

BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif. Penelitian deskriptif dilakukan terhadap sekumpulan objek yang biasanya bertujuan untuk mendeskripsikan atau memberi gambaran suatu obyek yang diteliti sebagaimana adanya tanpa melakukan analisis (Sugiyono, 2013). Dalam penelitian ini penulis menggambarkan atau mendeskripsikan tentang angka lempeng total serta identifikasi *Salmonella sp.* pada lawar babi yang dijual di Kecamatan Denpasar Selatan.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

- a. Lokasi untuk pengambilan sampel dilakukan di Denpasar Selatan.
- b. Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Jurusan Analis Kesehatan, Politeknik Kesehatan Denpasar di jalan Sanitasi No. 1 Sidakarya, Denpasar Selatan.

2. Waktu Penelitian

Waktu pengambilan sampel dan pemeriksaan laboratorium untuk penelitian dilaksanakan pada bulan Februari - Mei 2019.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi penelitian merupakan sekumpulan subjek yang menjadi objek atau sasaran peneliti (Sugiyono, 2013). Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh lawar babi yang dijual di Kecamatan Denpasar Selatan.

2. Sampel penelitian

a. Unit analisis

Unit analisis pada penelitian ini adalah lawar babi yang diperoleh dari warung lawar babi di Kecamatan Denpasar Selatan.

b. Besar sampel

Sampel adalah sebagian atau wakil populasi yang diteliti (Noor, 2016). Dari 32 warung lawar babi yang tersebar di wilayah Kecamatan Denpasar Selatan, jumlah warung yang akan diambil lawar babinya sebagai sampel adalah 18 warung. Masing-masing warung lawar babi akan diambil sampel lawar babinya sebanyak 10 gram sehingga jumlah keseluruhan sampel yang diambil pada 18 warung lawar babi yaitu sebanyak 180 gram.

c. Teknik sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik *cluster sampling*, yakni teknik sampling yang didasarkan pada suatu kelompok atau gugusan yang terdiri dari unit geografis (Azwar, 2016). Warung lawar babi yang tersebar di 10 wilayah Kecamatan Denpasar Selatan memiliki jumlah yang bervariasi, maka penentuan warung lawar babi yang akan diambil lawar babinya sebagai sampel dilakukan melalui dua tahapan (*two stage cluster sampling*). Tahap 1 dilakukan pemilihan psu (*primary sampling unit*) yang akan digunakan

sebagai sampel, kemudian tahap 2 dilakukan pemilihan unit elementer dari setiap psu yang akan dijadikan sampel dengan cara acak dan berimbang (Nazir, 2005).

Tabel 2
Jumlah Warung Lawar Babi di Masing-Masing Desa
di Kecamatan Denpasar Selatan

No	Desa/ Kelurahan	Total Warung Lawar Babi tiap Desa	<i>Cluster sampling</i> (Jumlah warung \times <i>fraction</i> 50%)	Total Pengambilan (Warung)	Besar Sampel Lawar Babi (gram)
1.	Kelurahan Sesetan	6	6 x 0,5	3	3 x 10 = 30
2.	Desa Sidakarya	5	5 x 0,5	3	3 x 10 = 30
3.	Kelurahan Panjer	6	6 x 0,5	3	3 x 10 = 30
4.	Kelurahan Sanur	7	7 x 0,5	4	4 x 10 = 40
5.	Kelurahan Renon	3	3 x 0,5	2	2 x 10 = 20
6.	Desa Sanur Kaja	0	-	-	-
7.	Desa Sanur Kauh	2	2 x 0,5	1	1 x 10 = 10
8.	Desa Pemogan	1	1 x 0,5	1	1 x 10 = 10
9.	Desa Serangan	0	-	-	-
10.	Desa Pedungan	2	2 x 0,5	1	1 x 10 = 10
Total		32		18	180

Dari data primer tersebut, diperoleh keterangan bahwa terdapat 10 wilayah di Kecamatan Denpasar Selatan ($M = 10$). Pada penelitian ini, pemilihan desa dilakukan dengan menggunakan *fraction* 100%, sehingga semua desa dapat digunakan sebagai sampel. Tidak semua warung lawar babi digunakan sebagai responden, tetapi dari hasil tahap satu akan ditarik kembali sampel tahap kedua secara acak dan berimbang dengan *fraction* 50%, sehingga diperoleh 18 warung lawar babi yang akan diambil lawar babinya sebagai sampel.

