

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini bersifat deskriptif yaitu dengan menggambarkan fenomena yang terjadi atau diselidiki tentang angka lempeng total dan identifikasi bakteri *Salmonella sp.* pada telur merica di Pasar Kreneng Kota Denpasar. Metode deskriptif adalah suatu metode penelitian yang dilakukan dengan tujuan utama membuat gambaran atau deskripsi tentang suatu keadaan secara objektif (Notoatmodjo, 2012).

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **1. Tempat penelitian**

- a. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di Pasar Kreneng Kota Denpasar
- b. Pemeriksaan dilakukan di laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar

##### **2. Waktu penelitian**

Waktu pengambilan sampel dan pemeriksaan sampel untuk penelitian ini dilakukan pada bulan Maret sampai Mei 2020.

#### **C. Populasi dan Sampel Penelitian**

##### **1. Populasi penelitian**

Populasi adalah keseluruhan objek yang menjadi sasaran penelitian (Notoatmodjo, 2012). Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh telur merica yang dijual oleh pedagang kaki lima di Pasar Kreneng Kota Denpasar yang berjumlah 10 pedagang.

## 2. Sampel penelitian

Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi, yang mampu secara representatif dapat mewakili populasinya (Sugiyono, 2011). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah telur merica di Pasar Kreneng Kota Denpasar yang dijual oleh 10 pedagang kaki lima.

### a. Besar sampel

Berdasarkan hasil survei penulis, jumlah pedagang yang menjual telur merica di Pasar Kreneng Kota Denpasar yaitu sebanyak 10 pedagang. Berdasarkan pertimbangan tujuan dan waktu pelaksanaan penelitian maka besar sampel yang diambil yaitu sebanyak 20 sampel telur merica, dimana masing-masing pedagang akan diambil sebanyak 2 sampel telur merica

### b. Unit analisis

Unit analisis dapat diartikan sebagai sesuatu yang berkaitan dengan fokus atau komponen yang diteliti (Sugiyono, 2011). Unit analisis dalam penelitian ini adalah telur merica yang dijual di Pasar Kreneng Kota Denpasar

### c. Teknik pengambilan sampel

Pengambilan sampel (sampling) adalah proses memilih sejumlah elemen secukupnya dari populasi sehingga peneliti dapat menggeneralisasikan sifat atau karakteristik sampel pada elemen populasi (Noor, 2011). Teknik sampling merupakan teknik dalam pengambilan sampel (Sugiyono, 2011). Pengambilan sampel dilakukan pada pedagang telur merica di Pasar Kreneng Kota Denpasar. Teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu teknik *nonprobability sampling*. Definisi *Nonprobability sampling* menurut Sugiyono (2011) yaitu *nonprobability sampling* adalah teknik pengambilan sampel yang tidak memberi

peluang/kesempatan sama bagi setiap unsur atau anggota populasi untuk dipilih menjadi sampel. Teknik pengambilan sampel ini meliputi sampling sistematis, kuota, aksidental, *purposive*, jenuh dan *snowball*.

Teknik *nonprobability sampling* yang digunakan penulis dalam penelitian ini yaitu dengan menggunakan teknik *purposive sampling*. Menurut Sugiyono (2012), *purposive sampling* adalah teknik penentuan sampel dengan pertimbangan tertentu. *Purposive sampling* adalah salah satu teknik sampling non random sampling dimana peneliti menentukan pengambilan sampel dengan cara menetapkan ciri-ciri khusus yang sesuai dengan tujuan penelitian sehingga diharapkan dapat menjawab permasalahan penelitian Hidayat (2017).

Dalam penelitian ini, sampel yang diambil memiliki pertimbangan-pertimbangan atau kriteria-kriteria tertentu yang harus dipenuhi oleh sampel-sampel yang digunakan dalam penelitian ini. Adapun kriteria yang dijadikan sebagai sampel penelitian yaitu:

1) Kriteria inklusi

Kriteria inklusi merupakan kriteria yang perlu dipenuhi untuk setiap sampel yang diambil sebagai anggota sampel. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah:

- a) Pedagang telur merica yang menjual telur merica dalam kondisi telur tidak busuk
- b) Pedagang telur merica yang menjual telur merica dalam kondisi kulit telur tidak retak
- c) Pedagang telur merica yang menjual telur merica dalam kondisi telur tidak berwarna kecoklatan.

2) Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi merupakan kriteria yang tidak dapat diambil sebagai sampel. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah:

- a) Sampel mengalami kerusakan saat proses membawa sampel ke laboratorium

#### **D. Jenis, Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data**

##### **1 Jenis data yang dikumpulkan**

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer yang didapatkan secara langsung dari subjek penelitian yaitu meliputi data hasil pemeriksaan laboratorium berupa angka lempeng total dan bakteri *Salmonella sp.* yang teridentifikasi pada telur merica.

