

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Observasioanal Analitik, yaitu untuk mengetahui angka lempeng total pada ikan lele yang dipelihara di tambak dan di rumah di Kecamatan Banyuates Kabupaten Sampang, Madura.

Dengan rancangan penelitian sebagai berikut :

R1 —→ ALT 1

R2 —→ ALT 2

Keterangan :

R1 : Ikan lele yang dipelihara di tambak

R2 : Ikan lele yang dipelihara di rumah

ALT 1 : Angka lempeng total ikan lele yang dipelihara di rumah

ALT 2 : Angka lempeng total ikan lele yang dipelihara di tambak

3.2 Populasi, Sampel dan Jumlah Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah ikan lele yang dipelihara di tambak yang berjumlah 3 tempat dan ikan lele yang dipelihara di rumah yang berjumlah 8 tempat di Kecamatan Banyuates Kabupaten Sampang, Madura.

Sampel yang digunakan berupa daging ikan lele yang sudah dipisahkan dengan tulangnya. Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 62 sampel yang terdiri dari 30 sampel ikan lele yang diperoleh dari 3 tempat di tambak yang masing-masing tempat mendapatkan 10 kali pengulangan dan 32 sampel ikan lele yang diperoleh dari 8 tempat pemeliharaan ikan lele di rumah

yang masing-masing tempat mendapatkan 4 kali pengulangan yang diambil secara acak (random) dari populasi yg ada.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan pada tempat pemeliharaan ikan lele di tambak dan di rumah di Kecamatan Banyuates Kabupaten Sampang, Madura. Pemeriksaan angka lempeng total dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya, Jalan Sutorejo No. 59 Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai dengan Juli 2014. Sedangkan pemeriksaan dilakukan pada bulan April 2014.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas adalah Ikan Lele yang dipelihara di tambak dan di rumah
2. Variabel terikat adalah Angka Lempeng Total (ALT)

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

1. Ikan lele yang dipelihara di rumah adalah ikan lele yg dipelihara di tempat yang sempit dan kritis, dengan ukuran yang sesuai dengan lahan yang tersedia biasanya 4 x 6 m. Makanan yang diberikan biasanya berasal dari bangkai kotoran manusia atau bangkai hewan dan sisa makanan sehari-hari. Kebersihan

air tidak sesuai dengan standar kualitas air untuk budi daya ikan lele, dapat dilihat dari warna air yang kurang jernih atau kotor.

2. Ikan lele yang dipelihara di tambak adalah ikan lele yang dipelihara sesuai dengan cara pengelolaan perikanan yang baik yaitu bisa dilihat dari kolam dengan ukuran $2 \times 3 \text{ m}^2$, makanan yang berasal dari alam seperti zooplankton, biomassa, dan pelet apung. Kebersihan air yang sesuai dengan standar kualitas air untuk budi daya ikan lele.
3. Angka Lempeng Total (ALT) merupakan angka yang menunjukkan perhitungan jumlah bakteri mesofil dalam tiap 1 ml/1 gr sampel yang diperiksa. Data lempeng total dikategorikan memenuhi syarat apabila $< 5 \times 10^5$ koloni / gram dan tidak memenuhi syarat apabila $> 5 \times 10^5$ koloni/gram.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Untuk mendapatkan data dan informasi maka peneliti melaksanakan penelitian dengan uji laboratorium terhadap sampel ikan lele yang dipelihara di tambak dan ikan lele yang dipelihara di rumah di Kecamatan Banyuates Kabupaten Sampang, Madura untuk mengetahui perbedaan angka lempeng total.

3.5.1 Persiapan Sampel

1. Alat : Blender steril, pisau steril, label
2. Bahan : Ikan lele ditambak dan dirumahan
3. Prosedur :
 - a. Ikan lele yang sudah mati diambil sampel dagingnya menggunakan pisau yang sudah disteril terlebih dahulu

- b. Kemudian masukkan sampel daging ikan lele tersebut ke dalam blender steril untuk dihaluskan
- c. Sampel diberi label untuk membedakan ikan lele yang dipelihara di tambak dan di rumah

3.5.2 Pemeriksaan angka lempeng total pada sampel ikan lele

1. Prinsip Pemeriksaan :

Pertumbuhan mikroorganisme *aerob* dan *anaerob* (psikrofilik, mesofilik dan termofilik) setelah contoh diinkubasikan dalam media agar pada suhu $\pm 35^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam mikroorganisme ditumbuhkan pada suatu media agar, maka mikroorganisme tersebut akan tumbuh dan berkembang biak dengan membentuk koloni yang dapat langsung dihitung.

Penentuan Angka Lempeng Total dapat dilakukan dengan dua cara. Pertama, metode cawan agar tuang/*pour plate* yaitu dengan menanamkan contoh ke dalam cawan petri terlebih dahulu kemudian ditambahkan media agar. Kedua, metode cawan agar sebar/*spread plate* yaitu dengan menuangkan terlebih dahulu media agar ke dalam cawan petri kemudian contoh diratakan pada permukaan agar dengan menggunakan batang gelas bengkok.

