari perhitungan angka kapang dianalisis dengan menggunakan analisis univariat untuk mengetahui persentase (%) pada sampel roti kemasan produksi rumahan dengan suhu penyimpanan pada suhu ruang dan suhu dingin dan lama penyimpanan 1 sampai 7 hari. Mengetahui angka kapang pada roti kemasan yang masih memenuhi syarat SNI 3788-2009 berdasarkan jumlah kapang yaitu  $1 \times 10^4$  koloni/g.

b. Analisis Bivariat

Analisis bivariat bertujuan melihat pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap angka kapang pada roti kemasan produksi rumahan dari Pabrik Roti Rumahan di Desa Gadingrejo. Data berupa jumlah angka kapang pada roti kemasan produksi rumahan kemudian diolah menggunakan uji ANOVA (Analisis of Varian). Apabila terdapat perbedaan nyata atau F hitung lebih besar dari F tabel maka dilanjutkan dengan uji BNt (Beda Nyata terkecil) pada tingkat kesalahan 5% untuk menentukan suhu dan lama penyimpanan yang paling berpengaruh terhadap angka kapang pada roti kemasan produksi rumahan

### G. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

#### ***H. Ethical Clearance***

Meskipun penelitian ini tidak memakai manusia sebagai subjek, akan tetapi tetap dilakukan kajian secara etik, rancangan proposal diserahkan ke Komite Etik Poltekkes Tanjungkarang yang telah dinilai kelayakannya dengan nomor surat No.115/KEPK-TJK/II/2023. Penelitian yang dilangsungkan oleh izin komite etik ini tidak menyebabkan bahaya untuk lingkungan. Limbah sampel roti kemasan, limbah B3, limbah larutan pengenceran dan limbah lainnya yang diperoleh dari proses penelitian ini dikumpulkan dan dimusnahkan pada penanganan limbah. Limbah dari medium cawan petri serta limbah dari kapang yang tumbuh di medium dimusnahkan menggunakan perebusan pada suhu 100° C dalam waktu 30 menit. Sisa sampel roti kemasan kemudian dibuang ke tempat pembuangan, kemudian cawan petri direbus lagi dengan ditambahkan sabun di air mengalir