

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian Deskriptif, desain penelitian yang digunakan adalah Observasional, yaitu menggali data tentang Mutu Kimia dan Mikrobiologis Makanan Jajanan Bakso Bakar Yang Dijual Di Sekitar Masjid Ibnu Sina Malang (Kandungan boraks dan cemaran bakteri *Salmonella sp*).

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi yaitu jangkauan generalisasi yang terjadi atas objek dan subyek yang memiliki kualitas dan karakteristik tertentu dan ditetapkan oleh peneliti supaya dipelajari dan selanjutnya disimpulkan (Sugiono, 2011). Populasi penelitian ini adalah bakso bakar yang dijual di Sekitar Masjid Ibnu Sina Kota Malang.

3.2.2 Sampel

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah total sampling. Total sampling adalah teknik pengambilan sampel dimana jumlah sampel sama dengan populasi. Sampel yaitu objek yang mau diteliti dan dianggap mewakili semua populasi (Notoatmodjo, 2010). Pada penelitian ini sampel yang dipakai yaitu 3 sampel bakso bakar dari pedagang yang berbeda.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

3.3.1 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Maret 2021.

3.3.2 Tempat Penelitian

Sampel penelitian diperoleh dari Sekitar Masjid Ibnu Sina Kota Malang, penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang yang berada di Jl. Besar Ijen No. 77 C di Kota Malang.

3.4 Variabel

3.4.1 Variabel Independen (Bebas)

Variabel bebas yaitu variabel yang dimanipulasi oleh peneliti untuk menciptakan suatu dampak pada variabel terikat (Dependent variable) (Setiadi, 2012). Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebas adalah bakso bakar.

3.4.2 Variabel Dependen (Terikat)

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas (Setiadi, 2012). Dalam penelitian ini yang menjadi variabel terikat adalah bakteri *Salmonella sp* dan boraks.

3.5 Definisi Operasional

No	Nama Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Pengukuran
1.	Organoleptik bakso bakar (aroma, rasa, warna dan tekstur)	Pengujian yang didasarkan pada proses pengindraan.	Dilakukan pengamatan menggunakan indera.	<ul style="list-style-type: none"> – Aroma : ditandai dengan harum khas bakso yang dihasilkan. – Rasa : ditandai dengan gurih atau tidaknya bakso yang dihasilkan – Warna : ditandai dengan warna netral dari bakso yaitu abu-abu . – Tekstur : ditandai dengan kasar atau halus nya bakso yang dihasilkan. 	Nominal

- | | | | | | |
|----|-------------------------------------|---|---|--|---------|
| 2. | Adanya bakteri <i>Salmonella sp</i> | Bakteri yang diperiksa pada sampel bakso bakar melalui proses pemeriksaan dengan uji pelengkap. | Dilakukan uji menggunakan kultur <i>Salmonella sp</i> , media selektif SSA, dan pewarnaan gram. | Positif apabila pada media SSA terbentuk bulat, adanya perubahan warna kuning pada butt (dasar) dan merah pada slant (permukaan miring). | Nominal |
| 3. | Kadar boraks | Untuk mengetahui adanya boraks dalam bakso bakar | Diukur dengan menggunakan kertas turmeric. | Positif apabila terbentuk warna merah. | Nominal |

3.6 Teknik Analisis Data

Data hasil dari penelitian ini dianalisis secara deskriptif berdasarkan morfologi koloni terhadap bakteri *Salmonella sp*, pewarnaan gram serta pengujian biokimia. Untuk analisis data uji boraks dan hygiene sanitasi di tampilkan data yang diperoleh dalam bentuk tabel kemudian data dideskripsikan.

3.7 Metode Penelitian Bakteri *Salmonella sp*

3.7.1 Alat dan Bahan

3.7.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung reaksi, rak tabung, aluminium foil, erlenmeyer, bunsen, cawan petri, batang pengaduk, hotplate, inkubator, ose bulat dan jarum, neraca analitik, timbangan ohaus, mikroskop, mortar dan alu, korek api, lemari pendingin, lemari steril, autoklaf, oven, laminar air flow, pipet dan label.

