

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif untuk mendeskripsikan jumlah nilai Angka Lempeng Total (ALT) pada sampel jamu temulawak yang dijual di Desa Ngestiharjo, Kab. Bantul, DIY.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi pengambilan sampel

Sampel diambil dari tiga pedagang jamu yang berada di Desa Ngestiharjo, Kab. Bantul, DIY.

2. Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta pada bulan Juli-Agustus 2024.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini yaitu seluruh pedagang jamu yang berdagang di Desa Ngestiharjo, Kab. Bantul, DIY

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah jamu temulawak dalam bentuk cair yang diambil dari tiga pedagang jamu tradisional di Desa Ngestiharjo, Kab. Bantul, DIY.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas: jamu temulawak sediaan cair.
2. Variabel Terikat: nilai Angka Lempeng Total (ALT).

3. Variabel Terkendali: waktu pengambilan sampel, jenis penjualan jamu, media, suhu, dan waktu inkubasi pertumbuhan bakteri.

E. Definisi Operasional

1. Pengambilan jamu diambil pada pedagang jamu tradisional yang menjajahkan dagangannya dalam bentuk kios yang berada di Desa Ngestiharjo, Kab. Bantul, DIY.
2. Jamu temulawak adalah produk cair yang terbuat dari rimpang temulawak, yang diproses dan disajikan dengan cara tradisional di Desa Ngestiharjo, Kab. Bantul, DIY
3. Angka Lempeng Total (ALT) merupakan teknik untuk mengukur jumlah total bakteri dalam jamu temulawak dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media *Plate Count Agar* (PCA) menggunakan *colony counter*.

F. Alat dan Bahan

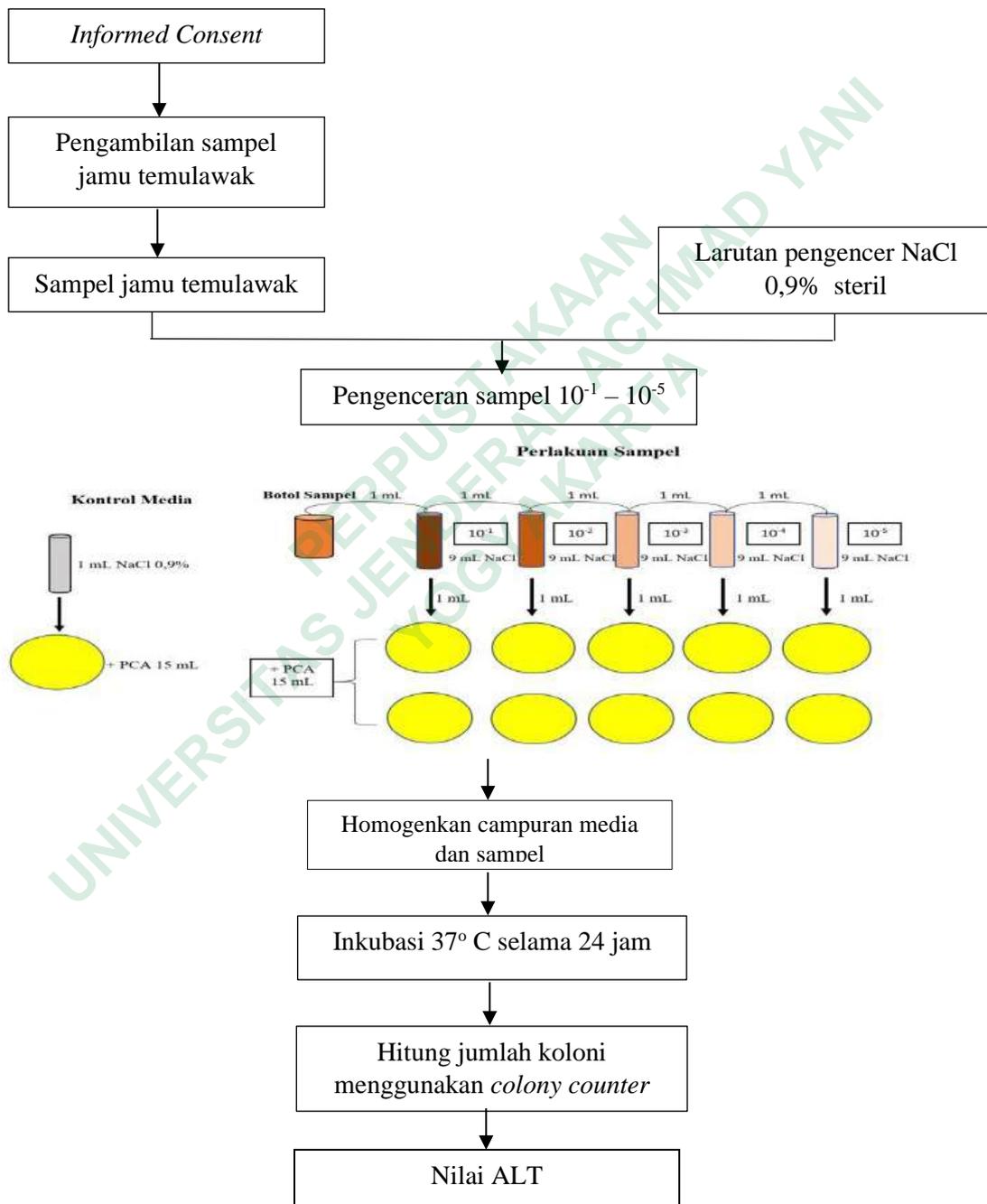
1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *autoklaf* (GEA), botol sampel, bunsen, BSC (Daihan Labtech), *colony counter*, cawan petri (10 x 15 Anumbra), *coolbox*, erlenmeyer, *hot plate* (IKA® C-MAG HS 7), mikropipet (100 μ L-1000 μ L), oven (Mettler UI160), tabung reaksi, timbangan analitik (Ohaus) dan vortex.

2. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu sampel jamu temulawak cair yang berasal dari Desa Ngestiharjo, Kab. Bantul, DIY, akuadest, alkohol 70%, *aluminium foil*, *blue tip*, kapas, kassa, media *Plate Count Agar* (PCA), NaCl 0,9% steril, *plastic wrap*.

G. Pelaksanaan Penelitian



Gambar 13. Pelaksanaan Penelitian

1. Survei *hygiene* sanitasi pedagang jamu

Survei *hygiene* sanitasi dilakukan bersamaan dengan proses penyiapan sampel jamu, survei ini berisi pertanyaan yang mengacu pada kuisoner Nurhasanah (2021) (**Lampiran 2.**) dengan dilakukan beberapa penyesuaian. Dilakukan survei dengan melakukan pengamatan dan wawancara secara langsung pada pedagng jamu di Desa Ngestiharjo, Kab. Bantul, DIY.

2. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel jamu diawali dengan pengisian *informed consent* oleh pedagang jamu. Sampel diambil pada pukul 07.00 - 07.30 WIB untuk tiap pedagang pada hari yang berbeda. Sampel yang digunakan adalah jamu temulawak dalam sediaan cair, diambil dari tiga pedagang jamu tradisional yang berada di Desa Ngestiharjo, Kab. Bantul, DIY. Jumlah sampel jamu diambil sesuai dengan satu porsi penyajian jamu pada masing-masing pedagang. Sampel jamu temulawak dituangkan ke dalam botol sampel steril dan ditutup rapat, lalu ditempatkan didalam *coolbox* dan dibawa ke laboratorium mikrobiologi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta untuk dilakukan pengujian Angka Lempeng Total (ALT) (Amalia *et al.*, 2022).

3. Sterilisasi alat

Peralatan yang digunakan seperti cawan petri, tabung reaksi dan botol sampel cuci terlebih dahulu, kemudian dikeringkan dan disemprot menggunakan alkohol 70%. Ditutup rapat wadah yang berlubang menggunakan kapas kemudian dibungkus dengan kertas payung (Hamzah *et al.*, 2021). Alat tersebut disterilkan dengan oven selama 60 menit pada suhu 170°C. Untuk media serta alat yang tidak tahan terhadap pemanasan suhu tinggi, seperti tutup botol sampel dan *blue tip*, dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf dengan waktu 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm (Wahyu *et al.*, 2020).

4. Pengenceran sampel

Disiapkan 5 tabung reaksi, dimasukkan 9 mL larutan NaCl 0,9% steril ke dalam masing-masing tabung reaksi. Kelima tabung diberi kode pengenceran 10^{-1} - 10^{-5} . Dimasukkan 1 mL sampel ke dalam tabung 10^{-1} lalu diresuspensi. 1 mL larutan dari tabung reaksi pengenceran 10^{-1} kemudian ditambahkan ke dalam tabung reaksi 10^{-2} . Dihomogenkan dengan menggunakan bantuan vortex selama 10 detik. Lakukan proses pengenceran tersebut hingga mencapai pengenceran 10^{-5} (Dwisari, 2021; Zubaidah *et al.*, 2022).

