

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian deskriptif adalah penelitian dengan metode untuk menggambarkan hasil penelitian. Jenis penelitian deskriptif memiliki tujuan untuk memberikan deskripsi, penjelasan, dan juga validasi mengenai fenomena yang tengah diteliti. Pada jenis penelitian deskriptif yang dirumuskan harus layak untuk diangkat, mengandung nilai ilmiah, dan bersifat tidak terlalu luas (Ramdhan, 2021). Penelitian ini memberikan gambaran terhadap objek yang diteliti pada jamu gendong yang berada pada Kecamatan Klojen Kota Malang berdasarkan data yang telah diambil secara umum. Penelitian ini digunakan secara observasional dengan mengumpulkan data dan dilakukan pengamatan langsung pada objek penelitian.

3.2 Waktu dan Lokasi

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari hingga Februari pada tahun 2024. Lokasi penelitian ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Tabung reaksi (iwaki dan pyrex 10 ml), neraca analitik (HWH), beaker glass (iwaki dan pyrex 100 ml dan 1000 ml), hotplate (Thermo), Erlenmeyer (iwaki dan pyrex 100 ml dan 1000 ml), autoklaf (GEA), laminar air flow, spatula, Batang pengaduk, pipet ukur (Iwaki 10 ml), inkubator (Memmert), cawan petri, bola pump, rak tabung, colony counter (In scient pro), lemari pendingin, mikropipet (Qlinipette), stirrer, tipcone pipet, gelas ukur (Iwaki 100 ml), vortex (Thermolyn).

3.3.2 Bahan

Aquades, media PCA (Plate Count Agar)(1.05463.0500), media PDA (Potato Dextrose Agar)(1.10130.0500), jamu gendong (kunyit asam), NaCl 0,9% (Otsu), alkohol, kertas perkamen, kapas (wacana 30 g), aluminium foil (Klin pak).

3.4 Variabel penelitian

3.6.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu jamu gendong yang ada di kecamatan klojen malang dengan satu merk jamu yang digunakan pada penelitian ini dengan metode ALT dan AKK.

3.6.2 Variabel tetap

Variabel tetap pada penelitian ini yaitu jumlah angka kapang khamir dan angka lempeng total pada jamu gendong yang ada pada kecamatan klojen.

3.5 Definisi operasional

Tabel definisi operasional variabel

Variabel	Definisi operasional	Skala	Alat ukur	Kriteria Penilaian
jamu gendong	jumlah koloni dalam jamu gendong yang ada di kecamatan klojen malang pada titik pengambilan pedagang pada titik jalan tawangmangu, jalan bareng dan jalan pasar besar dan dalam bentuk botol yang dibuka tutup oleh penjual	Rasio	Angka Lempeng total (ALT) dan Angka Kapang Khamir (AKK)	Angka lempeng total $\leq 10^5$ koloni/ml dan angka kapang khamir $\leq 10^3$ koloni/ml.

3.6 Prosedur penelitian

3.6.1 Pengambilan sampel

Pengambilan sampel yaitu 3 sampel yang dibeli pada pedagang yang berbeda yaitu sampel jamu kunyit asam dengan teknik random sampling dengan membeli sampel pedagang jamu gendong di pinggir jalan pada wilayah kecamatan Klojen, malang dan tempat pengambilan sampel yaitu di jalan tawangmangu, jalan bareng, dan jalan pasar besar

3.6.2 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan secara deskriptif pada jamu gendong dilakukan dengan uji mutu terhadap warna, rasa, bau, dan tekstur. Uji organoleptik rasa dilengkapi dengan sampel jamu yang akan diuji dengan menyiapkan air minum, tisu, meja dan kursi (SNI 01-23456-2006)

3.6.3 Preparasi sampel

Sampel jamu gendong yang telah terkocok pada saat perjalanan sebelum sampai tempat laboratorium uji didiamkan sampai endapan turun. Pipet 10 ml sampel jamu gendong secara aseptis masukkan ke dalam Erlenmeyer, setelah itu tambahkan larutan NaCl 0,9% sebanyak 90 ml (SNI 2897:2008).

3.6.4 Sterilisasi alat

Cawan petri, tabung reaksi ditutup dengan kapas, pipet volume ditutup kapas bungkus menggunakan kertas dan ikat rapat. Erlenmeyer ditutup kapas dan kertas perkamen lalu masukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121° C tunggu selama 15 menit. Tujuan pembungkusan ini untuk mencegah atau mengurangi air masuk kedalam alat (Santoso and Astriani, 2022).

