BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah observatif yang mengkaji secara rinci atas kasus kemudian dilakukan pengujian menggunakan metode analisis kuantitatif mikroba yaitu total mikroba.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Pantai Sanur di daerah kota Denpasar. Dipilihnya lokasi ini dengan alasan sebagai berikut :

a. Pantai Sanur merupakan daerah pariwisata .

b. Di daerah pantai Sanur terdapat lebih dari 1 penjual sate babi.

c. Banyak Wisatawan lokal maupun mancanegara yang menjadi konsumen sate babi.

d. Penelitian tentang Mutu Produk sate babi ditinjau dari Mutu Mikroba belum pernah dilakukan sebelumnya di wilayah kota Denpasar.

e. Tempatnya mudah dijangkau sehingga menghemat biaya dan waktu.

2. Waktu

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2019 - April 2019

C. Sampel Penelitan

Sampel yang digunakan di Warung Makan Penjual sate babi untuk penelitian yaitu Sampel sate babi yang memiliki kriteria :

1. Sate babi yang dijual di daerah wisata pantai Sanur.
2. Tempat berjualannya tetap.
3. Sate babi yang diambil untuk sampel adalah sate babi yang siap disajikan ke konsumen.
4. Sate babi yang digunakan untuk sampel adalah sate babi dengan jenis sate tusuk.

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data Primer

Data primer yaitu data yang secara langsung diukur/dikumpulkan oleh peneliti meliputi :

Total Mikroba, *E.coli* pada sate babi, Skor keamanan Pangan, informasi tentang bahan, cara pengolahan

b. Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang secara tidak langsung diperoleh, data diperoleh dengan mencatat data yang didapatkan di lokasi seperti Gambaran Umum mengenai pantai Sanur, jumlah wisatawan dalam 1 tahun.

2. Teknik Pengumpulan Data

a. Data Primer

Sampel diambil dari 5 pedagang sate di daerah wisata Pantai Sanur. Masing-masing tempat diambil 1 sampel sate babi dengan berat masing-masing 75-100 gram. Setelah itu dimasukkan ke plastik steril dan diberikan kode. Pada hari tersebut dibawa dengan ice box ke laboratorium untuk proses pengujian total mikroba. Untuk pengujian total mikroba pada sate babi dibantu oleh petugas laboratorium yang sudah ahli pada bidang tersebut.

b. Data sekunder adalah data yang secara tidak langsung diperoleh, data diperoleh dengan mencatat data yang didapatkan di lokasi seperti Gambaran Umum mengenai pantai Sanur, jumlah wisatawan dalam 1 tahun.

E. Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan untuk mengumpulkan data penelitian yaitu :

a. Instrumen Untuk Pengumpulan Data Primer Instrument yang digunakan adalah sampel sate babi untuk di uji lab untuk mengetahui TPC untuk total mikroba dan MPN untuk *E.coli*, Form skor keamanan pangan untuk mengetahui nilai skor keamanan pangan.

b. Instrument untuk pengumpulan Data Sekunder Instrumen yang digunakan adalah gambaran umum mengenai sanur, jumlah wisatawan dalam 1 tahun.

F. Pengolahan dan Analisis Data

Data Primer yaitu :

1. Total Mikroba

Total Mikroba ditetapkan dengan metode TPC, sebagai berikut:

a. Prinsip

TPC merupakan salah satu metode yang dapat digunakan menghitung jumlah mikroba dalam bahan pangan. Metode hitungan cawan (TPC) merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam anilisa, karena koloni dapat dilihat langsung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop

Prinsip Pengujian TPC adalah untuk menunjukan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar. Dalam pengujian ini media yang digunakan adalah PCA (Plate Count Agar).

