

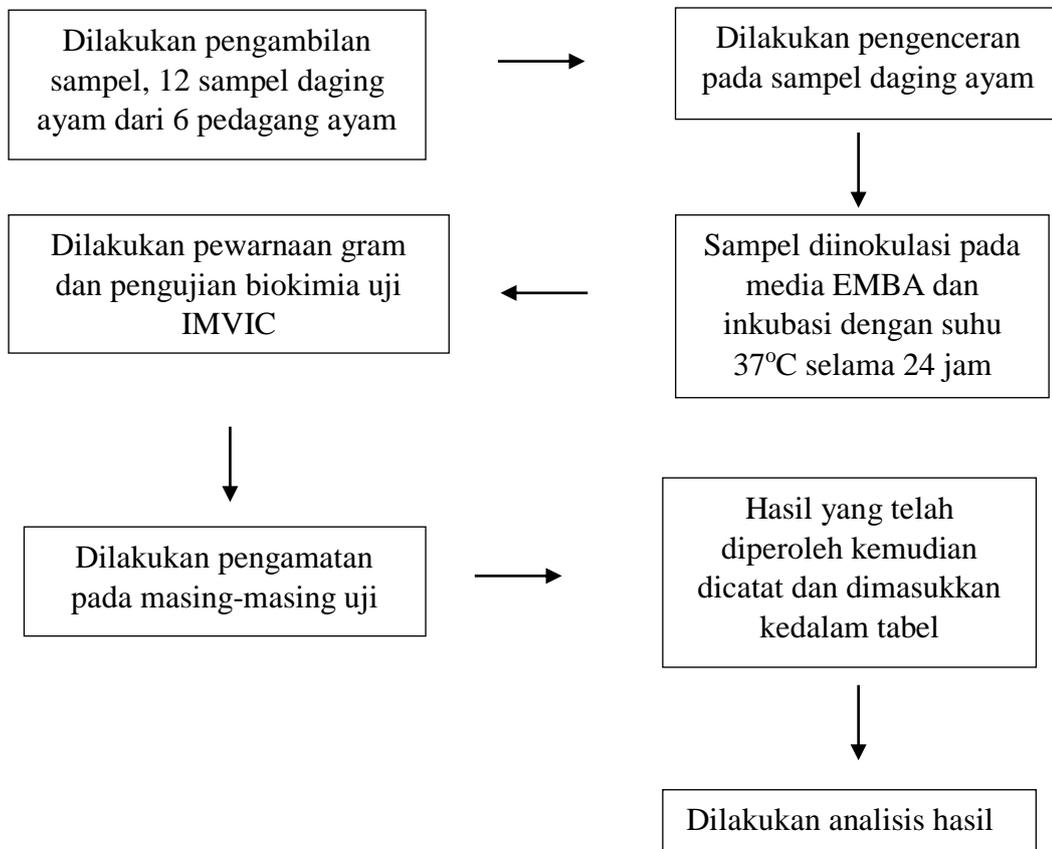
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian yang bersifat deskriptif. Penelitian deskriptif merupakan penelitian yang menggambarkan atau mendeskripsikan suatu kejadian yang terjadi pada suatu populasi dengan nyata (Notoatmodjo, 2012). Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan *Escherichia coli* dan faktor pencemar bakteri *Escherichia coli* pada daging ayam di Pasar Ketapian Denpasar Timur.

B. Alur Penelitian



Gambar 3. Kerangka Alur Penelitian

C. Tempat Dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat dilakukannya penelitian di Laboratorium Panureksa Utama yang beralamat di Jalan Genitri No 11 A Denpasar. Sedangkan pengambilan sampel dilakukan di 6 pedagang berbeda di Pasar Ketapian Denpasar Timur.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai dari penyusunan proposal penelitian pada bulan November 2021 hingga bulan April 2022

D. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas objek/subjek yang memiliki kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulan (Sugiyono, 2018). Pada penelitian populasi penelitian berjumlah 6 pedagang daging ayam yang berjualan di Pasar Ketapian Denpasar Timur.

2. Sampel penelitian

Sampel penelitian adalah sebagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh suatu populasi maupun bagian kecil dari anggota populasi yang diambil berdasarkan prosedur tertentu sehingga dapat mewakili dari suatu populasinya. (Siyoto, 2015). Pada penelitian ini sampel penelitian yang digunakan adalah 12 sampel daging ayam (6 bagian paha dan 6 bagian dada) pada 6 pedagang ayam (2 pada pedagang ayam yang berjualan di dalam bangunan permanen pasar, 2 pada pedagang yang berjualan di areal luar dekat dengan tempat parkir, dan 2 pada pedagang ayam yang berjualan di

luar bangunan permanen sebelah timur bagian pasar) di Pasar Ketapian Denpasar Timur.

3. Teknik sampling

Dalam penelitian teknik sampling yang digunakan adalah *probability sampling* secara *simple random sampling* yang dilakukan dengan pengambilan anggota sampel dari populasi secara acak tanpa memperhatikan strata yang ada di dalam populasi tersebut (Sugiyono, 2018).

E. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi (merk pyrex iwaki) , rak tabung reaksi, api bunsen, ose bulat, ose jarum, batang pengaduk, erlenmayer (100 ml, 350 ml dan 500 ml) (merk iwaki), gelas beaker (250ml, 500ml dan 1000 ml) (merk pyrex), gelas ukur 250 ml (merk pyrex), 12 buah petridish (merk normax), incubator (memmert), hotplate atau kompor listrik (merk maspion), timbangan digital (pocket scale Mh-300), korek api, spidol, tissue, kapas, mikroskop (merk Oregon 107 BN), minyak immersi, coolbox (merk marina cooler 10s), label kode sampel dan objek glass (merk onemed).

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel daging ayam, NaCl 0,9%, aquadest steril, media EMBA (oxid), Media SC (oxid), media MR-VP (oxid), Media *Sulfide Indole Motility* (SIM) (oxid), reagen kovaks (himedia 100), Pewarnaan gram (merk indo reagen), alpha naphthol (merck), metil red (rofa) dan larutan KOH (merck)

3. Prosedur kerja

a. Pengambilan sampel

Sampel yang diambil oleh peneliti dilakukan dengan membeli daging ayam pada bagian paha dan dada yang dijual pada 6 pedagang daging ayam berbeda di Pasar Ketapian Denpasar Timur dengan mengikuti protokol kesehatan 3M (Memakai Masker, Mencuci tangan, Menjaga jarak). Hal ini bertujuan untuk memastikan bahwa peneliti dalam keadaan aman dan baik dalam pengambilan sampel. Sampel daging ayam yang telah dibeli dimasukkan ke dalam plastik dan diberikan label kode sampel kemudian dimasukkan ke dalam *coolbox* dan langsung menggunakan *handsanitizer* untuk mencegah penularan virus di masa pandemik saat ini. Sampel kemudian dibawa ke Laboratorium Kesehatan Masyarakat Panureksa Denpasar untuk langsung dilakukannya pengujian Identifikasi *Escherichia coli*.

b. Sterilisasi alat

- 1) Disiapkan alat yang terbuat dari bahan kaca
- 2) Disterilkan dalam autoclave dengan suhu 121⁰C selama 15 menit

c. Pembuatan media EMBA

- 1) Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam pembuatan media EMBA
- 2) Ditimbang serbuk media EMBA sebanyak 9,37 gram
- 3) Dilarutkan dengan aquadest steril sebanyak 250 mL ke dalam erlenmayer

- 4) Dihomogenkan dengan sambil dipanaskan dengan kompor listrik hingga larut
- 5) Erlenmayer kemudian ditutup dengan kapas steril lalu disterilisasi pada autoclave 1,5 jam pada suhu 121⁰C
- 6) Setelah di autoclave tunggu hingga media hangat
- 7) Media dituang ke masing-masing cawan petri (petridish) sebanyak ± 20 ml kemudian ditunggu hingga memadat lalu disimpan di lemari pendingin bersuhu 3⁰C.

d. Pembuatan Media MR-VP

- 1) Timbang 4,35 gram bubuk MR-VP kemudian dilarutkan dalam 250 ml aquadest dan dipanaskan dengan menggunakan kompor listrik
- 2) Aduk perlahan hingga homogen dan jernih menggunakan batang pengaduk
- 3) Sterilisasikan dengan menggunakan autoclave pada suhu 150⁰C selama 15 menit
- 4) Distribusikan kedalam tabung reaksi steril masing-masing sebanyak 4 ml secara aseptis
- 5) Kemudian masukkan seluruh tabung reaksi kedalam plastik lalu sterilisasi di autoklaf selama 1-2 jam
- 6) Kemudian masukkan kedalam kulkas bersuhu 3⁰C

e. Pembuatan SIM

- 1) Sterilisasi alat-alat yang akan digunakan

- 2) Timbang media yang akan digunakan sebanyak 4 gram lalu dimasukkan ke dalam erlenmayer (350 mL) yang telah berisi aquadest 200mL
- 3) Masukkan media yang sudah berisi aquadest ke dalam tabung erlenmayer dan panaskan pada kompor listrik selama ± 15 menit 150°C
- 4) Setelah dipanaskan, media dituang kedalam tabung reaksi sebanyak 2-3 ml dan disterilkan kembali dalam autoclave selama $\pm 1-2$ jam kemudian masukkan kedalam kulkas bersuhu 3°C .

f. Pembuatan Media SC agar

- 1) Timbang 4,5 gram bubuk SC kemudian dilarutkan dalam 200 ml aquadest dan dipanaskan menggunakan kompor listrik selama ± 15 menit 150°C . Aduk perlahan dengan batang pengaduk
- 2) Distribusikan kedalam tabung steril masing-masing sebanyak 2-3 ml secara aseptis dan biarkan hingga membeku pada posisi miring.
- 3) Kemudian disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama $\pm 1-2$ jam dan masukkan kedalam kulkas bersuhu 3°C

g. Prepasrasi Sampel

- 1) Diambil 12 sampel daging ayam (6 bagian paha dan 6 bagian dada) pada pedagang
- 2) Masing-masing sampel satu persatu di potong-potong dengan menggunakan gunting kemudian ditimbang dengan menggunakan aluminium foil sebagai alas

