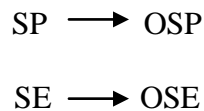


## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini menggunakan rancangan penelitian observasi analitik laboratorium dengan tujuan untuk mengetahui analisa derajat keasaman (pH) dan angka reduktase kuman pada susu sapi perah. Dengan rancangan penelitian sebagai berikut :



**Gambar 3.1 : Rancangan penelitian**

Keterangan :

SP : sampel susu pekat yang telah mengalami pemanasan

SE : sampel susu encer yang telah mengalami pemanasan

OSP : observasi derajat keasaman dan angka reduktase kuman susu pekat yang telah mengalami pemanasan

OSE : observasi derajat keasaman dan angka reduktase kuman susu encer yang telah mengalami pemanasan

Sampel susu kemasan diambil dari tempat pemerahan sapi di daerah PLATUK DONOMULYO. Susu kemasan yang telah mengalami pemanasan ada dua jenis, yaitu susu pekat dan encer. Selanjutnya setiap jenis susu diukur derajat keasaman (pH) dan angka reduktase kuman, kemudian hasilnya dibandingkan.

## **3.2 Populasi dan Sampel**

### **3.2.1 Populasi**

Populasi dari penelitian ini adalah susu sapi yang diperoleh dari tempat pemerahan susu sapi di daerah PLATUK DONOMULYO.

### **3.2.2 Sampel**

Dalam penelitian sampel yang diambil adalah susu sapi pekat dan susu sapi encer yang telah mengalami pemanasan dalam kemasan plastik. Dengan jumlah sampel di atas 30 (Amsyari, 1981). Total sampel yang diambil sebanyak 62 sampel. Sampel susu pekat sebanyak 31 sampel dan susu encer sebanyak 31 sampel.

## **3.3 Lokasi dan Waktu penelitian**

### **3.3.1 Lokasi Penelitian**

Lokasi penelitian dilakukan pada tempat pemerahan susu sapi di daerah Platuk Donomulyo, sedangkan pemeriksaan dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

### **3.3.2 Waktu Penelitian**

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai Mei 2013, sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan April 2013.

## **3.4 Variabel dan Definisi Operasional**

### **3.4.1 Variabel Penelitian**

Variabel bebas : susu sapi pekat dan encer dalam kemasan yang telah mengalami pemanasan.

Variabel terikat : derajat keasaman (pH) dan angka reduktase kuman.

Variabel kontrol : wadah kemasan, metode pemeriksaan serta lama penyimpanan susu pekat dan encer yang telah mengalami pemanasan di tempat pemerahan.

### **3.4.2. Definisi Operasional**

1. Sampel susu sapi pada penelitian ini dikategorikan :
  - a. Susu sapi pekat adalah susu sapi murni hasil pemerahan yang mendapat perlakuan pemanasan di tempat pemerahan tanpa ada penambahan sesuatu kedalamnya.
  - b. Susu sapi encer adalah susu sapi murni hasil pemerahan yang mendapat perlakuan pemanasan dan penambahan atau pemalsuan susu di tempat pemerahan. Sehingga susu encer kepekatannya berbeda dari pada susu pekat.
2. Derajat keasaman (pH) susu sapi diukur menggunakan pH meter berupa angka yang memberikan gambaran tentang tingkat kerusakan susu akibat pertumbuhan mikroba. Derajat keasaman (pH) pada penelitian ini dikategorikan sebagai berikut :
  - a. Normal, jika pH susu 6,3-6,8
  - b. Tidak normal, jika pH susu  $< 6,3$ 

Menurut Anang (2002), derajat keasaman (pH) susu normal adalah 6,3-6,8 sedangkan pH susu tidak normal adalah  $< 6,3$ .
3. Angka reduktase kuman adalah angka yang memprediksikan jumlah bakteri secara kualitatif di dalam sampel susu. Angka reduktase kuman diukur dengan satuan waktu sampai warna biru indikator metilen biru hilang yang dikategorikan sebagai berikut :

- a. Memenuhi syarat (MS), jika angka reduktase kuman memenuhi syarat BPOM yaitu perubahan warna larutan biru metilen hilang sempurna dalam waktu  $> 5$  jam.
- b. Tidak Memenuhi Syarat (TMS), jika angka reduktase kuman tidak memenuhi syarat BPOM yaitu perubahan warna larutan biru metilen hilang sempurna dalam waktu  $< 5$  jam.

### **3.5 Metode Pengumpulan Data**

Data sampel susu pekat dan encer diperoleh dengan cara observasi atau pengamatan secara langsung di tempat pemerahan susu sapi perah di daerah Platuk donomulyo. Langkah-langkah persiapan sampel pemeriksaan derajat keasaman (pH) dan angka reduktase kuman yang dilakukan diantaranya sebagai berikut :

#### **3.5.1. Alat-alat**

1. Spidol permanent
2. Plastik

#### **3.5.2. Bahan**

Susu sapi pekat dan encer dalam kemasan plastik yang diperoleh dari tempat pemerahan susu sapi perah di daerah Platuk donomulyo. Susu sapi pekat di dapat dengan cara memesan pada tempat pemerahan sedangkan susu sapi encer di ambil secara random pada tempat pemerahan tersebut.