Untuk memilih warung di tiap desa yang akan diambil lawar babinya sebagai sampel digunakan teknik random sampling secara undian dengan tujuan untuk menghindari adanya unsur subjektivitas (Azwar, 2016).

3. Kriteria sampel

a. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi merupakan kriteria yang perlu dipenuhi untuk setiap sampel lawar yang diambil sebagai anggota sampel. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah lawar babi yang baru selesai diolah yang menggunakan campuran darah babi serta daging babi yang telah direbus dan dijual di warung lawar babi di Kecamatan Denpasar Selatan.

b. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi merupakan kriteria yang tidak dapat diambil sebagai sampel. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah lawar babi yang menggunakan daging babi mentah dan tanpa penambahan darah babi yang dijual di rumah makan maupun restoran di Kecamatan Denpasar Selatan.

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer merupakan data yang didapat secara langsung di lapangan, dalam penelitian ini adalah jumlah warung lawar babi di Kecamatan Denpasar Selatan, hasil pemeriksaan laboratorium yang meliputi: pemeriksaan angka lempeng total dan identifikasi bakteri *Salmonella sp.*.

b. Data sekunder

Data yang telah disusun oleh pihak lain digunakan sebagai data pendukung penelitian (Sugiyono, 2013). Data sekunder yang didapat dengan mengutip denah peta Kecamatan Denpasar Selatan.

2. Cara pengumpulan data

Cara pengumpulan data melalui wawancara dan observasi yaitu pengamatan secara langsung terhadap kondisi tempat berjualan lawar babi serta proses penyajian lawar babi dan melakukan pemeriksaan laboratorium untuk mengetahui angka lempeng total dan mengidentifikasi bakteri *Salmonella sp.* pada lawar babi.

a. Wawancara

Wawancara dengan pedagang dilakukan dengan terlebih dahulu penulis melakukan pendekatan kepada pedagang lawar babi kemudian menjelaskan maksud dan tujuan penulis sehingga pedagang lawar babi dapat memahami maksud penelitian dan mengetahui umur, lama berjualan pedagang lawar babi, bahan-bahan dalam pembuatan lawar, cara pengolahan, mengetahui lama waktu lawar babi dipajang setelah selesai diolah, setiap berapa lama kembali membuat lawar babi, dan jenis air yang digunakan saat pengolahan.

b. Observasi

Observasi berfungsi untuk melengkapi format dari pengamatan. Format observasi lawar babi yang disusun berisi tentang kondisi lingkungan, cara pengolahan dan penyajian, peralatan dan kondisi air yang digunakan, serta perlakuan pedagang sebelum dan sesudah pengolahan lawar babi.

c. Pemeriksaan laboratorium

1) Pengambilan sampel

Sampel diambil oleh peneliti secara aseptis yaitu dengan menggunakan pinset yang telah dilidhapikan di atas api Bunsen dan ditampung dalam botol steril (SNI, 2008) yang kemudian dimasukkan ke dalam coolbox dan langsung dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan serta langsung dilakukan pemeriksaan pada hari itu juga.

2) Preparasi sampel

Sampel yang digunakan ditimbang sebanyak 10 gram dengan menggunakan neraca analitik. Bahan yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berskala. Dituangkan 90 ml larutan NaCl fisiologis atau aquadest atau larutan buffer phosphate. Dihomogenkan dengan cara dikocok sebanyak 25 kali hingga homogen. Bahan dengan pengenceran 10^{-1} tersebut siap digunakan dalam pemeriksaan angka lempeng total.

3) Pemeriksaan angka lempeng total

Langkah-langkah dalam pemeriksaan angka lempeng total pada sampel lawar babi sebagai berikut (SNI, 2008).

- a) Disiapkan 6 buah tabung reaksi steril, yang disusun dalam rak tabung. Masing-masing tabung diisi kode pengenceran secara berturut-turut (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) serta kontrol dan diisi tanggal pemeriksaan.
- b) Disiapkan 6 buah cawan petri steril, pada 5 cawan petri bagian belakangnya diberi tanda sesuai kode pengenceran dan tanggal pemeriksaan serta satu cawan petri sebagai kontrol.

