

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Jenis penelitian ini adalah deskriptif. Desain penelitian yang digunakan adalah *Cross sectional*, yaitu penelitian yang dilakukan untuk mendapatkan gambaran cemaran mikroba pada onde-onde yang dijual di pasar tradisional Kota Bandar Lampung tahun 2024.

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

##### 1. Lokasi

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjung Karang.

##### 2. Waktu

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Mei 2024

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

##### 1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah sebanyak 51 onde-onde dari setiap pedagang kue jajanan pasar di pasar tradisional Kota Bandar Lampung.

##### 2. Sampel

Sampel yang digunakan adalah seluruh populasi berjumlah 30 onde-onde dari setiap pedagang kue jajanan pasar di pasar tradisional Kota Bandar Lampung. Kriteria inklusi: sampel diambil dari distributor berbeda.

#### D. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Onde- onde	Onde- onde adalah makanan berbentuk bulat berwarna keemasan dengan taburan wijen dan berisi kacang hijau yang dijual dalam kondisi terbuka di pasar tradisional Kota Bandar Lampung	Organoleptik	Indra penglihatan dan perasa	Onde- onde: Berisi kacang hijau dan terdapat taburan wijen	Ordinal
Angka Lempeng Total	Uji angka lempeng total merupakan metode yang digunakan untuk menghitung jumlah bakteri dalam setiap gram onde- onde yang dijual di pasar tradisional Kota Bandar Lampung	Angka Lempeng Total (ALT)	BPOM Tahun 2012	Menurut BPOM Tahun 2012 1. Memenuhi syarat apabila jumlah koloni $\leq 1 \times 10^5$ koloni/g. 2. Tidak memenuhi syarat apabila jumlah koloni $> 1 \times 10^5$ koloni/g.	Ordinal

#### E. Pengumpulan Data

##### 1. Prosedur penelitian

- a. Peneliti mengajukan permohonan surat izin penelitian ke Direktur Politeknik Kesehatan Tanjung Karang.
- b. Setelah mendapatkan surat izin penelitian, peneliti mulai menyiapkan alat dan bahan yang akan di gunakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
- c. Peneliti melakukan pengambilan sampel dengan datang ke penjual onde-  
onde di pasar tradisonal Kota Bandar Lampung secara bertahap.

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Pengambilan pertama: pedagang And di Pasar Untung Suropati.
  - 2) Pengambilan kedua: pedagang Mis, Rok, dan Ham di Pasar Way Dadi Sukarame.
  - 3) Pengambilan ketiga: pedagang Sar dan Sum di Pasar Rakyat Tani.
  - 4) Pengambilan keempat: pedagang Dia, Ani, dan Ber di Pasar Way Halim Permai.
  - 5) Pengambilan kelima: pedagang Dwi dan Tik di Pasar Rakyat Way Halim.
  - 6) Pengambilan keenam: pedagang Min dan End di Pasar Perumnas Way Kandis; pedagang Rat dan Fik di Pasar Tamin.
  - 7) Pengambilan ketujuh: pedagang Adi di Pasar Rajabasa Raya; pedagang Ade di Pasar Tempel Stasiun Labuhan Ratu; pedagang Sam di Pasar Terminal Rajabasa; pedagang Ros dan Ani di Pasar Cimeng; pedagang Agu dan Nan di Pasar Kangkung.
  - 8) Pengambilan kedelapan: pedagang Sid dan Sap di Pasar Panjang; pedagang Lus di Pasar Gudang Lelang; pedagang Cas, Des, dan Suc di Pasar Tugu; pedagang Puj di Pasar Koga.
- d. Masing-masing sampel onde-onde dimasukkan ke dalam plastik yang sudah diberi kode tanggal dan waktu pengambilan.
- e. Sampel dibawa ke laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjung Karang menggunakan *ice box cooler*.

## 2. Metode Pemeriksaan

Pemeriksaan dilakukan menggunakan uji Angka Lempeng Total (ALT) metode tuang (*pour plate*).

## 3. Persiapan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi steril, rak tabung, cawan petri steril, erlenmeyer steril, lampu spiritus, pipet ukur (1 ml dan 10 ml) steril, pipet controller, oven, *autoclave*, inkubator, *hot plate*, batang pengaduk steril, spatula steril, *colony counter*, timbangan, *chopper*, dan *ice box cooler*.

