

BAB IV

METODELOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah observasional. Karena dalam penelitian ini dilakukan pengujian sampel untuk mengetahui bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang tercemar di makanan tradisional, serta pengamatan dan pencatatan skor keamanan pangan pada hygiene sanitasi pada sampel dan menentukan nilai gizi yang terkandung pada satu porsi makanan tradisional. Rancangan penelitian ini adalah cross sectional karena semua subjek penelitian diamati pada satu kali pengamatan.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian Uji *Caliform* dan *Escherichia coli* dilaksanakan di UPTD laboratorium kesehatan daerah dan kalibrasi dinas kesehatan Tabanan, penghitungan nilai gizi pada makanan tradisional dilaksanakan di kampus jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Denpasar dan pengambilan sampel serta uji Skor Keamanan Pangan dilakukan di tempat penjual makanan tradisional di Kabupaten Tabanan dengan alasan sebagai berikut :

- a. Adanya masalah-masalah yang berhubungan dengan keamanan pangan yang terjadi di kabupaten Tabanan seperti Diare dan Keracunan makanan.
- b. Tempatnya mudah dijangkau sehingga menghemat biaya dan waktu.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Februari 2020

C. Sampel Penelitian

Studi pendahuluan yang dilakukan pada 21 April 2019 oleh peneliti jumlah total populasi yaitu 103 Sampel, yang diambil adalah seluruh jenis makanan tradisional yang ada di Kabupaten Tabanan meliputi makanan Utama 12 sampel, lauk pauk 21 sampel, sayuran 12 sampel, dan jajanan 58 sampel. Untuk besar sampel digunakan sebesar sampel minimal yaitu 30 sampel dan dibagi secara proposional yaitu makanan utama 4 sampel, lauk pauk 6 sampel, sayuran 4 sampel dan jajanan sebanyak 16 sampel yang akan di dalam penelitian. Sampel yang digunakan untuk penilaian Skor Keamanan Pangan yaitu penjual yang menjual makanan tradisional.

D. Teknik Pengambilan Data

1. Hygiene sanitasi

- a) Data identitas responden mengenai hygiene sanitasi diambil dengan metode wawancara langsung dengan kuesioner.
- b) Siapkan form
- c) Lakukan observasi / pengamatan terhadap komponen dan sub komponen
- d) Berilah tanda (v) pada kolom form yang menunjukkan nilai untuk tiap sub komponen
- e) Lakukan penjumlahan nilai untuk tiap komponen (jumlah dari langkah d)
- f) Lakukan perhitungan nilai tiap komponen kedalam skala nilai 0 – 1,00 (langkah e : nilai maksimal), \rightarrow (nilai riil : nilai maksimal) tiap komponen

- g) Lakukan perhitungan skor tiap komponen (langkah e x bobot)
(nilai skala 0 – 1,00 x bobot) tiap komponen
- h) Jumlahkan skor tiap komponen (Σ dari langkah 6) \rightarrow skor keamanan pangan (SKP)
- i) Tetapkan kriteria Skor Keamanan Pangan

No	Kategori Keamanan pangan	SKP	% SKP
1	Baik	$\geq 0,9703$	$\geq 97,03$ %
2	Sedang	0,9332-0,9702	93,32 – 97,02 %
3	Rawan tetapi aman dikonsumsi	0,6217-0,9331	62,17 – 93,31 %
4	Rawan tidak aman dikonsumsi	$< 0,6217$	$< 62,17$ %

2. Keamanan Pangan (uji *Caliform*, *Escherichia coli*)

- a) Melakukan pengambilan sampel dengan cara membeli makanan tradisional yang dijual di pasar.
- b) Sampel dimasukkan ke dalam plastic steril
- c) Sampel yang akan dimasukkan kedalam plastic steril dilengkapi dengan identitas sampel yaitu jenis makanan yang diambil
- d) Sampel yang telah terkumpul langsung dimasukkan ke dalam cool pack untuk menjaga suhu ideal 4^0 C - 10^0 C dan bawa langsung ke laboratorium.
- e) Sampai di laboratorium dilakukan uji *Caliform*, *Escherichia coli* dilakukan dengan metode MPN (*Most Probable Number*) metode ini terdiri dari 3 tahap yaitu : *Presumptive test* (uji penduga) digunakan media LB (*lactosa Broth*)

tujuannya untuk mengetahui apakah dalam sampel makanan mengandung bakteri *coliform*. *Confirmed test* (test Penguat) bertujuan untuk membedakan bakteri *coliform* dengan *fecal coli* dengan menggunakan media *Briliant Green Lactosa* (BGLB) dan untuk membuktikan apakah terdapat isolate yang diisolasi sudah benar-benar menunjukkan bakteri *Escherichia coli*. Dan yang terakhir *Completed test* (Test pelengkap) dimana untuk memastikan apakah isolate yang diisolasi sudah benar-benar ada bakteri.