- c) Pada tabung pertama sampai keenam diisi dengan 9 mL NaCl fisiologis dan pada keenam cawan petri dituangkan *Plate Count Agar* (PCA) yang telah dipanaskan dalam waterbath $\pm 45^{\circ}\text{C}$ sebanyak 15-20 mL.
 - d) Diambil 1 mL campuran dari tabung pengenceran pertama dan dipindahkan ke dalam tabung kedua dengan mikropipet, cairan dihomogenkan.
 - e) Pengenceran dilakukan demikian seterusnya hingga diperoleh pengenceran bertingkat 10^{-5} .
 - f) Pengenceran yang diperoleh pada kelima tabung sebagai berikut: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . Dari masing-masing tabung di atas, dimulai dari tabung kontrol dipipet dengan mikropipet campuran sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri steril yang sesuai dengan kode pengenceran tersebut.
 - g) Sampel yang telah dituangkan ke dalam cawan petri diratakan dengan menggunakan spreader hingga sampel memenuhi permukaan cawan petri yang telah terisi media *Plate Count Agar* (PCA).
 - h) Dimasukkan ke dalam inkubator suhu 37°C selama 24 jam dalam posisi terbalik.
 - i) Pembacaan dilakukan setelah 24 jam dengan cara menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada setiap cawan petri.
- 4) Pembacaan hasil
- a) Dihitung jumlah koloni pada setiap seri pengenceran kecuali cawan petri yang berisi koloni menyebar (spreader colonies). Pilih cawan yang mempunyai jumlah koloni 25 - 250.

- b) Koloni-koloni yang bergabung menjadi satu atau membentuk satu deretan koloni yang terdekat sebagai garis tebal atau jumlah koloni yang meragukan, dihitung sebagai satu koloni kuman.
- c) Dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada cawan petri kontrol. Jumlah koloni pada cawan petri > 10, maka pemeriksaan harus diulang karena sterilisasi dianggap kurang baik. Bila jumlah koloni pada petridish kontrol lebih kecil dari 10 maka jumlah koloni pada masing-masing petridish harus terlebih dahulu dikurangi dengan jumlah koloni kontrol.

5) Contoh perhitungan

Pengenceran	Jumlah Koloni
Kontrol	1 koloni
Pengenceran 10^{-1}	350 koloni
Pengenceran 10^{-2}	167 koloni
Pengenceran 10^{-3}	95 koloni
Pengenceran 10^{-4}	53 koloni
Pengenceran 10^{-5}	20 koloni

Kontrol dari hasil tersebut memenuhi syarat dan hasil yang dapat dihitung adalah pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}

Cara menghitung angka lempeng total:

Angka Lempeng Total

$$= \frac{(167 - 1) \times 100 + (95 - 1) \times 1000 + (53 - 1) \times 10.000}{3}$$

$$= \frac{16600 + 94000 + 520.000}{3}$$

$$= \frac{630.600}{3} = 210.200 \text{ koloni tiap gram}$$

6) Identifikasi *Salmonella sp.*

Langkah dari pemeriksaan *Salmonella sp.* pada sampel lawar babi adalah sebagai berikut:

- a) Pengenceran 10^{-1} yang telah dilakukan sebelumnya, ditanam pada media *Salmonella Shigella Agar (SSA)*.
- b) Diambil 1-2 ose hasil pengenceran 10^{-1} kemudian dilakukan streak empat kuadran pada media *Salmonella Shigella Agar (SSA)* yang dikerjakan secara aseptis dekat nyala api spiritus.
- c) Diinkubasi media tersebut pada suhu $35-37^{\circ}\text{C}$ selama 24-48 jam dengan posisi terbalik.
- d) Kontrol dibuat dengan cara dimasukkannya sebanyak 15-20 mL media *Salmonella Shigella Agar (SSA)* cair pada petridish “kontrol”.
- e) Jika terjadi pertumbuhan pada media *Salmonella Shigella Agar (SSA)* berupa koloni dengan black center, maka diambil koloni yang menghasilkan black center (berwarna hitam) pada media *Salmonella Shigella agar* dan dilanjutkan dengan uji Biokimia.

Langkah-langkah dari uji Biokimia yaitu sebagai berikut:

- a) Uji TSIA
 - (1) Dipilih satu koloni tunggal yang memiliki black center pada media *Salmonella Shigella Agar (SSA)*.
 - (2) Ditanam koloni tersebut pada media TSIA dengan cara ditusuk media mulai dari pangkal kemiringan dengan ose lurus sampai ke dasar tabung, kemudian saat menarik ose kembali permukaan miring media digores.
 - (3) Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

(4) Diamati perubahan warna yang terjadi.

b) Uji Indol

(1) Diinokulasikan koloni dari biakan kuman pada media SIM dengan metode tusuk menggunakan jarum/ose lurus.

(2) Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.