1) Persiapan Alat dan Reagen

Pertama sampel diambil dari pedagang sate babi dengan berat 75-100 gram. Sate babi dimasukkan ke dalam plastik steril dan diberikan sampel. Setelah diberikan laboratoriumel, masing-masing sampel dimasukkan ke dalam icebox berisi es untuk menghambat pertumbuhan mikroba.Setelah berada dilaboratorium sampel diujikan sesuai dengan prosedur metode TPC . Bahan disiapkan terlebih dahulu yaitu Sampel, PW (Pepton Water) 0,1% sebanyak 45ml sebagai pengencer 10^{-1} , PW (Pepton Water) 0,1% 9ml sebanyak 3 tabung sebagai pengencer 10^{-2} s.d 10-4, Media PCA (Plate Count Agar) sebagai tempat pertumbuhan mikroba, Spritus, Tissue dan Alkohol. Selain bahan alat yang dipersiapkan yaitu Laminar Flow sebagai tempat pengeceran, Vortex untuk menghomogenkan, Lampu Bunsen agar keadaan sekitar tetap steril, Pipet Mikro untuk mengambil sampel dalam pengenceran, Lumpang dan alu untuk menghancurkan bahan, talenan dan

pisau untuk memotong daging agar lebih memudahkan menghancurkan dan batang bengkok untuk meratakan pertumbuhan mikroba di media agar.

1) Prosedur pengujian total mikroba dengan metode TPC

a. Masukkan sebanyak 1 mL suspensi dari setiap pengenceran ke dalam cawan petri secara duplo.

b. Tambahkan 15 – 20 mL PCA steril yang sudah didinginkan hingga suhu 45 ± 1ºC pada masing – masing cawan yang sudah berisi suspensi. Supaya larutan dan media tercampur seluruhnya, lakukan pemutaran cawan ke depan dan ke belakang atau membentuk angka delapan dan diamkan sampai menjadi padat.

c. Inkubasikan pada temperatur 34 – 36ºC selama 24 – 48 jam dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik.

Setelah diinkubasi, dilakukan perhitugan koloni pada setiap petri. Cara untukmenghitung koloni (interprestasi hasil) adalah:

2) Hitung koloni pada setiap seri pengenceran kecuali cawan petri yang berisi koloni menyebar (Spreader Colonies). Pilih cawan yang mempunyai jumlah koloni 25 – 250. Hitung rata – rata jumlah koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per mililiter atau gram.

3) jika salah satu dari dua cawan petri terdapat jumlah koloni lebih kecil dari 25 atau lebih besar 250, hitung rata – rata jumlah koloni kalikan dengan faktor pengenceran, dan nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per milililiter atau gram.

4) Jika hasil dari dua pengenceran jumlahnya berturut – turut terletak antara 25 – 250 koloni, hitung jumlah koloni dari masing – masing pengenceran, dan hitung rata – rata jumlah koloni dari kedua pengenceran tersebut. Jika jumlah yang

tertinggi lebih besar dari dua kali jumlah yang terkecil, nyatakan jumlah yang kecil sebagai jumlah bakteri per mililiter atau gram.

5) Jika rata – rata jumlah koloni masing – masing cawan petri tidak terletak antara 25 dan 250 koloni, hitung jumlah koloni seperti pada poin (1) dan (2), dan nyatakan sebagai jumlah bakteri per mililiter atau gram.

6) Jika jumlah koloni dari semua pengenceran lebih dari 250 koloni, maka setiap dua cawan petri dengan pengenceran tertinggi dibagi ke dalam 2, 4, atau 8 sektor. Hitung jumlah koloni dalam satu bagian atau lebih. Untuk mendapatkan jumlah koloni dalam satu petri, hitung rata – rata jumlah koloni, dan kalikan dengan faktor pembagi dan pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri perkiraan per mililiter atau gram.

7) Jika dalam 1/8 bagian cawan petri terdapat lebih dari 200 koloni, maka jumlah koloni yang didapat = 8 x 200 (1600), dikalikan dengan faktor pengenceran dan nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri perkiraan per mililiter atau gram lebih besar dari jumlah yang didapat (lebih besar dari 1600 X faktor pengenceran).

8) Jika tidak ada koloni yang tumbuh dalam cawan petri, nyatakan jumlah bakteri perkiraan lebih kecil dari 1 dikalikan degan pengenceran yang terendah (<10).

