

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi yang digunakan adalah jamu gendong (kunyit asam) yang tersebar di desa Gabus Kulon, kabupaten Sragen. Sampel yang digunakan yaitu sejumlah sampel jamu gendong yang diambil berdasarkan wilayah per Rukun tetangga (RT) dari 4 RT diambil 3 RT di desa Gabus Kulon kecamatan Ngerampal, Sragen pada tanggal 11 Maret 2019.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi Variabel Utama**

Variabel utama pertama adalah produk jamu gendong kunyit asam dari pedagang Rt 01, Rt 02, dan Rt 03 yang tersebar di wilayah desa Gabus Kulon, kabupaten Sragen.

Variabel utama kedua adalah nilai angka lempeng total, dan angka kapang khamir dari sampel jamu gendong kunyit asam

##### **2. Klasifikasi Variabel Utama**

Klasifikasi diperlukan untuk menentukan alat pengambilan data dan metode analisis data yang sesuai berdasarkan pada hubungan sebab akibat variabel tergantung disatu pihak dan variabel bebas.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung, variabel bebas dalam penelitian ini adalah jamu gendong kunyit asam dipedagang Rt 01, Rt 02, dan Rt 03.

Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan klasifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan diulangi oleh peneliti lain secara tepat yang digunakan adalah batasan maksimum cemaran mikroba yang ditetapkan mempengaruhi proses penelitian, waktu inkubasi, suhu inkubasi, waktu pengambilan sampel, pengerjaan medium, pengerjaan sampel, jumlah sampel.

Variabel tergantung pada penelitian ini pertumbuhan mikroorganisme dimedia uji.

### **3. Definisi Operasional Variabel Utama**

Pertama, jamu gendong kunyit asam adalah jamu kunyit asam yang dijual oleh pedagang jamu didesa Gabus Kulon, kecamatan Ngerampal, kabupaten Sragen.

Kedua, nilai angka lempeng total adalah jumlah koloni yang tumbuh pada media nutrien agar dengan suhu inkubasi 37°C selama 1 kali 24 jam.

Ketiga, nilai angka kapang dan khamir adalah jumlah koloni yang tumbuh pada media Sabouraud Glukosa agar yang diinkubasi pada suhu ruang selama 5 kali 24 jam dalam suhu ruangan

Keempat koloni adalah pertumbuhan sekelompok mikroorganisme baik dalam bentuk koloni kecil, besar, rantai dianggap satu koloni.

Kelima Standar BPOM Nomor 16 Tahun 2016 jamu gendong termasuk dalam minuman seduhan dan menyatakan bahwa untuk Angka Lempeng Total(ALT) untuk 5 sampel tidak boleh lebih dari  $10^4$  dan 2 sampel tidak boleh lebih dari  $10^3$ , sedangkan untuk Angka Kapang Khamir untuk 5 sampel tidak boleh  $10^3$  dan 2 sampel tidak boleh lebih dari  $10^2$ .

### **C. Bahan dan Alat**

#### **1. Bahan**

Pada penelitian ini digunakan bahan sebagai berikut, Jamu gendong kunyit asam, Aquades Steril, Sabouraud Glukosa agar, Nutrien agar,

#### **2. Alat**

Pada penelitian ini digunakan berbagai alat antara lain, pipet ukur 10 ml, dan 1 ml, cawan petri, pemanas spiritus, inkubator, rak tabung reaksi, kapas, pinset, gelas ukur, tabung reaksi

### **D. Jalannya Penelitian**

#### **1. Persiapan Sampel**

Pengambilan sampel jamu gendong, wadah harus steril. Botol kaca, tutup botol harus dicuci dengan bersih dan dikeringkan. Botol yang sudah kering disteril menggunakan oven. Botol yang sudah steril sebaiknya harus langsung digunakan, pengambilan sampel pada produk jamu gendong kunyit asam dengan cara jamu gendong langsung dimasukkan kedalam wadah yang telah disiapkan, dan sesegera mungkin dilakukan analisis. Waktu pengambilan sampel dengan pemeriksaan tidak

boleh lebih dari 24 jam, karena jika sudah lebih dari 24 jam kemungkinan jamu gendong kunyit asam akan mengalami kerusakan (basi), dan khasiat yang terkandung dalam jamu akan berkurang.