3.7.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini meliputi sampel bakso bakar, aquades (*hydrobatt*), media Nutrient Broth (NB) (*merck*), media Nutrient Agar Slant (NAS) (*merck*), media Salmonella Shigella Agar (SSA) (*himedia*), media Sulfide Indole Motility (SIM) (*merck*), media Methyl Red Voges Proskauer (MRVP) (*merck*), media Simmon's Citrat Agar (SCA) (*merck*), media Kligler Iron Agar (KIA) (*himedia*), Reagen Kovac' (*merck*), Reagen MR (*merck*), KOH 40% (*merck*), a-naphtol (*merck*), Alkohol 95% (*onemed*), larutan Kristal Violet (*merck*), larutan Iodium (*merck*), larutan Safranin (*merck*), kapas (*Mutiara*) dan aluminium foil (*best fresh*).

3.7.2 Tahap Persiapan

3.7.2.1 Sterilisasi Basah

Bahan dan alat yang disterilisasi dalam autoklaf yaitu media NAS, NB, SSA, aquades dalam tabung erlenmeyer, dan tabung reaksi. Bahan dan alat baik yang belum digunakan dan sudah digunakan terlebih dahulu dibungkus dengan kertas tahan panas, lalu dimasukkan kedalam autoklaf selama \pm 1-2 jam.

3.7.2.2 Sterilisasi Kering

Sterilisasi merupakan proses untuk membunuh mikroorganisme seperti jamur, bakteri, virus, dan prion secara efektif dari permukaan alat-alat, makanan, medikasi atau medium kultur biologi. Pada penelitian ini cara yang digunakan untuk sterilisasi alat yang akan digunakan dengan cara tabung reaksi, elemenyer, gelas ukur, spatula dan cawan petri disterilisasi setelah dicuci dengan sabun lalu dipanaskan menggunakan oven pada suhu 151°C selama 1 jam. Ose bulat akan disterilisasi dengan cara membakar diatas bunsen sebelum digunakan (Sultana, 2007).

3.7.2.3 Pengambilan Sampel

Sampel bakso bakar yang dibeli di penjual bakso bakar di Sekitar Masjid Ibnu Sina Kota Malang dimasukkan ke dalam wadah sampel steril yang terbuat dari kaca dan bermulut lebar, kemudian

ditutup rapat dan diberi label. Kemudian wadah sampel dimasukkan ke dalam boks Styrofoam yang berisi es batu dan dibawa ke laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang menggunakan sepeda motor.

3.7.2.4 Pembuatan media NB, SSA dan NAS

1. Media NB dilarutkan dalam 9 ml aquades, media SSA dilarutkan dalam 100 ml aquades dan media NA dilarutkan dalam 25 ml aquades. Media SSA dan NA dilarutkan dengan memanaskan hingga mendidih dan larut sempurna.
2. Media yang berada dalam erlenmeyer didinginkan dan disterilkan di autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C dengan menutup mulut Erlenmeyer dengan *aluminium foil*.
3. Setelah itu media NB dipipet 9 ml kedalam tabung reaksi steril lalu ditutup mulut tabung dengan kapas. Dipipet media SSA masing-masing sebanyak 20 ml kedalam 5 tabung reaksi lalu ditutup mulut tabung dengan kapas. Dipipet media NAS masing-masing sebanyak 5 ml kedalam 5 tabung reaksi lalu ditutup mulut tabung dengan kapas.
4. Semua media disimpan dalam lemari pendingin.

3.7.2.5 Preparasi dan Penyiapan Sampel Bakso Bakar

1. Dihaluskan sampel bakso bakar menggunakan mortal dan alu
2. Ditimbang masing-masing sampel bakso bakar sebesar 1 gram
3. Dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi larutan pengencer aquades 9 ml dan dihomogenkan

3.7.3 Tahap Pengujian

3.7.3.1 Penanaman pada Media NB

1. Dipipet 1 ml larutan sampel
2. Dimasukkan ke dalam media NB

3. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam

3.7.3.2 Penanaman pada Media SSA

1. Diambil 1 ose larutan dari media NB menggunakan ose jarum
2. Digoreskan diatas permukaan media SSA
3. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam
4. Diamati hasil positif yaitu dengan adanya koloni bewarna hitam / putih keabuan

3.7.3.3 Penanaman pada Media NAS

1. Diambil 1 ose jarum koloni dari media SSA
2. Diinokulasikan dalam media NAS dengan cara menusukkan ose jarum hingga 2/3 tabung kemudian digoreskan pada permukaan lereng media (agar miring)
3. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam
4. Diamati adanya pertumbuhan koloni