5. Pembuatan *Plate Count Agar* (PCA) (22,5 gram/L)

Ditimbang *Plate Count Agar* (PCA) konsentrasi 22,5 gram/L sebanyak 7,65 gram dan masukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian dicampur dengan akuades sebanyak 340 mL. Dipanaskan larutan media *Plate Count Agar* (PCA) di atas *hot plate* hingga media larut dan tercampur homogen. Sebelum dilakukan proses sterilisasi, erlenmeyer yang berisi media ditutup dengan menggunakan kapas dan kassa kemudian dilapisi dengan *aluminium foil*. Media *Plate Count Agar* (PCA) disterilisasi menggunakan autoklaf, suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm (Idrayati *et al.*, 2021; Priamsari & Maria, 2020).

6. Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Uji Angka Lempeng Total (ALT) dilakukan dengan menggunakan teknik cawan tuang, dimana 1 mL sampel jamu temulawak hasil pengenceran 10^{-1} - 10^{-5} dimasukkan kedalam tiap cawan petri, kemudian tambahkan 15 mL media *Plate Count Agar* (PCA). Cawan petri kemudian digoyangkan dan diputar membentuk angka delapan untuk memastikan distribusi media yang merata. Pengujian Angka lempeng Total (ALT) dilakukan pada tiap pengenceran secara duplo. Kontrol pelarut dilakukan dengan mencampurkan 1 mL NaCl 0,9% steril dan 15 mL media *Plate Count Agar* (PCA). Setelah media *Plate Count Agar* (PCA) dalam cawan petri memadat, cawan diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam pada posisi

terbalik. Koloni yang tumbuh diamati dan hitung menggunakan alat *colony counter* (Tivani *et al.*, 2018).

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

Diperoleh data dari hasil pengujian laboratorium dan hasil survei *hygiene* sanitasi diolah dan disajikan dalam bentuk tabel lalu dideskripsikan untuk menggambarkan Angka Lempeng Total (ALT) pada jamu. Perhitungan nilai ALT dilakukan dengan memilih cawan petri dari tiap tingkat pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 30-300 koloni. Seluruh koloni dihitung satu persatu dengan menggunakan *colony counter*. Hasil jumlah koloni dihitung rata-rata kemudian dikalikan dengan faktor pengenceran untuk menghitung total bakteri per mililiter atau gram (Andalia *et al.*, 2023). Menurut Satriyo *et al.*, (2019) dalam uji cemaran mikroba ALT pada jamu temulawak, terdapat beberapa jenis koloni yang dihitung antara lain sebagai berikut:

1. 1 *colony* dihitung 1 *colony*
2. 2 *colony* yang bertumpuk dihitung 1 *colony*
3. Beberapa *colony* yang berhubungan dihitung 1 *colony*
4. 2 *colony*. yang berdekatan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 *colony*.

Interpretasi perhitungan koloni 30-300 koloni/gram

- a. Pelaporan nilai ALT terdiri dari 2 angka yaitu angka pertama adalah satuan dan angka kedua adalah *decimal*.
- b. Jika dari hasil pengenceran hanya diperoleh satu pengenceran masuk dalam kategori 30-300 maka yang akan dilaporkan adalah pengenceran yang masuk kedalam kategori tersebut.
- c. Jika data yang diperoleh lebih besar dari 300 koloni maka hasil yang dilaporkan yaitu pengenceran yang tertinggi.
- d. Jika nilai kurang dari 30 maka yang dilaporkan adalah pengenceran yang terendah.
- e. Jika data yang diperoleh dari masing-masing pengenceran berada di 30-300 koloni maka berlaku dua aturan. Pertama membandingkan kedua data antara pengenceran tertinggi dan pengenceran terendah, jika hasil

perbandingan tersebut diperoleh ≤ 2 maka yang dilaporkan hasil rata-rata dari dua pengenceran paling tinggi dan pengenceran paling rendah. Jika hasil rata-rata dari pengenceran paling tinggi dan paling rendah diperoleh hasil ≥ 2 maka yang dilaporkan adalah pengenceran terendah dari data tersebut. Pada proses pengujian menggunakan dua cawan (duplo) untuk memperhitungkan nilai ALT harus mempertimbangkan nilai dua cawan tersebut dengan cara membuat rata-rata untuk setiap pengenceran. Rumus perhitungan jumlah koloni pada tiap pengenceran dapat dilihat pada persamaan (1).

Rumus : Jumlah koloni x 1 / Faktor pengenceran.....(1)

Data yang diperoleh dari perhitungan total koloni dalam sampel jamu temulawak di desa Ngestiharjo, Kab. Bantul, DIY melalui pengujian Angka Lempeng Total (ALT) dianalisis deskriptif dalam bentuk tabel. Hasil tersebut dibahas dalam bentuk narasi dengan merujuk pada peraturan BPOM No. 32 tahun (2019) mengenai persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional dengan nilai koloni tidak boleh $\leq 10^5$ CFU/mL.