

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif yang bertujuan untuk mendeskripsikan nilai ALT pada sediaan jamu beras kencur yang diproduksi di Desa Wisata Jamu Kiringan, Bantul, Yogyakarta.

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

1. Tempat pengambilan sampel

Sampel diambil dari produsen jamu yang ada di Desa Wisata Jamu Kiringan, Bantul, Yogyakarta.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta pada bulan April - Mei 2025.

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

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini yaitu seluruh produsen jamu cair beras kencur yang diproduksi dan dijual di Desa Wisata Jamu Kiringan, Bantul Yogyakarta.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini yaitu sediaan jamu cair beras kencur yang diambil dari lima produsen jamu di Desa Wisata Jamu Kiringan, Bantul Yogyakarta.

#### **D. Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas: jamu cair beras kencur yang diproduksi di Desa Wisata Jamu Kiringan, Bantul, Yogyakarta
2. Variabel terikat: nilai Angka Lempeng Total
3. Variabel terkendali: suhu penyimpanan sampel sebelum diuji, waktu pengambilan sampel, suhu dan waktu inkubasi pertumbuhan bakteri.

### **E. Definisi Operasional**

1. Jamu beras kencur ialah produk cair yang dibuat dari rimpang kencur dan rendaman beras yang diproses dan dijual di Desa Wisata Jamu Kiringan, Bantul, Yogyakarta.
2. Cemar mikroba merupakan kontaminasi pada olahan pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan virus yang dapat merugikan dan membahayakan kesehatan manusia.
3. Angka Lempeng Total merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui total metode bakteri dalam suatu sediaan dengan menghitung koloni yang tumbuh pada media *Plate Count Agar* (PCA) dengan alat perhitungan koloni (*colony counter*).
4. Pengambilan jamu dilaksanakan di pagi hari pukul 06.00-07.00 WIB untuk memastikan kondisi jamu dalam keadaan segar, baru diproduksi dan belum mengalami perubahan signifikan akibat penyimpanan atau paparan lingkungan.
5. Suhu adalah kondisi fisik yang diukur dan dikendalikan untuk memastikan bahwa faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi hasil pengujian tetap terjaga. Suhu penyimpanan jamu cair harus dijaga agar tidak lebih dari 20°C.
6. Waktu inkubasi adalah periode waktu yang ditentukan di mana suatu media dibiarkan berada dalam kondisi tertentu untuk memungkinkan terjadinya pertumbuhan mikroba. Waktu inkubasi untuk pengujian ALT adalah pada suhu 37° C selama 24 jam dengan posisi terbalik.

