

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *cross sectional*, yaitu suatu penelitian yang dilakukan untuk mendapatkan gambaran jumlah bakteri pada risol yang dijual di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung.

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

##### 1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kemenkes Tanjung Karang.

##### 2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Mei 2024.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### 1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah 60 risol yang dijual oleh pedagang jajanan pasar di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung.

##### 2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 31 risol yang dijual di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung (data dapat dilihat dalam lampiran 7).

#### **D. Variabel dan Definisi Operasional**

##### 1. Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini adalah risol yang dijual di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung.

## 2. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Risol sayur	Risol yaitu pastri berisi sayuran yang dibungkus dalam adonan tepung tipis dada yang dijual di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung	Organoleptik	Indra penglihatan, perasa	Risol: Berisi sayuran, dilapisi kulit lumpia dan tepung roti.	Ordinal
Angka Lempeng Total pada risol	Jumlah bakteri pada media PCA dari risol yang dijual di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung.	Metode Angka Lempeng Total (ALT)	Peraturan BPOM Tahun 2012	BPOM Tahun 2012 1. Memenuhi syarat $\leq 1 \times 10^5$ koloni/g. 2. Tidak memenuhi syarat $> 1 \times 10^5$ koloni/g.	Ordinal

## E. Pengumpulan Data

### 1. Prosedur Penelitian

- a. Peneliti mengajukan usulan surat izin penelitian ke Direktur Poltekkes Tanjung Karang.
- b. Setelah mendapatkan surat izin penelitian, peneliti menyiapkan alat dan bahan terlebih dahulu di Laboratorium Bakteriologi Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjung Karang.
- c. Peneliti melakukan pengambilan sampel risol di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung.
- d. Masing-masing sampel risol dimasukkan ke plastik cantumkan nama atau kode sampel, tanggal dan waktu pengambilan, lalu dimasukkan ke dalam termos atau *ice box*
- e. Sampel dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjung Karang.

### 2. Metode Pemeriksaan

Pemeriksaan sampel dilakukan dengan menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT) dan menggunakan teknik *pour plate*.

### 3. Persiapan Alat

Alat yang digunakan yaitu tabung reaksi steril, erlenmeyer steril, batang pengaduk steril, pipet ukur (1 ml, 10 ml), cawan petri, lampu spiritus, *pipet controller*, coloni counter, oven, inkubator, *autoclave*, neraca analitik, *hotplate*, *chopper*.

### 4. Sterilisasi Alat

- a. Disiapkan alat-alat yang akan digunakan, pastikan dalam keadaan bersih dan kering.
- b. Petridisk, pipet ukur, dan tabung reaksi yang ditutup kapas di bagian mulutnya dibungkus menggunakan kertas kopi.
- c. Semua alat yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam HAO (*Hot Air Oven*) dengan suhu 170°C selama 40 menit. Setelah selesai, alat-alat tersebut didinginkan dan siap digunakan (Soemarno, 2000).
- d. Khusus untuk *chopper* dibersihkan menggunakan alkohol 70%.

### 5. Bahan

Bahan yang digunakan adalah media *Plate Count Agar* (PCA),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , NaOH 1N, Aquadest, Alkohol 70%, dan sampel risol yang dijual di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung.

### 6. Pembuatan Media

- a. Pembuatan Media Plate Count Agar (PCA)
  - 1) Media PCA ditimbang sebanyak 2,625 gram dan dilarutkan ke dalam 150 ml aquadest, kemudian masukkan media ke dalam erlenmeyer steril.
  - 2) Media PCA dipanaskan menggunakan *hotplate* sampai mendidih dan larut sempurna.
  - 3) Media PCA disterilkan di dalam *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan uap 1 atm (BSN, 2015).
- b. Larutan Pengencer Buffer Phospat
  - 1)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3,4 gram ditimbang dan dilarutkan dalam 50 ml aquadest.

- 2) NaOH 1 N ditambahkan ke dalam larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sampai pH menjadi 7,2. Setelah itu, tepatkan volume larutan hingga 100 ml dengan penambahan aquadest. (Buffer phospat stock)
- 3) Larutan buffer phospat stock dipipet sebanyak 10 ml masukkan ke dalam erlenmeyer dan tepatkan hingga 1000 ml dengan penambahan aquadest (Larutan pengencer buffer phospat), kemudian homogenkan.
- 4) Setelah homogen, larutan tersebut dituang ke dalam 6 tabung reaksi masing-masing 9 ml dan tutup dengan kapas bersih.
- 5) Larutan pengencer buffer phospat dipipet sebanyak 225 ml, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup menggunakan alumunium foil.
- 6) Sterilisasi larutan buffer phospat yang ada di dalam tabung reaksi dan erlenmeyer menggunakan *autoclave* (BSN, 2015).