Pada penelitian ini menggunakan metode cawan agar tuang/*pour plate*.

2. Alat yang digunakan :

- a. Cawan petri steril
- b. Erlenmeyer steril
- c. Pipet steril
- d. Pengaduk steril
- e. Tabung reaksi steril

- f. Bunsen
 - g. Korek api
 - h. Gelas ukur steril
 - i. Beaker glas
 - j. Neraca analitik
 - k. Autoclave
 - l. Inkubator
 - m. Kapas dan kain kassa
 - n. Lemari es
3. Bahan Pemeriksaan :
- a. Ikan lele yang dipelihara di tambak
 - b. Ikan lele yang dipelihara di rumah

4. Media Pemeriksaan :
- a. PZ steril

Cara pembuatan PZ steril :

- 1) Timbang NaCl 8,5 gram ditambah aquades 1 liter kemudian diaduk hingga larut.
- 2) Ukur pH sampai 7.
- 3) Kemudian disteril dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

- b. Nutrient Agar steril

Cara pembuatan Nutrient Agar (NA)

- 1) Ditimbang media NA kedalam Erlenmeyer steril kemudian dilarutkan dengan aquadest dipanaskan hingga larut sempurna.
- 2) Ukur pH 7.

3) Disteril didalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

5. Prosedur Pemeriksaan

- a. Pembuatan suspensi ikan lele (ditimbang ikan lele sebanyak 10 gram kemudian dihaluskan atau diblender lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer steril kemudian ditambah PZ steril 90 ml, lalu dikocok sampai homogen, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1}).
- b. Menyiapkan 4 tabung reaksi steril, masing-masing berisi 9 ml larutan PZ steril, setiap tabung diberi tanda 10^{-2} sampai dengan 10^{-5} sebagai kode pengenceran.
- c. Menyiapkan 5 cawan petri steril. Pada 5 cawan petri diberi tanda pada bagian belakangnya sesuai dengan kode pengenceran, sedangkan satunya diberi tanda kontrol.
- d. Dikocok suspensi ikan lele dalam erlenmeyer sampai homogen, kemudian dipindahkan 1 ml suspensi tersebut ke dalam tabung reaksi yang diberi tanda pengenceran 10^{-2} . Campuran ini disebut suspensi I.
- e. Dari suspensi I diambil 1 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang diberi tanda 10^{-3} . Campuran ini disebut suspensi II. Kemudian seterusnya dilakukan pengenceran seri sehingga didapatkan suspensi IV (pengenceran 10^{-5}).
- f. Selanjutnya dengan menggunakan pipet steril diinokulasikan suspensi ikan lele (pengenceran 10^{-1}) ke dalam cawan petri steril. Dari masing-masing tabung diambil 1 ml diinokulasikan ke dalam cawan petri sesuai dengan kode pengenceran yang sama.

- g. Kemudian ke dalam masing-masing cawan petri tersebut dituangkan media nutrient agar dengan suhu $\pm 46^{\circ}\text{C}$ (dalam keadaan masih cair) sebanyak 15-20 ml. Campuran ini di dalam petri digoyang pelan-pelan hingga homogen dan dibiarkan hingga dingin dan membeku, untuk cawan petri kontrol diinokulasikan 1 ml larutan PZ lalu dituangi dengan nutrient agar dengan suhu 45°C dicampur hingga homogen dan dibiarkan beku.
- h. Lalu di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam spesimen siap dibaca hasilnya (Anonim, 1980 dalam Isnaini, 2011).

6. Cara Pembacaan dan Pelaporan Koloni

Analisis ini dapat menggunakan standar yang disebut *Standar Plate Count* (SPC) dengan satuan *Colony-forming Units (CFU)*, per milliliter atau per gram menjelaskan mengenai cara menghitung koloni pada cawan serta cara memilih data yang ada untuk menghitung jumlah koloni di dalam suatu bahan pangan yang dianalisis.

a. Cara pembacaan hasil

- 1) Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30 dan 300.
- 2) Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan suatu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya meragukan, dapat dihitung sebagai satu koloni.
- 3) Suatu deretan (rantai) koloni yang terlihat sebagai suatu gatis tebal dihitung sebagai satu koloni (Setiawati, 2012).

- b. Cara perhitungan koloni menggunakan *Standar Plate Count (SPC)*

Rumus perhitungan :

Faktor pengenceran = pengenceran x jumlah yang ditumbuhkan

$$\text{Jumlah koloni} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Pengenceran}}$$

(SNI 01-2782, 1999).

