

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah survey deskriptif. Jenis penelitian kuantitatif yang tujuannya penelitian pemeriksaan Total Plate Count (TPC) untuk menghitung angka kuman pada es buah yang dijual di wilayah Martapura.

#### **3.2 Populasi dan sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi dalam penelitian ini yaitu 5 penjual es buah di wilayah Martapura 30 April – 6 juni tahun 2024.

##### **2. Sampel**

Pada penelitian ini menggunakan sampel es buah pada pedagang penjual es buah. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini yaitu *purposive sampling*, dimana teknik penentuan sampel berdasarkan pengambilan sampel dengan menentukan varian rasa seperti es buah mangga, es buah alpukat, es buah, milk jelly, es buah sirsak, es capucino cincau, es coklat, green tea, thai tea, es melon, es jeruk, lemon tea, salted caramel, permen karet, dan pada 5 penjual es buah dengan total semua sampel ada 15 sampel.

### 3.3 Variabel dan Definisi Operasional

#### a. Variabel

Variabel penelitian ini adalah *Total Plate Count* (TPC) pada minuman es buah

#### b. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Skala ukur	Alat ukur	Satuan
1	Jumlah angka kuman	Jumlah angka kuman pada minuman es buah dengan 3 macam varian menggunakan metode TPC	Rasio	Colony Counter	CFU/ml

#### c. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan adalah aquadest steril, media *Plate Count Agar* (PCA), es buah, label, kapas, spiritus, korek api, masker, dan sarung tangan (*handscoon*).

#### d. Instrumen Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator, erlenmeyer, pipet ukur, mikropipet, tip steril, tabung reaksi, rak tabung reaksi, neraca analitik, oven, autoklaf, gelas ukur, beaker glass, *hot plate*, batang pengaduk lampu spiritus, cawan petri dan *colony counter*.

**e. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Lokasi penelitian ini akan dilakukan di laboratorium mikrobiologi Universitas Borneo Lestari pada tanggal 30 april – 6 juni 2024.

**3.4 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data**

**1. Data Primer**

Data primer yang dikumpulkan peneliti sendiri yang diperoleh langsung ditempat penelitian yaitu hasil dari gambaran Total Plate Count (TPC) pada es buah penjual es buah di wilayah Martapura.

**2. Izin Penelitian**

Dimulai dari meminta izin penelitian di Kampus Universitas Borneo Lestari Fakultas Ilmu Kesehatan dan Sains Teknologi program studi Diploma III Analis Kesehatan, kemudian menyerahkan surat ke bagian Depo Universitas Borneo Lestari untuk melakukan pemeriksaan parameter TPC

**3.5 Prosedur Pemeriksaan Sampel**

**1. Prosedur Pengambilan Sampel**

- a. Disiapkan alat dan bahan.
- b. Sampel es buah pada jajanan es buah dibeli pada pedagang es buah di wilayah Martapura. Sampel diberi label.
- c. Dilanjutnya dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Universitas Borneo Lestari.

## 2. Pembuatan Media

1. Serbuk media Plate Count Agar (PCA) sebanyak 22,5 gram dilarutkan dengan aquadest 1 L dalam erlenmeyer.
2. Media dipanaskan di atas hotplate sambil di aduk sampai homogen.

### 1. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat ada 2 macam cara kerja yaitu sterilisasi basah untuk bahan-bahan (autoklave) dan sterilisasi kering untuk alat oven

#### 1. Autoklaf

- a. Pertama buka tutupnya dengan cara sedikit diputar
- b. Dipastikan air yang cukup tidak kurang tidak melebihi garis batas, jika kurang tambahkan sampai batas dan jangan melebihi batas karena akan membuat goyang.
- c. Diletakkan media di dalam autoklaf, setelah itu pasang tutup kembali pastikan tanda panah searah dengan garis lalu putar putaran secara berlawanan, dan tutup katupnya
- d. Disambungkan pada saluran listrik, dan nyalakan tombol on/off nya, lalu atur suhu hingga  $121^{\circ}\text{C}$  dan pertahankan hingga 15 menit
- e. Jika sudah, tunggu jarum menunjukkan angka 0 kemudian matikan dan putar kembali tekanan sampai habis. Buka tutup perlahan-lahan mengurangi panas yang ada, kemudian buka tutup dengan perlahan.