#### 7. Cara pengambilan sampel

- a. Pengambilan sampel dilakukan dengan membeli risol di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung dimulai pada pukul 07.00 WIB. Dalam satu wadah, sampel risol diambil di lima titik. Untuk perencanaan pengambilan sampel yaitu:

- 1) Pengambilan pertama

Pengambilan sampel dilakukan pada pedagang Eko, Tit di Jl. Gunung Rajabasa Raya dan pedagang Tat di Jl. Ki Maja.

- 2) Pengambilan kedua

Pengambilan sampel dilakukan pada pedagang Umi, Ima di Gang Dahlia dan pedagang Puj di Jl. Ki Maja.

- 3) Pengambilan ketiga

Pengambilan sampel dilakukan pada pedagang Ani, Eka di Jl. Griya Utama dan pedagang Feb di Jl. Pulau Batam.

- 4) Pengambilan keempat

Pengambilan sampel dilakukan pada pedagang Rim, Irf di Jl. Alam Flora dan Pedagang Fir di Jl. Pulau Buru.

- 5) Pengambilan kelima  
Pengambilan sampel dilakukan pada pedagang Pen di Jl. Urip Sumoharjo dan pedagang Rat, Sri di Jl. Griya Kusuma.
  - 6) Pengambilan keenam  
Pengambilan sampel dilakukan pada pedagang Umi, Ind, Irn di Jl. Pajajaran.
  - 7) Pengambilan ketujuh  
Pengambilan sampel dilakukan pada pedagang Pur, Pua di Jl. Danau Toba.
  - 8) Pengambilan kedelapan  
Pengambilan sampel dilakukan pada pedagang Eko, Tit di Jl. Gunung Rajabasa; pedagang Tat di Jl. Ki Maja; pedagang Isn di Jl. Danau Toba; pedagang Uci di Jl. Sasonoloyo I; pedagang Rim di Jl. Alam Flora; pedagang Abd di Jl. Pulau Morotai.
  - 9) Pengambilan kesembilan  
Pengambilan sampel dilakukan pada pedagang Yen, Ser, Rir di Jl. Arif Rahman Hakim; pedagang Les, Zak di Jl. Pulau Buton Raya; pedagang Hen, Eka di Jl. Pulau Buton; pedagang Rir di Jl. Pulau Bacan.
- b. Sampel dimasukkan ke dalam plastik lalu diikat dan diberi label. Cantumkan kode sampel, tanggal pengambilan, lokasi, dan waktu pengambilan. Sampel dimasukkan ke dalam termos atau *ice box*.
  - c. Sampel dalam waktu kurang dari 2 jam sudah sampai di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis dan harus sudah diperiksa dikarenakan bakteri belum mengalami proses metabolisme.
  - d. Sebelum diperiksa, plastik sampel didesinfeksi dengan kapas alkohol 70% dan lakukan hal yang sama pada semua sampel.
8. Prosedur pemeriksaan
    - a. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. *Chopper* yang digunakan dibersihkan terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%. *Chopper* digunakan untuk menghaluskan sampel.

- b. Sampel sebanyak lima buah dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan *chopper* selama 2 menit.
- c. Sampel ditimbang sebanyak 25 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 225 ml larutan pengencer buffer fosfat untuk pengenceran  $10^{-1}$ .
- d. Sampel makanan pada pengenceran  $10^{-1}$  dipipet sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan ke tabung 1 yang berisi 9 ml larutan pengencer buffer fosfat (pengenceran  $10^{-2}$ ).
- e. Larutan sampel makanan yang sudah diencerkan pada tabung 1 dipipet sebanyak 1 ml masukkan ke dalam tabung 2 (pengenceran  $10^{-3}$ ).
- f. Larutan sampel makanan yang sudah diencerkan pada tabung 2 dipipet sebanyak 1 ml masukkan ke dalam tabung 3 (pengenceran  $10^{-4}$ ).
- g. Larutan sampel makanan yang sudah diencerkan pada tabung 3 dipipet sebanyak 1 ml masukkan ke dalam tabung 4 (pengenceran  $10^{-5}$ ).
- h. Larutan sampel makanan yang sudah diencerkan pada tabung 4 dipipet sebanyak 1 ml masukkan ke dalam tabung 5 (pengenceran  $10^{-6}$ ).
- i. Larutan sampel makanan yang sudah diencerkan pada tabung 5 dipipet sebanyak 1 ml, buang untuk menyamakan volume.
- j. Tabung 6 digunakan sebagai kontrol. Hanya berisi 9 ml larutan buffer fosfat.
- k. Dari masing-masing pengenceran dipipet sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah diberi label.
- l. Media Plate Count Agar suhu  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  dituang sebanyak 12 ml ke dalam masing-masing cawan petri. Kemudian dihomogenkan.
- m. Media Plate Count Agar didiamkan hingga membeku, kemudian inkubasi pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam dalam posisi cawan terbalik (BSN, 2015).