3.5.3 Tabulasi Data

Data Angka Lempeng Total pada ikan lele yang dipelihara di tambak dan ikan lele yang dipelihara di rumah yang telah dikumpulkan, ditabulasikan seperti contoh tabel dibawah ini :

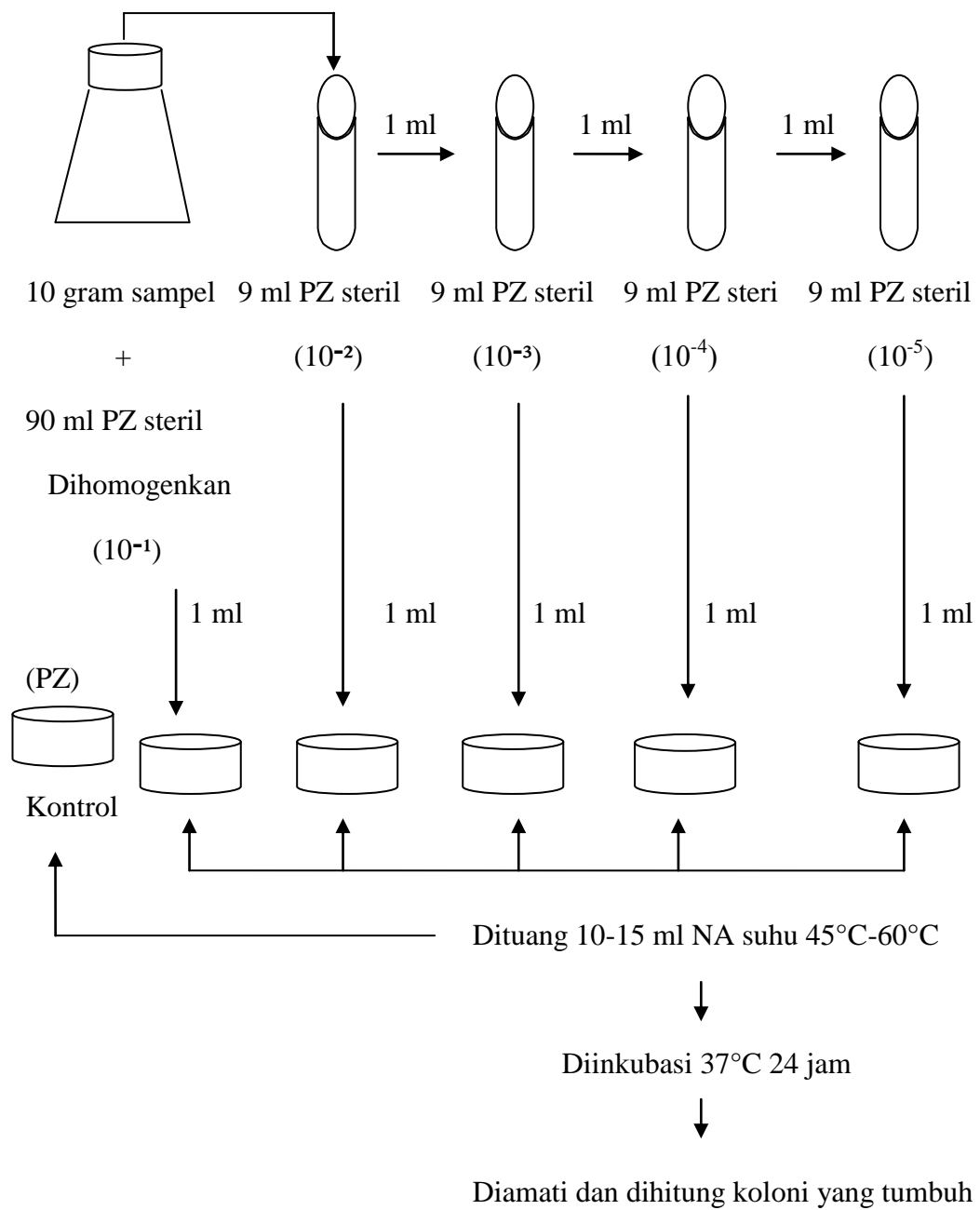
Tabel 3.1 Hasil Pemeriksaan Angka Lempeng Total pada Ikan Lele yang Dipelihara di Tambak dan Ikan Lele yang Dipelihara di Rumah.

No.	Kode Sampel	Jumlah Angka Lempeng Total		Keterangan
		Di Tambak	Di Rumah	
1				
2				
3				
.				
.				
.				
11				

Keterangan :

MS : Memenuhi Syarat

TMS : Tidak Memenuhi Syarat



Gambar 3.1 Skema Pemeriksaan Angka Lempeng Total

Sumber : Fardiaz, 1993 dalam Isnaini, 2011

3.6 Metode Analisa Data

Data yang diperoleh dari uji bakteriologi dengan menggunakan metode angka lempeng total. Hasil yang diperoleh ditabulasikan kemudian dilakukan uji perbandingan dengan menggunakan uji t bebas untuk mengetahui apakah ada perbedaan jumlah bakteri pada ikan lele yang dipelihara di tambak dengan ikan lele yang dipelihara di perumahan.