##### **2 Teknik pengumpulan data**

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini yaitu melalui observasi dan melakukan pemeriksaan laboratorium untuk mengetahui angka lempeng total dan keberadaan bakteri *Salmonella sp.* pada telur merica di Pasar Kreneng Kota Denpasar.

Pengumpulan data pada penelitian ini meliputi tahap pre-analitik, analitik dan post-analitik, yaitu:

- a. Pre-Analitik

- 1) Observasi

Format observasi yang disusun berisi kondisi lingkungan, cara pengolahan dan penyajian, tempat penyimpanan telur dan bahan-bahan lainnya, kondisi telur, peralatan yang digunakan, serta perlakuan pedagang sebelum dan sesudah pengolahan telur merica, kemudian hasil observasi dicatat pada form penelitian.

## 2) Pengambilan sampel

Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan pada pedagang kaki lima di Pasar Kreneng Kota Denpasar. Sampel diambil dengan menggunakan wadah plastik bermulut lebar yang telah disediakan oleh peneliti kemudian diserahkan kepada pedagang telur merica lalu diberi label. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam coolbox. Selanjutnya sampel diperiksa di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekes Kemenkes Denpasar.

## 3) Persiapan sampel

Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Setelah alat dan bahan dipersiapkan kemudian seluruh alat yang akan digunakan dicuci bersih terlebih dahulu lalu dikeringkan dan dibungkus dengan kain lalu disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan sebesar 1,5 atm.

Sampel yang telah diambil sebelumnya kemudian ditimbang sebanyak 10 gram dengan menggunakan neraca analitik. Sampel yang telah ditimbang, dihancurkan dengan menggunakan mortar dan pestle. Bahan yang telah dihancurkan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berskala. Dituangkan 90 ml larutan aquadest. Dihomogenkan dengan cara dikocok sebanyak 25 kali hingga homogen. Bahan dengan pengenceran  $10^{-1}$  tersebut siap digunakan dalam pemeriksaan angka lempeng total.

### b. Analitik

Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekes Kemenkes Denpasar. Peneliti terlebih dahulu menggunakan APD (Alat Pelindung Diri) berupa jas laboratorium, sarung

tangan dan masker. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan sampel. Adapun prosedur kerjanya adalah sebagai berikut:

1) Uji angka lempeng total

Langkah-langkah dalam pemeriksaan angka lempeng total pada sampel telur merica sebagai berikut (Mastra, Jirna dan Krisna, 2017):

- a) Disiapkan 3 buah tabung reaksi steril, disusun dalam rak tabung masing-masing secara berurutan diberi label  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  dan  $10^{-3}$
- b) Disiapkan pula 4 buah cawan petri steril, pada 3 buah cawan petri diberi label bagian belakangnya sesuai dengan kode pengenceran dan tanggal pemeriksaan. 1 buah cawan petri diisi label control
- c) Pada tabung kedua dan ketiga diisi 9 mL aquades steril
- d) Dikocok sampel yang telah diencerkan sebelumnya sampai homogen ( $\pm 25$  kali) kemudian diambil 10 ml dimasukkan pada tabung pertama
- e) Dipindahkan 1 ml sampel dari tabung pertama ke tabung kedua dengan pipet steril kemudian dikocok hingga homogen
- f) Sampel dari tabung kedua diambil 1 ml dipindahkan ke tabung ketiga dan dihomogenkan
- g) Dari masing-masing tabung diatas, dimulai dari tabung ketiga, diambil 1 ml dengan pipet steril dimasukkan kedalam cawan petri steril masing-masing sesuai dengan kode pengenceran yang sama.
- h) Dalam masing-masing cawan petri steril ini, dituangi media PCA yang telah dipanaskan dalam waterbath  $\pm 45^{\circ}\text{C}$  (sebanyak 15-20 ml), dan digoyangkan perlahan-lahan sehingga tercampur rata kemudian dibiarkan dingin dan membeku

- i) Dimasukkan kedalam incubator dengan suhu 37°C selama 24-48 jam dalam posisi terbalik
  - j) Media control dibuat dengan media PCA tanpa diberi sampel. Kontrol ruangan dibuat dengan memakai media PCA dengan cara membuka tutup cawan petri ±5 menit
  - k) Pembacaan dilakukan setelah 18-24 jam dengan cara menghitung koloni yang tumbuh pada cawan petri (Mastra, Jirna dan Krisna, 2017)
- 2) 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.
- 3) Identifikasi bakteri *Salmonella sp.*

Langkah dari identifikasi bakteri *Salmonella sp.* pada sampel telur merica adalah sebagai berikut:

- a) Dari pengenceran  $10^{-1}$  sampel diambil sebanyak 1 ose kemudian distreak empat kuadran pada media SSA yang dikerjakan secara aseptis dekat nyala api spiritus
- b) Diinkubasi pada suhu  $35-37^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam dengan posisi terbalik
- c) Kontrol dibuat dengan cara dimasukkannya sebanyak 15-20 ml media *Salmonella-Shigella Agar* (SSA) cair pada petridish “kontrol”
- d) Diidentifikasi koloni yang tumbuh
- e) Jika terjadi pertumbuhan pada media SSA berupa koloni halus dan berwarna hitam (black jet), maka diambil 1 koloni tunggal untuk dilanjutkan dengan uji Biokimia (Kurniawan dan Sahli, 2016).