3. Nilai Gizi

- a) Masing-masing sampel di ambil perpersi kemudian sampel di timbang
- b) Kemudian Konversikan kedalam berat mentah.
- c) Hasil berat makanan dan per 100 gr berat sampel di masukan ke aplikasi DKBM dan di dapatkan hasil nilai gizi (Energi,Protein, Lemak , Karbohidrat).

E. Instrumen Pengumpulan Data

1. Hygiene Sanitasi (Skor Keamanan Pangan)

Alat yang digunakan adalah kertas kuisioner dan kalkulator

2. Keamanan Pangan (uji *Caliform*, *Escherichia coli*)

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Inkubator (Model Heraeus InstrumentD6450)*, *Autoklaf (All American Mode25X-2)*, *Laminar Air Flow(ESCO®)*, *Pipet Mikro*, *Neraca Analitik (Kern ALJ 220-4)*, *Hotplate (LUXOR)*, *Oven (Fisher Scientific Model 655F)*, *Vortex Mixer(VM-300)*, dan alat-alat gelas laboratorium lainnya. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Eosin Methylene Blue agar (Oxoid Ltd, Cat.No. 1065921)*, *Mac Conkey*

Broth (Merck, Cat. No.1.05396.0500), *Escherichia coli Broth*, dan bahan lainnya sesuai prosedur kerja (Jasmadi,2014).

3. Nilai Gizi

Alat yang digunakan yaitu timbangan makanan kapasitas 10kg dengan merk SF400 dan aplikasi DKBM

F. Prosedur Pengujian Sampel

Ada tiga tahap yang harus dilakukan untuk analisis bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada makanan tradisional dengan metode *Most Probable Number* (MPN) antara lain sebagai berikut:

a. Uji penduga (*Presumptive test*)

Sebanyak 10 g sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 90 mL *Mac Conkey Broth* steril dan dihomogenkan. Suspensi tersebut kemudian dipipet sebanyak 0,5 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 4,5 mL *Mac Conkey Broth* steril dibuat pengenceran bertingkat. Tabung durham steril dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi tersebut, lalu diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam pada suhu 37°C. Hasil positif akan keberadaan bakteri *Coliform* ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna dari *Mac Conkey broth* menjadi keruh dan produksi gas di dalam tabung durham. Total *Coliform* bisa dihitung dengan melihat tabel MPN. (Jasmadi,2014)

b. Uji penguat (*Confirmed test*)

Tabung reaksi yang menunjukkan hasil positif dari uji penduga dilanjutkan untuk uji penguat. Jarum ose steril dicelupkan ke dalam tabung reaksi yang positif lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 4,5 mL *Escherichia coli Broth*

steril. Tabung durham steril dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi tersebut dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif akan keberadaan *Escherichia coli* ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna dari *Escherichia coli Broth* menjadi keruh dan produksi gas di dalam tabung durham. (Jasmadi,2014)

c. Uji pelengkap (*Completed test*)

Jarum ose steril dicelupkan ke dalam tabung reaksi yang positif pada uji penguat, lalu digoreskan pada cawan petri berisi *Eosin Methylene Blue Agar*. Cawan petri tersebut lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif dari uji pelengkap akan ditandai dengan pertumbuhan *Escherichia coli* berupa terbentuknya koloni tunggal berwarna hijau dengan kilap logam (green with metallic sheen). (Jasmadi,2014)

G. Pengolahan dan Analisis Data

Data laboratorium hasil pengujian ada tidaknya *Coliform* dan *Escherichia coli* pada makanan tradisional yang ada di Kabupaten Tabanan kemudian ditabulasikan dan dinarasikan secara deskriptif dalam bentuk tabel kemudian di diskripsikan sesuai dengan hasil bacaannya. Sedangkan untuk penilaian Hygiene sanitasi akan dianalisis menggunakan SKP (Skor Keamanan Pangan) sehingga dari penilaian tersebut dapat dikategorikan keamanan pangan seperti: baik, sedang, rawan tetapi aman dikonsumsi, rawan tidak aman dikonsumsi. Untuk penilaian Nilai Gizi di analisis menggunakan aplikasi DKBM dan mendapatkan hasil kandungan Energi, Protein, Lemak dan KH pada satu porsi makanan tradisional

H. Etika Penelitian

1. Mengurus ijin penelitian dari Dinas Penanaman Modan, PTSP Provinsi Bali
2. Mengurus etika penelitian dari komite Etik Politeknik Kesehatan Denpasar
3. Penandatanganan Persetujuan Setelah Penjelasan (PSP)
4. Mengambil data setelah diizinkan oleh pihak Penjual.