3.6.5 Pembuatan media PCA

Menimbang serbuk plate count agar (PCA) sebanyak 17 gram dengan dilarutkan dengan 750 mL aquades steril, lalu dipanaskan dan diaduk hingga larutan menjadi kuning jernih menggunakan hot plate dan magnetic stirrer. Proses sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. setiap cawan petri dituang sebanyak 15-20 ml media PCA yang dicairkan pada suhu $45^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Zubaidah et al., 2022). Media PCA memiliki pH optimal yaitu 7 pada suhu 25°C sehingga media baik untuk pertumbuhan bakteri (Angraeni, 2021).

3.6.6 Pembuatan media PDA

Media Potato Dextrosa Agar (PDA) dibuat dengan cara menimbang sebanyak 30 gram Potato Dextrosa Agar kemudian dilarutkan dalam aquades 750 mL. Selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit. Setiap cawan petri, dituang sebanyak 20 mL media PDA yang dicairkan pada suhu $45^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Saweng et al., 2020). pH pada media PDA memiliki pH yang rendah yaitu 4,5-5,6 sehingga menghambat pertumbuhan bakteri yang membutuhkan pH netral yaitu 7 dan suhu optimum 25°C (Rohmi et al., 2019).

3.6.7 Pengenceran sampel

Pipet 10 ml sampel jamu gendong secara aseptis masukkan ke dalam Erlenmeyer, setelah itu tambahkan larutan NaCl 0,9% sebanyak 90 ml diberi label 10^{-1} (SNI 2897:2008). Selanjutnya pipet larutan pada Erlenmeyer sebanyak 1 ml masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 9 ml telah diberi label pengenceran 10^{-2} dan kocok secara perlahan. Setelah itu pipet kembali pada pengenceran 10^{-2} sebanyak 1 ml untuk dimasukkan pada pengenceran 10^{-3} yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 9 ml dan kocok secara perlahan. Kemudian pipet kembali pada pengenceran 10^{-3} sebanyak 1 ml untuk dimasukkan pada

pengenceran 10^{-4} yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 9 ml dan kocok secara perlahan. Selanjutnya pipet kembali pada pengenceran 10^{-4} sebanyak 1 ml untuk dimasukkan pada pengenceran 10^{-5} yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 9 ml dan kocok secara perlahan.

Sedangkan pada pengenceran Angka Kapang Khamir dilakukan dengan memipet 10 ml sampel jamu gendong secara aseptis masukkan ke dalam Erlenmeyer, setelah itu tambahkan larutan NaCl 0,9% sebanyak 90 ml diberi label 10^{-1} . Selanjutnya pipet larutan pada Erlenmeyer sebanyak 1 ml masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 9 ml telah diberi label pengenceran 10^{-2} dan kocok secara perlahan. Setelah itu pipet kembali pada pengenceran 10^{-2} sebanyak 1 ml untuk dimasukkan pada pengenceran 10^{-3} yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 9 ml dan kocok secara perlahan (Tivani, 2018).

3.6.8 Pengujian angka lempeng total

Pertama pengenceran sampel dipipet sebanyak 1 ml secara aseptis kedalam cawan Petri. Kemudian tambahkan media PCA ke dalam cawan Petri sebanyak 20 ml, setelah itu goyangkan cawan petri secara perlahan agar sampel tercampur secara merata. Biarkan memadat pada media dengan ditutup cawan petri. Setelah media memadat, cawan diinkubasi pada 35°C - 37°C selama 24-48 jam dengan posisi dibalik. Setelah itu Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung (Hadijah, 2015).

3.6.9 Pengujian angka kapang dan khamir

Pertama yang dilakukan pengenceran sampel yang telah dibuat sebelumnya dipipet sebanyak 1 ml secara aseptis ke dalam cawan petri yang dibuat double. Kemudian tuang media PDA yang telah dibuat, setelah itu goyang cawan petri secara perlahan agar sampel tercampur secara merata pada media. Biarkan memadat dengan cawan petri ditutup, setelah itu masukkan ke dalam inkubator dengan cawan petri dibalik pada suhu 20 - 25°C selama 24-72 jam.

Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan diamati (Maimunah et al., 2020).