### **F. Alat dan Bahan**

#### 1. Alat

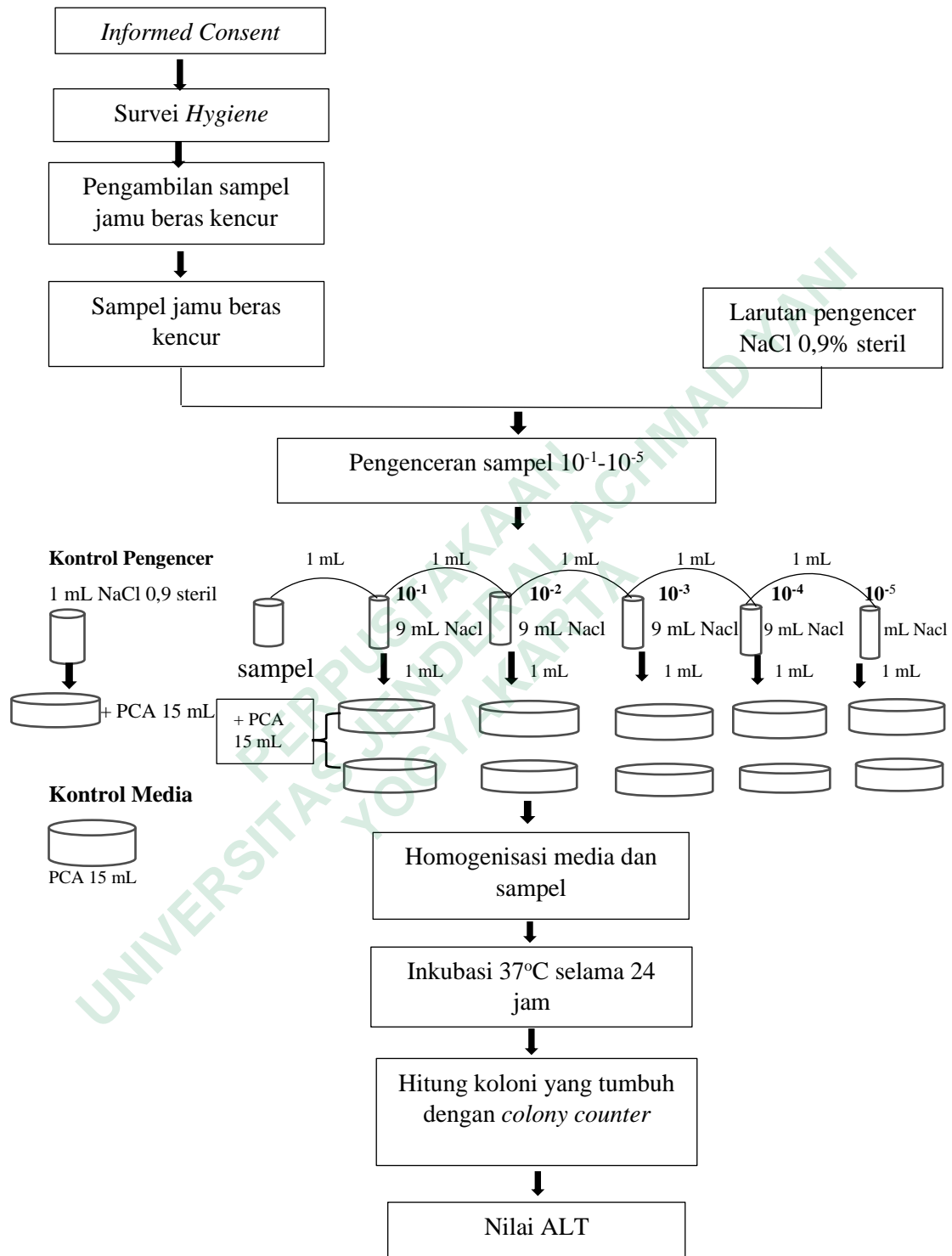
Peralatan yang dipakai pada penelitian meliputi autoklaf (GEA), botol sampel, bunsen, cawan petri (10x15 Anumbra), *colony counter* (Rocker Galaxy), termos, erlenmeyer, gelas ukur, *hot plate* (IKA® C-MAG HS 7), inkunator (Mammert IN30), BSC (Daihan Labtech), *magnetic stirrer*, mikropipet (100 µL-1000 µL), oven (Mammert UN60), tabung reaksi, timbangan analitik (Ohaus) dan vortex (DLAB).

## 2. Bahan

Bahan yang dipakai adalah sampel jamu beras kencur yang berasal dari Desa Wisata Jamu Kiringan, Bantul, Yogyakarta, akuades, alkohol 70%, aluminium foil, *blue tip*, kassa, kapas, media *Plate Count Agar (p.a)*, NaCl 0,9% steril, *plastic wrap* dan spiritus.

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI  
YOGYAKARTA

### G. Pelaksanaan Penelitian



Gambar 5. Pelaksanaan Penelitian

1. Pengisian *informed consent*

*Informed consent* adalah surat persetujuan yang diberikan kepada produsen jamu sebelum penelitian dilakukan. Surat ini berisi tujuan penelitian, cara pengambilan sampel, manfaat, risiko, dan hak partisipan. Dokumen ini kemudian disimpan sebagai bukti izin penelitian.