## 2. Pembuatan media

Media Nutrien agar (NA), dan Sabouraud Glukosa agar (SGA) ditimbang sesuai dengan kebutuhan, kemudian tambahkan aquades, dipanaskan didiatas water bath dengan suhu kurang lebih 45°C untuk media SGA ditambahkan cloram fenicol, kemudian setelah dipanaskan dimasukkan kedalam tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi berisi sebanyak 15 ml media, setelah masuk dalam tabung reaksi ditutup dengan menggunakan kapas dan disterilkan menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 20 menit.

## 3. Pemeriksaan Bahan

**3.1 Angka Lempeng Total (ALT).** Sampel dibuat pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  dan  $10^{-4}$  dengan menggunakan aquades steril. Pipet 1 ml sampel dari  $10^0$  dengan menggunakan alat yang sudah steril masukkan kedalam pengenceran  $10^{-1}$ , 1 ml pengenceran dari tabung  $10^{-1}$  dimasukkan kedalam pengenceran  $10^{-2}$ , dan selanjutnya dilakukan sampai pengenceran  $10^{-4}$ . Setiap 1 ml pengenceran dimasukkan ke dalam petridish steril yang berisi nutrien agar, masing-masing petridish digoyang perlahan sehingga sampel tercampur merata dengan media dibiarkan dingin dan membeku. Bahan dimasukkan kedalam inkubator bersuhu 37°C selama 1x24 jam dalam keadaan terbalik.

Rumus Perhitungan :  $Jumlah\ Koloni\ Tumbuh \times \frac{1}{Faktor\ pengenceran}$

**3.2 Uji Angka Kapang dan Khamir.** Sampel dibuat pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$  dengan menggunakan aquadest steril. Pipet 1 ml sampel dengan pipet ukur steril dimasukkan kedalam pengenceran  $10^{-1}$ , 1 ml pengenceran dari tabung  $10^{-1}$  dimasukkan ke dalam pengenceran  $10^{-2}$ , dan selanjutnya sampai  $10^{-3}$ . Sebanyak 1 ml dari setiap pengenceran dimasukkan ke dalam petridish steril yang berisi Sabraun Glukosa Agar yang telah dipanaskan dalam water bath kurang lebih  $45^{\circ}\text{C}$  sebanyak 15-20 ml. Masing-masing petridish digoyang perlahan sehingga tercampur merata dan dibiarkan dingin dan membeku. Bahan dimasukkan dalam tempat yang sejuk dengan suhu ruangan selama 5 x 24 jam dalam keadaan terbalik.

Rumus Perhitungan :  $\text{Nilai AKK} = \frac{\text{AKK tinggi}}{\text{AKK rendah}}$

**3.3 Analisis Data.** Berdasarkan hasil yang di peroleh Angka Lempeng Total pada sampel jamu gendong kunyit asam sampel A,B, dan C tidak memenuhi standar karena pada Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, Nomor 16 Tahun 2016, jamu gendong termasuk dalam minuman seduhan dan menyatakan bahwa standar Angka Lempeng Total (ALT) untuk 5 sampel tidak boleh lebih dari  $10^4$  dan 2 sampel tidak boleh lebih dari  $10^3$ . Hasil perhitungan Angka Kapang dan Khamir pada jamu gendong kunyit asam sampel A,B, dan C memenuhi standar yang ditetapkan oleh Badan Pengawasan Obat dan Makanan Nomor 16 Tahun 2016 jamu gendong termasuk dalam minuman Seduhan Herbal yang menyebutkan bahwa 5 sampel tidak boleh lebih dari  $10^3$  dan 2 sampel tidak boleh lebih dari  $10^2$ .