3.7.3.4 Pewarnaan Gram

1. Kaca preparat disterilisasi menggunakan alkohol
2. Ditetaskan 1-2 tetes aquades diatas kaca preparat
3. Ose bulat disterilisasi dengan metode panas pijar
4. Bakteri diambil menggunakan ose lalu diletakkan diatas kaca preparat dan diratakan dengan memutar
5. Kaca preparat yang telah terdapat bakteri kemudian difiksasi
6. Bakteri yang telah difiksasi ditetesi dengan kristal violet, dibiarkan selama 1 menit kemudian dibilas menggunakan air mengalir
7. Ditetesi iodium, dibiarkan 1 menit kemudian dibilas menggunakan air mengalir
8. Ditetesi alkohol, dibiarkan 30 detik kemudian dibilas menggunakan air mengalir
9. Ditetesi safranin, dibiarkan 1 menit kemudian dibilas menggunakan air mengalir

10. Difiksasi preparat sampai mengering
11. Diamati menggunakan mikroskop dengan kaca perbesaran 1000x dengan penambahan minyak imersi

3.7.3.5 Pewarnaan pada Media KIA

1. Diinokulasi koloni bakteri dari media SSA dengan cara tusukan dan goresan menggunakan ose jarum
2. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam
3. Diamati hasil positif yaitu dengan adanya gas, ditandai dengan pecahnya media diatas, terbentuk warna hitam pada media, bagian lereng berwarna merah

3.7.3.6 Uji IMVIC

3.7.3.6.1 Uji Indol

1. Diinokulasi koloni bakteri dari media SSA dengan cara menusuk tegak pada media Sulfide Indole Motility (SIM)
2. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam
3. Ditambahkan 5 tetes reagen kovac's ke dalam tabung
4. Dikocok secara perlahan dan biarkan tabung dalam posisi tegak
5. Diamati permukaan media. Terbentuknya cincin merah tua pada permukaan media menunjukkan uji Indol positif

3.7.3.6.2 Uji Methyl Red

1. Diinokulasi koloni secara tusuk tegak biakan bakteri *Salmonella* pada media MR-VP
2. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam
3. Ditambahkan 5 tetes reagen Methyl Red ke dalam tabung

4. Dikocok secara perlahan dan biarkan tabung dalam posisi tegak
5. Diamati permukaan media. Terbentuknya warna merah menunjukkan uji Methyl Red positif

3.7.3.6.3 Uji Voges Proskaver

1. Diinokulasi koloni secara tusuk tegak biakan bakteri *Salmonella* pada media MR-VP
2. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam
3. Ditambahkan 0,6 ml reagen a-naftol 5% dan 0,5 ml KOH 40% ke dalam tabung
4. Dikocok secara perlahan dan biarkan tabung dalam posisi tegak
5. Diamati permukaan media. Terbentuknya warna merah menunjukkan uji Voges Proskaver positif

3.7.3.6.4 Uji Citrate

1. Diinokulasi koloni secara tusuk tegak biakan bakteri *Salmonella* pada media Simmon's Citrat Agar
2. Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam
3. Diamati pertumbuhan mikroba. Perubahan media dari hijau menjadi biru menunjukkan uji Citrate positif

3.8 Metode Analisis Boraks

3.8.1. Alat

Alat yang digunakan adalah saringan, piring, kertas saring (*whatman*), tisu (*nice*), pipet tetes.

3.8.2 Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah aquades (*hydrobatt*), kunyit dan jajanan bakso bakar.

3.8.3 Pembuatan Kertas Tumerik

1. Diambil beberapa potong kunyit, kemudian ditumbuk dan disaring hingga diperoleh filtrat kunyit berwarna kuning
2. Dichelupkan kertas saring ke dalam filtrat kunyit tersebut lalu dikeringkan

3.8.4 Prosedur

1. Diambil sampel bakso bakar secukupnya, kemudian ditumbuk hingga halus
2. Dimasukkan sampel tersebut ke dalam cawan porselen dan ditambahkan air panas
3. Dihancurkan larutan sampel hingga menyerupai bubur
4. Dipindahkan ke dalam tabung reaksi
5. Diambil kertas tumerik, ujung kertas dimasukkan ke dalam sampel kemudian dikeringkan
6. Diamati perubahan warna, apabila terbentuk warna merah maka positif mengandung boraks