## 9. Perhitungan Koloni pada Plate

- a. Jumlah koloni per-plate yang dapat dihitung yaitu antara 30 hingga 300 koloni.
- b. Pada plate control jumlah koloni yang boleh tumbuh maksimal 5 koloni.
- c. Koloni besar, kecil, menjalar dan beberapa koloni yang bergabung menjadi satu dihitung sebagai satu koloni.
- d. Perhitungan dapat dilakukan secara manual dengan memberi tanda titik menggunakan spidol pada cawan petri untuk koloni yang sudah dihitung. Dapat juga menggunakan *coloni counter*.
- e. Tiap-tiap plate dari pengenceran yang berbeda dihitung jumlah koloninya.
- f. Angka/jumlah kuman/bakteri per 1gram/1 cc sampel yang diperiksa dapat diperoleh dengan mengalikan pengencerannya (Soemarno, 2000).
- g. Koloni *spreader*
  - 1) Tipe 1: Rantai koloni, apabila hanya ada satu rantai maka dinyatakan sebagai 1 koloni. Jika satu atau lebih rantai terlihat berasal dari sumber yang berbeda, maka laporkan masing-masing sumber sebagai 1 koloni.
  - 2) Tipe 2: *Spreader* berasal dari lapisan air antara agar dan dasar cawan. Umumnya berasal dari koloni yang berbeda, laporkan masing-masing sebagai 1 koloni.
  - 3) Tipe 3: *Spreader* berasal dari lapisan air pada pinggir cawan atau pada permukaan agar. Biasanya berasal dari koloni yang berbeda, maka laporkan masing-masing sebagai 1 koloni (Maturin *et al.*, 2001).

Perhitungan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Jumlah (koloni/g)} = \frac{(\sum KP - K) \times P1 + (\sum KP - K) \times P2 + \dots + P \text{ ke } N}{\sum P}$$

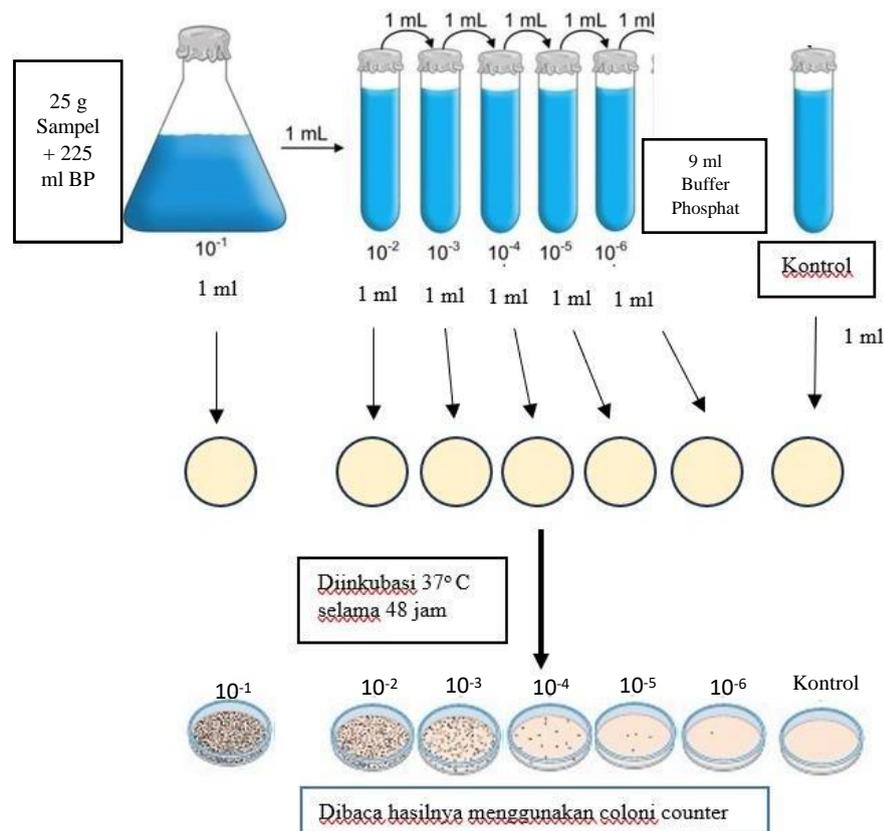
Keterangan:

$\sum KP$  : Jumlah koloni sesuai dengan pengenceran

K : Jumlah koloni pada control

- P1 : Pengenceran  $10^{-1}$   
 P2 : Pengenceran  $10^{-2}$   
 $\Sigma P$  :Jumlah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri 30-300 koloni/plate

### Skema Kerja Angka Lempeng Total Bakteri



Gambar 3. 1 Skema Kerja Angka Lempeng Total Bakteri.

## F. Pengolahan dan Analisa Data

### 1. Pengolahan Data

Data diolah dengan mencatat koloni bakteri yang tumbuh dari penanaman sampel ini apakah memenuhi syarat atau tidak memenuhi syarat sesuai jumlah ALT risol pada BPOM Tahun 2012.

### 2. Analisis Data

Analisis data menggunakan analisa univariat yaitu untuk mendapatkan persentase risol yang dijual di Kecamatan Way Halim Kota Bandar Lampung yang memenuhi syarat dan tidak memenuhi syarat sesuai BPOM Tahun 2012.