2. Survei *hygiene* sanitasi produsen jamu

Survei terkait kebersihan dan sanitasi dilakukan saat proses pengolahan sampel jamu. Survei ini menggunakan pertanyaan yang disusun berdasarkan kuisisioner Rahmadani (2024) (Lampiran 2.) dengan beberapa penyesuaian. Pengumpulan data dilakukan dengan metode pengamatan wawancara langsung dengan produsen jamu di Desa Wisata Jamu Kiringan, Bantul, Yogyakarta.

3. Pengambilan sampel

Proses pengambilan sampel jamu diawali dengan pengisian *informed consent* oleh produsen jamu. Pengambilan sampel pada pukul 06.00-07.00 WIB dari masing-masing produsen pada hari yang berbeda. Sampel yang diambil berupa jamu beras kencur cair, berasal dari produsen jamu tradisional di Desa Wisata Jamu Kiringan, Bantul, Yogyakarta sebanyak 100 mL. Sampel tersebut dituang ke dalam botol steril di dekat nyala api bunsen lalu ditutup rapat, dan diletakan dalam termos berisi es, sebelum dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pengujian Angka Lempeng Total (Amalia *et al.*, 2022). Kontrol suhu penyimpanan dilakukan menggunakan termometer, dengan pengecekan sebanyak tiga kali yaitu pada awal pengambilan, pertengahan perjalanan dan saat tiba di laboratorium.

4. Uji organoleptik sampel

Uji organoleptik dilakukan dengan mengamati secara langsung dengan menggunakan panca indera untuk mengetahui bentuk sediaan, warna dan bau dan rasa dari sampel jamu beras kencur.

5. Sterilisasi alat

Peralatan yang digunakan seperti cawan petri, botol sampel, tabung reaksi dicuci terlebih dahulu, kemudian dikeringkan. Alat-alat yang sudah bersih

tersebut dibungkus dengan kertas payung dan disterilisasi dengan oven pada suhu 170° C selama 1 jam (Sari *et al.*, 2024). Media PCA dan peralatan yang tidak tahan panas seperti tutup botol sampel dan *blue tip* disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C dengan tekanan 1 atm (Priamsari & Susanti, 2020).

#### 6. Pengenceran sampel

Disiapkan 5 tabung reaksi steril dan 5 *blue tip* steril, diberi kode pengenceran pada setiap tabung reaksi dan *blue tip* yaitu  $10^{-1}$ - $10^{-5}$ . Masing-masing tabung dimasukkan 9 mL larutan NaCl 0,9% steril. Diambil sebanyak 1 mL sampel lalu dimasukkan ke dalam tabung pengenceran  $10^{-1}$  lalu dihomogenkan menggunakan vortex selama 10 detik, sebelum larutan ditambahkan ke pengenceran  $10^{-2}$ , *blue tip* harus diganti. Diambil 1 mL dari larutan tersebut dan dimasukkan ke tabung pengenceran  $10^{-2}$  kemudian divortex. *Blue tip* harus diganti terlebih dahulu, lalu dimasukkan 1 mL ke dalam tabung reaksi pengenceran  $10^{-3}$ . Lakukan proses pengenceran tersebut sampai mencapai pengenceran  $10^{-5}$  (Dwisari, 2021; Zubaidah *et al.*, 2022).

#### 7. Pembuatan *Plate Count Agar* (PCA)

Ditimbang serbuk *Plate Count Agar* (PCA) konsentrasi 22,5 gram/L sebanyak 6 gram (untuk satu kali pengujian ALT) dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dicampur dengan akuades sebanyak 265 mL. Larutan kemudian dipanaskan di atas *hot plate* hingga media tercampur homogen dengan bantuan *magnetic stirrer*. Erlenmeyer yang berisi media kemudian ditutup kapas dan kassa lalu dilapisi *aluminium foil*. Media selanjutnya dilakukan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit pada tekanan 1 atm (Dwisari, 2021).