3.6.10 Perhitungan koloni Angka Lempeng Total

Ambil salah satu cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan adanya pertumbuhan koloni antara 25-250 setiap cawan. Dihitung semua koloni dalam cawan petri dengan menggunakan alat penghitung koloni (Colony counter). Dihitung rata-rata jumlah koloni dan dikalikan dengan faktor pengenceran dan dinyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per mL atau gram. (Tivani et al., 2018a).

$$\frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Dengan :

N adalah jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per ml atau koloni per g.

$\sum C$ adalah jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n_1 adalah jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n_2 adalah jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d adalah pengenceran pertama yang dihitung.

3.6.11 Perhitungan koloni Angka Kapang Khamir

Analisis uji Angka Kapang dan Khamir dilakukan dengan menghitung koloni yang tumbuh pada cawan petri hasil pengenceran. Hasil suatu pengenceran menunjukkan koloni antara 10- 150 koloni. Ambil salah satu cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan adanya pertumbuhan koloni antara 10-150 setiap cawan. Dihitung semua koloni dalam cawan petri dengan menggunakan alat penghitung koloni (Colony counter). Dihitung rata-rata jumlah koloni dan dikalikan dengan faktor pengenceran dan dinyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per mL atau gram (Dion and Purwantisari, 2020).

$$\frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Dengan :

N adalah jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per ml atau koloni per g.

$\sum C$ adalah jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n_1 adalah jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n_2 adalah jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d adalah pengenceran pertama yang dihitung.

3.7 Pengolahan dan penyajian data

3.7.1 Pengolahan data

Data-data yang dikumpulkan dari hasil pengujian dan observasi diolah dengan pengolahan secara tabel dalam bentuk narasi seperti teknik data secara tabulating data.

3.7.2 Pengujian data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini dengan menganalisis secara deskriptif yaitu membandingkan kenyataan dilapangan atau hasil pemeriksaan. Secara teori atau menurut peraturan badan pengawasan obat dan makanan republik Indonesia nomor 32 tahun 2019 tentang persyaratan mutu obat tradisional pada metode angka lempeng total $\leq 10^5$ koloni/g dan angka kapang khamir $\leq 10^3$ koloni/g.

3.7.3 Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil perhitungan koloni pada sampel jamu pada media PDA dan PCA. Media tumbuh bakteri, dapat diindikasi pada sampel jamu tersebut tidak layak dikonsumsi. Karena syarat sediaan jamu yaitu negative atau tidak terkontaminasi bakteri di dalam sediaan jamu. Data yang diperoleh dideskripsikan dalam bentuk tabel serta hasil kesimpulan yang diperoleh dari pengujian AKK dan ALT pada jamu gendong. Pengambilan data dapat didokumentasikan bahwa sampel jamu memiliki cemaran atau tidak.

3.1 Tabel hasil Angka lempeng total

Sampel	pengenceran	Replikasi 1	Replikasi 2	Rata-rata koloni	Nilai ALT	Persyaratan ALT
Blanko	0					
Jamu 1	10^{-1}					Memenuhi persyaratan BPOM no 32 tahun 2019 $\leq 10^5$
	10^{-2}					
	10^{-3}					
	10^{-4}					
	10^{-5}					
Jamu 2	10^{-1}					Memenuhi persyaratan BPOM no 32 tahun 2019 $\leq 10^5$
	10^{-2}					
	10^{-3}					
	10^{-4}					
	10^{-5}					
Jamu 3	10^{-1}					Memenuhi persyaratan BPOM no 32 tahun 2019 $\leq 10^5$
	10^{-2}					
	10^{-3}					
	10^{-4}					
	10^{-5}					

3.2 Tabel hasil Angka Kapang Khamir

Sampel	pengenceran	Replikasi 1	Replikasi 2	Rata-rata koloni	Nilai AKK	Persyaratan AKK
Blanko	0					
Jamu 1	10^{-1}					Memenuhi persyaratan BPOM no 32 tahun 2019 $\leq 10^3$
	10^{-2}					
	10^{-3}					
Jamu 2	10^{-1}					memenuhi persyaratan BPOM no 32 tahun 2019 $\leq 10^3$
	10^{-2}					
	10^{-3}					
Jamu 3	10^{-1}					memenuhi persyaratan BPOM no 32 tahun 2019 $\leq 10^3$
	10^{-2}					
	10^{-3}					