#### 4. Persiapan Bahan

Bahan yang digunakan yaitu media *Plate Count Agar* (PCA), NaOH 1 N,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , aquadest.

#### 5. Sterilisasi Alat

- a. Alat-alat gelas disiapkan.
- b. Pipet ukur dan cawan petri dibungkus menggunakan kertas kopi, untuk tabung reaksi dan erlenmeyer tutup mulut tabung dengan aluminium foil kemudian bungkus menggunakan kertas kopi.
- c. Alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam oven.
- d. Steril alat dilakukan dengan suhu  $160^\circ\text{C}$  selama 1 jam (Soemarno, 2000).

#### 6. Pembuatan Media

##### a. Pembuatan Media *Plate Count Agar* (PCA)

- 1) Media PCA bubuk ditimbang 2,625 gr, larutkan ke dalam 150 ml aquadest.
- 2) Media dipanaskan hingga mendidih dan larut sempurna menggunakan *hot plate*.
- 3) Media yang telah larut dengan sempurna kemudian disterilkan di *autoclave* selama 15 menit pada suhu  $121^\circ\text{C}$  (BSN, 2015).

##### b. Pembuatan Larutan Pengencer Buffer Phospat

- 1) Untuk membuat larutan buffer phospat stock,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ditimbang sebanyak 3,4 gr kemudian dilarutkan dalam 50 ml aquadest.
- 2) NaOH 1 N ditambahkan ke dalam larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sampai pH 7,2, kemudian tepatkan volume larutan hingga 100 ml dengan aquades.
- 3) Larutan buffer phospat stock dipipet sebanyak 10 ml dan masukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian tepatkan hingga 1 L aquades dan homogenkan.
- 4) Larutan pengencer buffer phospat dipipet ke dalam 6 tabung reaksi masing-masing tabung reaksi berisi 9 ml kemudian tutup dengan kapas.
- 5) Larutan pengencer buffer phospat dipipet ke dalam erlenmeyer sebanyak 225 ml, tutup dengan aluminium foil.

- 6) Larutan pengencer buffer fosfat yang telah dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan erlenmeyer disterilisasi dengan *autoclave* (BSN, 2015).

#### 7. Cara pengambilan sampel onde-onde

- a) Peneliti datang ke lokasi penjual onde-onde dimulai pada pukul 07.00 dan kemudian peneliti membeli onde-onde tersebut.
- b) Pengambilan sampel onde-onde dari satu wadah diambil pada 5 titik.
- c) Sampel dimasukkan ke dalam plastik kemudian diikat dengan karet dan diberi label yang berisi kode sampel, tanggal dan waktu pengambilan.
- d) Sampel onde-onde dimasukkan ke dalam *ice box cooler*.
- e) Sampel langsung di bawa ke laboratorium bakteriologi jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjung Karang dengan memperhatikan hal-hal sebagai berikut:
  - 1) Untuk mencegah sifat sampel berubah saat diambil, dikemas, dan dibawa ke laboratorium, maka sampel disimpan dalam *ice box cooler*.
  - 2) Sampel harus diperiksa kurang dari 2 jam untuk mencegah kemungkinan yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Dalam waktu < 2 jam bakteri masih berada pada fase lag, yaitu fase penyesuaian bakteri pada lingkungan baru dimana pada fase ini bakteri biasanya mensintesis RNA, enzim, dan metabolit penting yang mungkin hilang dari lingkungan barunya. Apabila > 2 jam bakteri mulai memasuki fase eksponensial dan membelah, ditandai dengan terjadinya penggandaan populasi dimana satu sel menjadi dua sel, menjadi empat sel, menjadi delapan sel dst.
- f) Sampel yang terkumpul dikeluarkan dari *ice box cooler* dan dilakukan pemeriksaan.

#### 8. Pemeriksaan Angka Lempeng Total dengan Metode *Pour Plate*

- a. Pemeriksaan sampel onde-onde
  - 1) Alat dan bahan disiapkan.
  - 2) Sampel diiris menjadi bagian kecil kemudian dihaluskan menggunakan *chopper* selama 2 menit.