#### **3.5.3. Prosedur**

1. Sampel susu dalam kemasan plastik.
2. Melabeli atau menuliskan kode sampel yang sesuai pada kemasan susu.

3. Membawa susu ke laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

Data pertumbuhan bakteri diperoleh dengan cara observasi tidak langsung, yaitu dengan melalui uji Laboratorium. Pemeriksaan bakteri pada susu sapi menggunakan metode derajat keasaman (pH) dan angka reduktase kuman. Langkah-langkah pemeriksaannya diantaranya sebagai berikut :

#### **3.5.4. Persiapan Pemeriksaan**

1. Menyiapkan alat dan reagen yang dibutuhkan.
2. Melakukan sterilisasi alat dengan autoclave.

#### **3.5.5. Pemeriksaan Derajat Keasaman (pH)**

##### **Prinsip Pemeriksaan**

Pengukuran derajat keasaman (pH) susu dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman susu sehingga dapat diperkirakan kualitas dan keamanan susu untuk dikonsumsi. Pada prinsipnya berbagai macam (merk) pH meter dapat digunakan, sebagai kontrol digunakan larutan buffer (pH 7). Susu normal mempunyai pH sekitar 6,3-6,8. Apabila pH susu yang diuji dibawah pH susu normal maka susu tersebut sudah mulai rusak, karena turunnya pH merupakan akibat adanya asam yang dibentuk oleh bakteri pembusuk didalam susu (Anang, 2002).

##### **Alat-alat :**

1. pH meter
2. Tabung reaksi
3. Pipet ukur
4. Rak tabung

5. Api spirtus, kaki tiga
6. Filler

**Prosedur :**

1. Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
2. Menyalakan api spirtus dengan korek api.
3. Mengkalibrasi pH meter pada larutan buffer 7 sampai alat stabil pada pH 7.
4. Melakukan pemeriksaan derajat keasaman (pH) menggunakan pH meter pada masing-masing sampel susu.
5. Derajat keasaman (pH) susu berupa angka.

**3.5.6. Pemeriksaan Angka Reduktase Kuman**

**1. Prinsip pemeriksaan :**

Di dalam susu terdapat enzim reduktase yang terbentuk oleh kuman yang mereduksi warna biru metilen blue menjadi larutan tidak berwarna (Prawesthirini dkk, 2011).

**2. Alat- alat :**

1. Rak tabung
2. Tabung reaksi dan penyumbat tabung
2. Api spirtus, kaki tiga
3. Inkubator
4. Stopwatch

**3. Reagen Pemeriksaan**

Larutan metilen biru dibuat dengan cara :

1. Mengambil 5 ml larutan pekat metilen biru dengan alkohol absolut

2. Melarutkan dengan alkohol absolut hingga mencapai 200 ml (Prawesthirini dkk, 2011).

#### **4. Prosedur :**

1. Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
2. Menyalakan api spirtus dengan korek api.
3. Mengisi tabung reaksi dengan larutan metilen biru sebanyak 0,5 ml.
4. Menghomogenkan sampel susu pada kemasan plastik.
5. Memipet dan memasukkan 20 ml susu ke tabung reaksi sesuai kode sampel.
6. Menutup semua tabung reaksi.
7. Memasukkan tabung pada inkubator dengan suhu 37°C.
8. Memeriksa perubahan warna setiap setengah jam sampai warna biru hilang (Prawesthirini dkk, 2011).

#### **5. Hasil uji**

Hasil uji dinyatakan dalam satuan waktu, dimana waktu reduksi (angka reduktase) menunjukkan waktu yang dibutuhkan sejak saat memasukkan tabung kedalam inkubator bersuhu 37° C sampai seluruh warna biru hilang (Prawesthirini dkk, 2011).

### 3.5.7 Tabulasi Data

Data yang diperoleh ditabulasikan sebagai berikut :

**Tabel 3.1. Contoh tabulasi data**

No	Kode sampel	Susu Pekat				Kode sampel	Susu Encer			
		Derajat keasaman (pH)		Angka Reduktase Kuman			Derajat Keasaman (pH)		Angka Reduktase Kuman	
		Angka	Ket	Angka	Ket		Angka	Ket	Angka	Ket
1.										
2.										
3.										
4.										
5.										
6.										
7.										
8.										
...										
...										
31										

### 3.6 Metode Analisis Data

Data yang diperoleh diuji menggunakan uji chi – square dengan tingkat kesalahan 5% (0,05).