

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Deskriptif, yaitu untuk mengetahui jumlah Angka Lempeng Total (ALT) pada ikan pindang yang di jual di Pasar Sutorejo Surabaya.

3.2 Populasi, Sampel dan Sampling Penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah semua ikan pindang yang dijual sebanyak 15 pedagang dan setiap pedagang di ambil 2 kali.

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah ikan pindang yang dijual di Pasar Sutorejo Surabaya sebanyak 30 sampel dengan jenis ikan pindang sebagai berikut:

1. Ikan pindang layang
2. Ikan pindang tongkol
3. Ikan pindang salem

3.2.3 Sampling

Cara sampling pada penelitian ini menggunakan teknik purposive sampling, dimana peneliti mengambil sampel ikan pindang yang dijual di Pasar Sutorejo Surabaya.

3.3 Lokasi dan waktu penelitian

3.3.1 Lokasi penelitian

Lokasi pengambilan sampel dilakukan pada penjual ikan pindang yang dijual di Pasar Sutorejo Surabaya. Sedangkan pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT) dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2014 sampai dengan bulan Juni 2015, sedangkan waktu pemeriksaan dilaksanakan pada bulan Januari 2015.

3.4 Variabel penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah Angka Lempeng Total (ALT) pada ikan pindang.

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1) Angka Lempeng Total (ALT) merupakan angka yang menunjukkan perhitungan jumlah bakteri mesofil dalam tiap 1ml/1gr sampel yang diperiksa.

Data tentang Angka lempeng total dikategorikan :

- a. Memenuhi syarat apabila $<1 \times 10^5$ koloni / gram, baik untuk dikonsumsi.

- b. Tidak memenuhi syarat apabila $> 1 \times 10^5$ koloni / gram, tidak baik untuk di konsumsi.
- 2) Ikan pindang merupakan hasil olahan ikan dengan cara kombinasi perebusan (pemasakan) dan penggaraman.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Untuk mendapatkan data tentang Angka Lempeng Total (ALT) pada ikan pindang yang di jual di Pasar Sutorejo-Surabaya, maka peneliti melakukan penelitian dengan uji laboratorium.

3.5.1 Persiapan Sampel

Alat : Kantong plastik steril, label

Bahan : ikan pindang

Prosedur :

1. Mengambil dan memasukkan sampel kedalam kantong plastic steril.
2. Sampel diberi label kemudian diproses di laboratorium.

3.5.2 Pemeriksaan angka lempeng total pada sampel ikan pindang

Prinsip Pemeriksaan :

Pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah cuplikan diinokulasikan pada media lempeng agar dengan cara tuang, setelah itu diinkubas ipada suhu 37°C selama 24 jam.

A. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- 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) Beacker glas
- j) Neraca analitik
- k) Autoclave
- l) Inkubator
- m) Kapas dan kain kassa
- n) Sendok steril
- o) Koloni counter
- p) Lemari es

3. Bahan Pemeriksaan :

Ikan pindang

4. Media Pemeriksaan:

- a. PZ steril

Cara pembuatan PZ steril:

- a) Timbang *Nacl* 8,5 gram ditambah aquades 1 liter kemudian diaduk hingga larut.
- b) Ukur pH sampai 7.
- c) Kemudian disteril dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

- b. *Nutrient Agar Plat* (NAP) steril

Cara pembuatan *Nutrient Agar Plat* (NAP):

- a) Ditimbang media *Nutrien Agar Plat* kedalam Erlenmeyer steril kemudian dilarutkan dengan aquadest dipanaskan hingga larut sempurna.
- b) Ukur pH 7.
- c) Disteril didalam autoclave dengan suhu 121°C.

3. Prosedur Pemeriksaan (Buku ajar Mikrobiologi Unmuh 2014).

- a. Pembuatan suspensi ikan pindang (menimbang ikan pindang sebanyak 10 gram kemudian menghaluskan atau diblender lalu dimasukkan kedalam 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 control.
- d. Mengocok suspensi ikan pindang dalam gelas Erlenmeyer sampai homogen, kemudian dipindahkan 1 ml suspensi tersebut kedalam tabung reaksi yang diberi tanda pengenceran 10^{-2} . Campuran ini disebut suspensi I.
- e. Dari suspensi I diambil 1 ml, kemudian dimasukkan kedalam 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 pindang (pengenceran 10^{-1}) kedalam cawan petri steril. Dari masing-masing tabung diambil 1 ml diinokulasikan kedalam cawan petri sesuai dengan kode pengenceran yang sama.
- g. Kemudian kedalam 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 control diinokulasikan 1 ml larutan PZ lalu dituangi dengan *nutrient agar* dengan suhu 46°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 specimen siap dibaca hasilnya .

H. Cara pembacaan hasil :

1. Koloni yang tumbuh pada masing-masing cawan petri diamati dan dihitung.
2. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang ditumbuhi jumlah koloni antara 30-300.
3. Satu deretan rantai koloni terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.
4. Beberapa koloni yang bergabung jadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar, dimana jumlah koloninya diragukan maka dapat dihitung sebagai satu koloni.

5. Kontrol tidak boleh ada pertumbuhan. Dan bila ada pertumbuhan koloni pada kontrol, maka tidak boleh lebih dari 10 koloni.
6. Jika ada pertumbuhan pada control lebih dari 10 koloni maka pemeriksaan perlu diulang karena kemungkinan sterilitasnya kurang.
7. Cara perhitungan koloni menggunakan Coloni counter

Rumus perhitungan :

$$\text{Jumlah kuman per ml} = \frac{N \times 63 \times P}{10}$$

Keterangan :

N = Jumlah koloni dalam 10 kotak

63 = Luas plate, dari perhitungan $22/7 \times r \times r$ diameter petridish 9 cm

P = Pengenceran yang dihitung

10 = Jumlah kotak yang dihitung

(Suprayudi, 2007 dalam Isnaini, 2011).

Data yang diperoleh dari uji bakteriologi dihitung dengan menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT). Hasil yang diperoleh ditabulasikan. Data Angka Lempeng Total (ALT) pada ikan pindang yang telah dikumpulkan, ditabulasikan seperti contoh table dibawah ini.

**Tabel 3.1 Contoh Tabel Pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT)
pada ikan pindang yang di jual di Pasar Sutorejo-Surabaya**

No.	Kode Sampel	Jumlah Angka Lempeng Total (ALT)	Prosentase		Keterangan
		Ikan pindang	MS	TMS	
1					
2					
3					
-					
-					
Σ					

Keterangan :

1. MS : Memenuhi Syarat
2. TMS : Tidak Memenuhi Syarat

3.6 Metode Analisa Data

Data disajikan dalam prosentase, dalam bentuk prosentase ikan pindang yang memenuhi syarat dan prosentase ikan pindang yang tidak memenuhi syarat.