(3) Ditambahkan 0,2 mL-0,3 mL reagen *Kovacs* di atas permukaan media SIM kemudian diamati reaksi yang terjadi.

(4) Hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna merah di permukaan media.

(5) Hasil negatif ditandai dengan terbentuknya cincin kuning.

c) Uji Motility

(1) Diinokulasikan koloni dari biakan kuman pada media SIM dengan metode tusuk menggunakan jarum/ose lurus.

(2) Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.

(3) Diamati reaksi yang terjadi.

(4) Hasil positif ditandai dengan terbentuknya kabut di sekitar tusukan yang berwarna putih.

d) Uji Urease

(1) Diinokulasikan koloni dari biakan kuman dengan menggunakan ose ke agar urea.

(2) Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.

(3) Diamati reaksi yang terjadi.

e) Uji Voges -Proskauer

- (1) Diambil biakan kuman dengan menggunakan ose dan diinokulasikan ke tabung yang berisi 10 mL media MR-VP.
- (2) Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.
- (3) Dipindahkan 5 mL MR-VP ke tabung reaksi dan ditambahkan 6 tetes pereaksi Barrit A dan 8 tetes Barrit B kemudian digoyang-goyangkan sampai tercampur dan didiamkan.
- (4) Diamati reaksi yang terjadi. Hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna larutan menjadi merah muda sampai merah delima.

f) Uji Metil -Red

- (1) Diambil biakan kuman dengan menggunakan ose dan diinokulasikan ke tabung yang berisi 10 mL media MR-VP.
- (2) Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.
- (3) Dipindahkan 5 mL MR-VP ke tabung reaksi dan ditambahkan 12 tetes indikator metil merah pada biakan.
- (4) Diamati reaksi yang terjadi, hasil positif ditandai dengan adanya difusi warna merah ke dalam media.

g) Uji Citrate

- (1) Diinokulasikan biakan kuman ke dalam media simon sitrat dengan menggunakan ose.
- (2) Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.
- (3) Diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari hijau menjadi biru.

h) Uji gula-gula

- (1) Diinokulasikan koloni dari biakan kuman ke masing-masing media gula-gula.
- (2) Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.
- (3) Diamati reaksi yang terjadi. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung gas pada tabung durham (terbentuknya gas) dan terjadinya perubahan warna media gula-gula (terbentuk asam laktat).

3. Instrumen Penelitian

a. Instrumen pengumpulan data

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah alat tulis, alat dokumentasi, lembar distribusi frekuensi jawaban responden, dan lembar observasi.

b. Instrumen pada pemeriksaan laboratorium adalah:

- 1) Alat yang diperlukan dalam penelitian antara lain: erlenmeyer (*Iwaki-Pyrex*®) volume 100 mL (4 buah), gelas ukur (*Iwaki-Pyrex*®) volume 500 mL (2 buah), tabung reaksi (*Iwaki-Pyrex*®) volume 20 mL (50 buah), mikropipet 1000 µl (1 buah) dan 100 µl (1 buah) (*Biocorex*), Coolbox (1 buah), rak tabung (2 buah), colony counter (*Stuart*) (1 buah), blue tip (30 buah), yellow tip (30 buah), spiritus (1 buah), petridish (200 buah), pinset (1 buah), spidol (1 buah), batang pengaduk (1 buah), d & n ballpipet (2 buah), spatula (2 buah), ose (1 buah), spreader (1 buah), neraca analitik (*RADWAG*) (1 buah), inkubator (*T01892-ESCO*) (1 buah), autoclave (*Tomysx-500*) (1 buah), Biosafety Cabinet (*BIOBASE*) (1 buah), magnetic stirrer (*JISICO*), aluminium foil, benang gulung, kapas berlemak, korek api, dan gunting.

- 2) Media yang digunakan antara lain: Aquadest (*BRATACO*), NaCl (*MERCK*) 0,9%, media Plate Count Agar (*OXOID*), media Salmonella Shigella agar, media TSIA, media Urease, media SIM, IMVIC, dan media gula-gula.

E. Pengolahan dan Teknik Analisis Data

1. Pengolahan data

Data-data yang dikumpulkan dari hasil pengujian, wawancara, dan observasi diolah dengan menggunakan teknik pengolahan data secara *tabulating* data yaitu data yang disajikan dalam tabel dengan diberi narasi.

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif yaitu membandingkan kenyataan di lapangan atau hasil pemeriksaan dengan teori serta dengan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 16 Tahun 2016 tentang kriteria mikrobiologi dalam pangan.