- 3) Sampel yang telah dihaluskan ditimbang secara aseptik sebanyak 25 gr kemudian dimasukkan ke dalam wadah steril. Sampel yang telah ditimbang ditambahkan 225 ml larutan buffer fosfat dan homogenkan. Homogenant ini merupakan pengenceran  $10^{-1}$ .
  - 4) Sampel makanan pada pengenceran  $10^{-1}$  dipipet menggunakan pipet steril sebanyak 1 ml dan masukkan ke dalam tabung 1 yang berisi 9 ml larutan buffer fosfat untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-2}$ .
  - 5) Sampel makanan pada pengenceran  $10^{-2}$  dipipet 1 ml, masukkan ke tabung 2 yang berisi 9 ml larutan buffer fosfat untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-3}$ .
  - 6) Sampel makanan pada pengenceran  $10^{-3}$  dipipet 1 ml, masukkan ke tabung 3 yang berisi 9 ml larutan buffer fosfat untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-4}$ .
  - 7) Sampel makanan pada pengenceran  $10^{-4}$  dipipet 1 ml, masukkan ke tabung 4 yang berisi 9 ml larutan buffer fosfat untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-5}$ .
  - 8) Sampel makanan pada pengenceran  $10^{-5}$  dipipet 1 ml, masukkan ke tabung 5 yang berisi 9 ml larutan buffer fosfat untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-6}$ .
  - 9) Pada tabung 5 larutan sampel makanan dipipet sebanyak 1 ml kemudian buang.
  - 10) Pada tabung 6 hanya berisi larutan buffer fosfat yang berfungsi sebagai kontrol (BSN, 2015).
- b. Penuangan Media *Plate Count Agar* (PCA)
- 1) Sampel dipipet sebanyak 1 ml dari setiap pengenceran dan masukkan ke dalam cawan petri steril.
  - 2) Media *Plate Count Agar* (PCA) yang sudah didinginkan hingga mencapai suhu  $45^{\circ}\text{C}$  ditambahkan sebanyak 12 ml ke dalam masing-masing cawan petri yang berisi sampel dan homogenkan.
  - 3) Setelah media agar menjadi padat, inkubasi cawan-cawan tersebut dengan posisi terbalik dalam inkubator pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam (BSN, 2015).

c. Perhitungan Jumlah Koloni pada Plate

- 1) Jumlah koloni pada plate yang boleh dihitung yaitu 30-300 koloni.
- 2) Pada plate control jumlah koloni maksimal 5 koloni.
- 3) Koloni *spreader* dibedakan menjadi 3 tipe, yaitu
  - a) *Spreader* tipe 1 membentuk rantai koloni, dimana koloni saling menyambung karena bakteri yang berkelompok. Pada tipe spreader ini jika hanya terdapat 1 rantai, maka nyatakan sebagai 1 koloni. Jika rantai berasal dari sumber yang berbeda, masing-masing sumber dilaporkan sebagai satu koloni.
  - b) *Spreader* tipe 2 yaitu spreader yang berasal dari lapisan air antara agar dan dasar cawan, dilaporkan masing-masing satu koloni jika berasal dari koloni yang berbeda.
  - c) *Spreader* tipe 3 yaitu spreader yang berasal dari lapisan air pada pinggir cawan atau pada permukaan agar, apabila berasal dari koloni yang berbeda, maka laporkan masing-masing 1 koloni (BSN 2015).
- 4) Perhitungan dapat dilakukan secara manual dengan memberi tanda titik pada plate menggunakan spidol.
- 5) Perhitungan juga dapat menggunakan coloni counter.
- 6) Tiap-tiap plate dari pengenceran berbeda dihitung jumlah koloninya.
- 7) Dengan mengalikan pengencerannya akan diperoleh angka/jumlah kuman/bakteri per 1 gr/1 cc sampel yang diperiksa (Soemarno, 2000).