## 2. Oven

- a. Dibungkus alat yang akan disterilkan di dalam oven menggunakan aluminium foil.
- b. Dihubungkan alat dengan sumber listrik
- c. Dihidupkan timer sesuai kebutuhan tunggu suhu oven sesuai kebutuhan.
- d. Dimasukan alat laboratorium yang ingin disterilkan kemudian atur dengan rapi dan setelah itu tutup pintu oven.
- e. Setelah selesaikan biarkan terlebih dahulu peralatan laboratorium mendingin didalam oven, setelah mendingin keluarkan alat yang sdh disterilkan dan tata kembali peralatan laboratorium dengan rapi.
- f. Jika oven tidak digunakan lagi matikan sumber listrik.

## 3. Persiapan Sampel

Metode pengujian Angka Lempeng Total (TPC) merujuk pada cara uji cemaran mikroba sesuai dengan SNI 19-2897-1992.

### a. Homogenisasi Sampel

1. Dilakukan dengan cara aseptis, pipet masing-masing es buah sebanyak 1 ml dan dilakukan pengenceran 1:9 dengan NaCl 0,9% steril, dimasukan kedalam tabung reaksi.
2. Dihomogenisasi dengan cara digoyangkan sampai homogen sehingga didapat sampel dengan pengenceran  $10^{-1}$ .

### b. Pengenceran Sampel

1. Dipipet 1 ml dari pengenceran  $10^{-1}$  kemudian dimasukkan ke dalam tabung ke dua yang berisi 9 ml NaCl 0,9% steril dan dihomogenkan dengan cara memipet keluar masuk dalam tabung hingga disebut pengenceran  $10^{-2}$ .
2. Dipipet 1 ml dari pengenceran  $10^{-2}$  kemudian dimasukkan ke dalam tabung ke tiga yang berisi 9 ml NaCl 0,9% steril dan dihomogenkan dengan cara memipet keluar masuk dalam tabung disebut pengenceran  $10^{-3}$ .
3. Dipipet 1 ml dari pengenceran ke  $10^{-3}$  kemudian dimasukkan ke dalam tabung ke empat yang berisikan 9 ml NaCl 0,9% steril dan dihomogenkan dengan cara memipet keluar masuk dalam tabung disebut pengenceran  $10^{-4}$ .

### **3.6 Pengujian Total Plate Count (TPC)**

#### **a. Inokulasi dan Inkubasi Sampel**

1. Diambil 1 ml dari masing-masing pengenceran sampel dan diinokulasikan pada cawan petri kosong.
2. Dituangkan media agar yang masih cair.
3. Dicampurkan media dengan sampel dengan memutar cawan petri mengikuti pola angka delapan kemudian diamkan 15 menit.
4. Diinkubasi sampel pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam dengan posisi terbalik
5. Hasil pertumbuhan koloni pada media agar.
6. Jumlah TPC dihitung dengan menggunakan Coloni Counter.

7. Didapatkan hasil TPC.

### **b. Interpretasi Hasil**

Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni yang ada pada cawan. Perhitungan jumlah koloni dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni pada setiap seri pengenceran kecuali cawan petri yang berisi koloni menyebar (*spreader colonies*). Pilih cawan yang memiliki jumlah koloni 25 sampai 250.

Rumus perhitungan (SNI, 2897: 2008) :

$$\sum \text{Koloni (CFU/ml)} = \frac{(\text{koloni kuman x kontrol}) \times \frac{1}{\text{Pengenceran}}}{\sum \text{cawan Petri yang dihitung}}$$

## **3.7 Cara pengolahan data dan Analisa data**

### **1. Pengolahan Data**

Data yang diperoleh akan diolah secara manual menggunakan komputerisasi, setelah data terkumpul kemudian dilakukan *editing* dari hasil pengamatan penelitian dilakukan dengan pemberian kode, dan tabulasi.

### **2. Analisa Data**

#### **a. Data Cemarannya Angka Kuman Pada Es Buah**

Dilakukan perhitungan jumlah koloni dengan menghitung jumlah koloni dengan memilih cawan yang mempunyai jumlah koloni 25 sampai dengan 250 dengan menggunakan *colony counter*. Interpretasi hasil

dilakukan dengan melihat jumlah koloni yang terhitung pada cawan dengan berpatokan pada batas maksimum yang dianjurkan pada SNI 7388:2009.

Dalam penelitian ini, Data disajikan dalam bentuk tabel yang disesuaikan dengan variabel yang dipilih, agar dapat dianalisis sampel es buah mangga, es buah sirsak, dan es buah naga yang tercemar mikroba pada jajanan es buah.