9) Menghitung Spreader Colonies

Jenis Spreader Colonies yaitu:

a) Merupakan rantai yang tidak terpisah – pisah.

b) Perambatan yang terjadi di antara cawan petri dan media.

c) Perambatan yang terjadi pada pinggir atau permukaan media.

Kalau hanya terjadi 1 perambatan (seperti rantai) maka koloni dianggap 1. Tetapi bila 1 atau lebih rantai terbentuk dan yang berasal dari sumber yang berpisah – pisah, maka tiap sumber dihitung sebagai 1 koloni.

Bila (b) dan (c) terjadi maka sebaiknya analisa diulang karena koloni dalam keadaan semacam ini sukar dihitung.

10) Pembulatan Angka

Dalam melaporkan jumlah koloni atau jumlah koloni perkiraan hanya 2 angka penting yang digunakan, yaitu angka pertama dan kedua (dimulai dari kiri), sedangkan angka yang ketiga diganti dengan '0' apabila kurang dari 5. Dan apabila 5 atau lebih, dijadikan 1 yang ditambahkan pada angka kedua.

Contoh : 523.000 dilaporkan sebagai 520.000 ($5,2 \times 10^5$)

83.600 laporkan sebagai 84.000 ($8,4 \times 10^4$)

2. Escherichia coli

Uji *E.coli* dengan metode MPN(*Most Probable Number*)

a. Persiapan alat dan bahan

- Tabung reaksi
- Petridish
- Timbangan
- Pipet ukur
- Mortir
- Botol
- pisau

b. prosedur kerja

1) Bahan dihaluskan secara aseptic

2) Diambil 11 gr dan dimasukan kedalam botol berisi 99 ml air steril lalu dikocok(pengenceran 10^{-1})

3) Diambil 1 ml dari botol dan dimasukan ke dalam tabung reaksi 1 yang berisi 9 ml air steril kemudian dikocok (pengenceran 10^{-2})

4) Diambil 1 ml dari pengenceran 10-2 dan dimasukan ke dalam tabung reaksi 2 yang berisi 9 ml air steril kemudian dikocok (pengenceran 10^{-3})

5) Pengenceran dilakukan sampai 10^{-4}

6) Membuat plating secara duplos di petridish dengan cara mengambil sebanyak 0,1 ml dari masing-masing pengenceran : 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}

7) Inkubasi selama 2x24 jam

Mengamati dalam petridish mengenai kenampakan *E.coli* kemudian dihitung jumlahnya.

3. Skor Keamanan Pangan

a. Siapkan form

b. Lakukan observasi / pengamatan terhadap komponen dan subkomponen

c. Berilah tanda (v) pada kolom form yang menunjukkan nilai untuk tiap sub komponen

d. Lakukan penjumlahan nilai untuk tiap komponen (jumlah dari langkah 3)

e. Lakukan perhitungan nilai tiap komponen kedalam skala nilai 0 – 1,00 (langkah 4 : nilai maksimal), → (nilai riil : nilai maksimal) tiap komponen

f. Lakukan perhitungan skor tiap komponen (langkah 5 x bobot) (nilai skala 0 – 1,00 x bobot) tiap komponen

g. Jumlahkan skor tiap komponen (Σ dari langkah 6) → (SKP) kemudian melalui proses koding dan di tabulasi, data primer dianalisis secara deskriptif. Data Sekunder terlebih dahulu melalui proses koding kemudian dianalisis menggunakan penilaian SKP yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5.

Kategori Skor Keamanan Pangan.

Kategori Keamanan Pangan	SKP	(%)
Baik	≥0,9703	(≥97,03%)
Sedang	0,9332-0,9702	(93,22-97,02%)
Rawan tetapi aman dikonsumsi	0,6217-0,9331	(62,17-93,31%)
Rawan tetapi tidak aman dikonsumsi	<0,6217	(<62.71%)

Sumber: Anonim, 2010.