Perhitungan menggunakan rumus sebagai berikut :

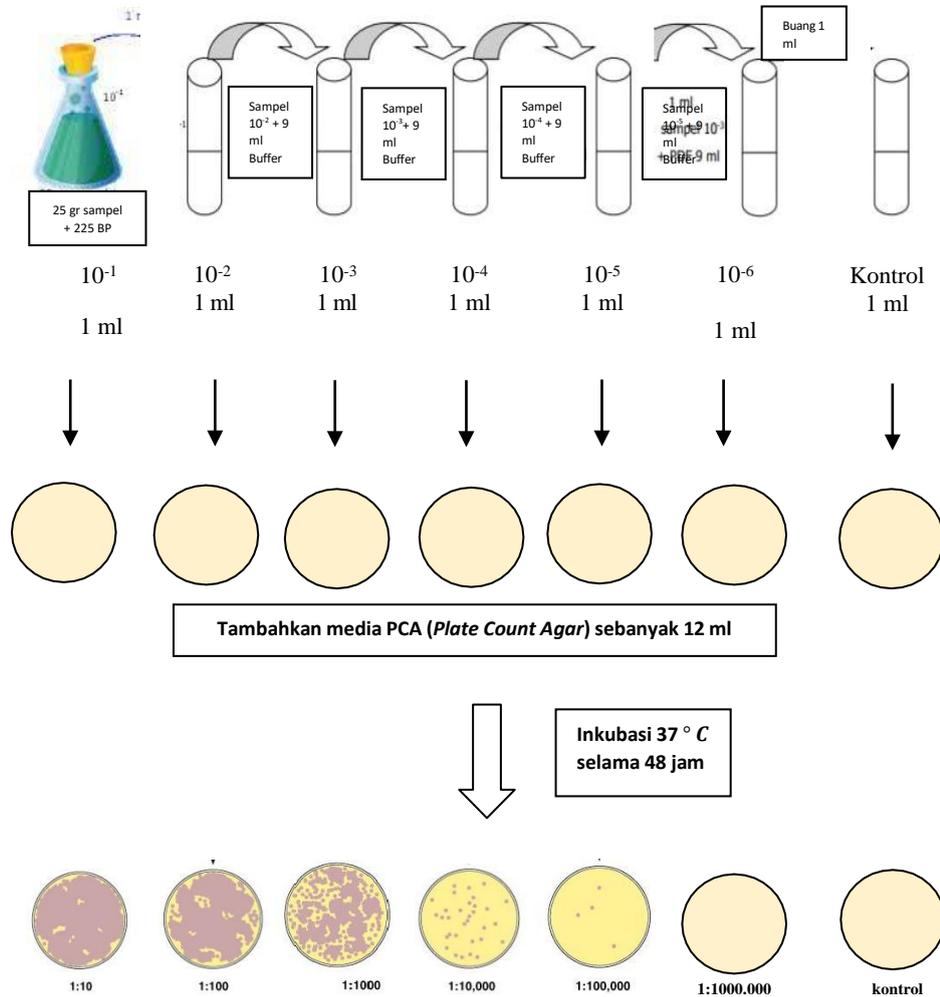
$$\text{Jumlah (koloni/g)} = \frac{(\sum KP - K) \times P_1 + (\sum KP - K) \times P_2 + \dots + P \text{ ke } N}{\sum P}$$

Keterangan :

- |                |   |
|----------------|---|
| $\sum KP$      | : Jumlah koloni sesuai dengan pengenceran |
| K              | : Jumlah koloni pada control              |
| P <sub>1</sub> | : Pengenceran 10 <sup>-1</sup>            |
| P <sub>2</sub> | : Pengenceran 10 <sup>-2</sup>            |

$\Sigma P$  : Jumlah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri 30-300 koloni/plate.

d. Skema Kerja Metode Angka Lempeng Total



Gambar 3.1 Skema Kerja Metode Angka Lempeng Total.

**F. Pengolahan dan Analisa Data**

1. Pengolahan Data

Data diolah dengan mencatat hasil pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT) di laboratorium kemudian dikonfirmasi dengan BPOM Tahun 2012 tentang pedoman kriteria cemaran pada pangan siap saji dan pangan industri rumah tangga untuk mengetahui sampel yang memenuhi syarat dan tidak memenuhi syarat.

2. Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah analisis univariat yaitu untuk mendapatkan persentase onde-onde di pasar tradisional Kota Bandar

Lampung yang memenuhi syarat dan tidak memenuhi syarat sesuai BPOM Tahun 2012 tentang pedoman kriteria cemaran pada pangan siap saji dan pangan industri rumah tangga.