#### 8. Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Uji Angka Lempeng Total dilakukan dengan metode cawan tuang. Diambil 1 mL dari setiap pengenceran sampel dan dimasukkan ke dalam tiap cawan petri yang sudah disterilisasi. Dimasukkan 15 mL media PCA ke cawan petri dan cawan diputar seperti angka delapan agar media tersebar secara merata. Cawan berisi media dan sampel tersebut dibiarkan hingga memadat. Pengujian

ALT dilakukan pada tiap pengenceran secara duplo (dua kali uji). Uji kontrol atau blanko juga dilakukan untuk memastikan sterilitas media dan pengencer. Dibuat kontrol pengencer dengan cara ditambahkan 1 mL NaCl steril 0,9% dan 15 mL PCA, dan untuk kontrol media dimasukan 15 mL PCA ke dalam cawan petri. Cawan petri dibungkus menggunakan *plastic wrab* kemudian dimasukan ke dalam inkubator, diletakkan terbalik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. jumlah koloni yang terlihat pada media dihitung dengan alat *colony counter* (Zubaidah *et al.*, 2022).

#### H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil pengujian laboratorium dan hasil survei *hygiene* sanitasi diolah dan disajikan dalam bentuk tabel lalu dideskripsikan untuk menggambarkan nilai ALT pada jamu. Nilai ALT dihitung dengan memilih cawan pada setiap pengenceran yang menghasilkan koloni antara 30 hingga 300. Koloni dihitung satu per satu dengan alat *colony counter*. Jumlah koloni yang dihitung kemudian dirata-ratakan, lalu dikalikan dengan faktor pengenceran untuk mendapatkan total bakteri per mililiter atau gram (Andalia *et al.*, 2023). Menurut Satriyo *et al.*, (2019) kriteria koloni yang harus dipenuhi untuk dilakukan perhitungan adalah:

1. Setiap koloni yang berdiri sendiri dihitung sebagai satu koloni
2. Jika terdapat dua koloni yang saling bertumpuk dihitung sebagai satu koloni
3. Sekumpulan koloni yang saling menyatu dianggap sebagai satu koloni
4. Dua koloni yang terletak berdekatan namun masih bisa dibedakan dihitung sebagai dua koloni.

Menurut Alfariza *et al.*, (2021) syarat perhitungan pada metode ALT adalah jumlah koloni yang dapat dihitung berada pada 30-300 koloni. Jika jumlah koloni kurang dari 30 maka dikategorikan TSUD (Terlalu Sedikit Untuk Dihitung) dan dinyatakan tidak memenuhi syarat. Jumlah koloni yang lebih tinggi dari 300 juga dianggap tidak memenuhi persyaratan atau dikategorikan TBUD (Terlalu Banyak Untuk Dihitung).

Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) dilakukan berdasarkan rumus menurut Suharman *et al.*, (2023) yaitu:

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

Dimana:

N = Jumlah koloni bakteri (koloni/ml)

$\sum C$  = Jumlah koloni pada cawan petri yang memenuhi rentang perhitungan

$n_1$  = Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

$n_2$  = Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d = Pengenceran pertama yang dihitung

Data yang diperoleh dari perhitungan total koloni dalam sampel jamu beras kencur di Desa Wisata Jamu Kiringan, Bantul, Yogyakarta melalui pengujian Angka Lempeng Total (ALT) dianalisis dengan pendekatan deskriptif yaitu menghitung nilai rata-rata kemudian disajikan dalam bentuk tabel. Hasil analisis tersebut dibahas dalam bentuk narasi dengan mengacu pada peraturan BPOM No. 32 tahun 2019 mengenai Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional, yang menyatakan bahwa jumlah koloni tidak boleh lebih dari  $10^5$  CFU/mL.