4) Uji Biokimia

Langkah-langkah dari uji Biokimia yaitu sebagai berikut:

- a) Uji biokimia Triple Sugar Iron Agar (TSIA)
  - (1) Satu koloni tunggal dari media SSA diambil dengan menggunakan ose jarum.
  - (2) Koloni tersebut ditusuk sekali pada bagian dasar media TSIA, lalu digoreskan pada media TSIA dibagian miringnya (slant).
  - (3) Hasil goresan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 1x24 jam.
  - (4) Amati reaksi yang terjadi.
- b) Uji biokimia Sulfide Indole Motility (SIM)
  - (1) Satu koloni tunggal dari media SSA diambil dengan menggunakan ose jarum.
  - (2) Koloni tersebut ditusuk ke media SIM sedalam  $\pm \frac{1}{4}$  bagian (tidak sampai ke dasar).

- (3) Diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 1x24jam.
- (4) Ditambahkan 250 µl reagen kovac dalam media kemudian kocok perlahan dan biarkan dalam posisi tegak.
- (5) Diamati permukaan media.
- (6) Jika didapatkan hasil negatif, dilanjutkan dengan uji *Simmons Citrate*. Hasil negatif ditandai dengan tidak terbentuknya cincin berwarna merah pada permukaan media (Kurniawan dan Sahli, 2016).

c) Uji biokimia *Simmons Citrate*

- (1) Satu koloni tunggal dari media SSA diambil dengan menggunakan ose bulat.
- (2) Koloni tersebut ditaman ke media SC dengan teknik streak (goresan)
- (3) Hasil goresan diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 1x24 jam.
- (4) Diamati reaksi yang terjadi.
- (5) Jika didapatkan hasil positif, dilanjutkan dengan uji MR. Hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna media menjadi biru (Kurniawan dan Sahli, 2016).

c. Post-Analitik

Data pemeriksaan angka lempeng total dan identifikasi bakteri *Salmonella sp.* yang telah didapatkan, dikumpulkan dan diinterpretasikan untuk mengetahui hasil angka lempeng total pada telur merica memenuhi syarat atau tidak memenuhi syarat serta mengetahui ada *Salmonella sp.* atau tidak ada *Salmonella sp.* pada telur merica dengan cara dibandingkan dengan peraturan BPOM tahun 2016 mengenai Kriteria Mikrobiologi dalam Pangan Olahan.

### **3 Instrumen penelitian**

#### **a. Instrumen pengumpulan data**

Adapun instrumen yang digunakan dalam pengumpulan data pada penelitian ini yaitu:

- 1) Formulir observasi
- 2) Alat tulis
- 3) Kamera digital

#### **b. Instrumen pemeriksaan laboratorium**

Adapun instrumen yang digunakan dalam pemeriksaan laboratorium pada penelitian ini yaitu:

##### **1) Alat**

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, mortar, pestle, api bunsen, ose bulat, ose jarum, pinset, batang pengaduk, bola hisap, pipet ukur, pipet tetes, gelas beaker, gelas ukur, petridish, cool box, Bio Safety Cabinet, hotplate, magnetic stirrer, neraca analitik (merk Radwag), autoclave, Quibec Colony Counter, penangas air, lemari pendingin, korek api, spidol, label, kertas buram dan tissue.

##### **2) Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel telur merica, *Salmonella-Shigela* Agar (SSA), akuades steril, media PCA (Plate Count Agar), TSIA (Triple Sugar Iron Agar), SIM dan Simmon's Citrate.

## **E. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Teknik pengolahan data**

Data-data yang dikumpulkan dari hasil pengujian 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, dimana membandingkan kenyataan yang terjadi di lapangan (Notoatmodjo, 2012). Hasil dari pemeriksaan angka lempeng total dan identifikasi *Salmonella sp.* yang didapatkan dari sampel dibandingkan dengan teori dan tabel kunci angka lempeng total dan identifikasi *Salmonella sp.* yang digunakan, yaitu berdasarkan peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 16 Tahun 2016 Tentang Kriteria Mikrobiologi Dalam Pangan Olahan.