- 3) Hasil dari potongan tiap sampel diambil sebanyak 10 g lalu dimasukkan kedalam 9 ml NaCl 0,9% lalu dihomogenkan.
- 4) Dari pengenceran 10^{-1} ambil media EMBA yang telah dibuat kemudian sampel diambil sebanyak 1 ose kemudian distreak pada setiap media EMBA yang telah dibuat
- 5) Dilakukan inkubasi pada ke-12 sampel pada suhu 37°C selama 24 jam
- 6) Diidentifikasi koloni yang tumbuh positif jika terdapat hijau metalik

h. Pewarnaan Gram

- 1) Persiapkan alat yang akan digunakan
- 2) Fikasi object glass dan ose diatas api Bunsen, kemudian ambil aquadest menggunakan ose dan goreskan diatas objek glass.
- 3) Panaskan ose kembali dan ambil koloni yang berwarna hijau dari media EMBA dengan menggunakan ose lalu digoreskan melingkar di atas object glass dan ratakan dengan aquadest steril yang telah ditetaskan sebelumnya
- 4) Kemudian keringkan diatas api bunsen hingga kering
- 5) Kemudian apusan ditetesi *Cristal Violet* dan biarkan selama 20 detik kemudian bilas perlahan menggunakan air mengalir
- 6) Selanjutnya, tetesi dengan larutan iodine ke atas area apusan dan dibiarkan selama 1 menit dan bilas dengan air mengalir
- 7) kemudian ditetes alkohol 96% selama hingga tidak ada larutan ungu yang luntur.
- 8) Apusan selanjutnya ditetesi dengan *safranin* dan dibiarkan selama 20 detik, lalu dibilas dengan air mengalir dan dibiarkan selama 2 detik

9) Keringkan di suhu ruang dan selanjutnya beri minyak immerse dan diamati di bawah mikroskop dengan menggunakan pembesaran 100X.

i. Uji Penanaman dengan IMVIC

1) Uji SC

- a) Koloni yang berwarna hijau mengkilap diinokulasikan ke media SC dengan cara digoreskan pada media miring
- b) Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam
- c) Hasil positif bila media SC berubah menjadi biru tetapi bila hasil negative menunjukkan warna tetap hijau
- d) Umumnya *Escherichia coli* berwarna hijau pada media SC

2) Uji produksi SIM

- a) Koloni yang berwarna hijau mengkilap diinokulasikan ke media SIM dengan cara tusuk
- b) Dinkubasikan pada suhu 37⁰C selama 24 jam
- c) Ditambahkan 1 tetes *pereaksi Kovach* pada tabung
- d) Hasil reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah pada media sedangkan *motility* dilihat berdasarkan adanya kekeruhan di sekitar tusukan yang berarti uji motilitas positif (+)
- e) Umumnya *Escherichia coli* bersifat indol positif

3) Uji MR

- a) Koloni yang berwarna hijau mengkilap diinokulasikan ke dalam media *Methyl Red* kemudian homogenkan
- b) Dinkubasikan pada suhu 37⁰C selama 24 jam keesokan harinya diamati perubahan yang terjadi

- c) Ditambahkan 1 tetes reagen *Phenol Red* pada tabung
 - d) Hasil reaksi negatif ditandai dengan adanya warna kuning dan hasil reaksi positif ditandai dengan warna merah
 - e) Umumnya *Escherichia coli* menunjukkan hasil positif untuk uji *Methyl Red*.
- 4) Uji VP
- a) Koloni yang berwarna hijau mengkilap diinokulasikan ke dalam media VP
 - b) Diinkubasikan pada suhu 37⁰C selama 24 jam
 - c) Ditambahkan 1 tetes reagen *alpha - naphthol* kemudian KOH sebanyak 1 tetes pada tabung
 - d) Hasil reaksi positif ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi merah yang menunjukkan keadaan asam
 - e) Umumnya *Escherichia coli* menunjukkan hasil negatif untuk uji VP

F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

a. Data primer

Data primer adalah data yang didapatkan atau diperoleh langsung di lapangan oleh orang yang melakukan penelitian yang dimana data primer dari penelitian yang dilakukan ini adalah hasil pemeriksaan laboratorium dan hasil observasi langsung di lapangan terkait lingkungan dari Pasar Ketapian serta kebersihan, peralatan dan perilaku dari pedagang.

b. Data sekunder

Data sekunder adalah data yang didapatkan atau diperoleh oleh peneliti yang melakukan penelitian dari sumber-sumber yang telah ada. Data sekunder yang digunakan dalam penelitian ini adalah jumlah dari produksi daging ayam di Provinsi Bali, Peraturan Pemerintah Nomor 86 Tahun 2019 terkait Keamanan Pangan serta data yang bersumber dari jurnal maupun penelitian sebelumnya. Data sekunder ini merupakan data pendukung pada penelitian.

2. Teknik pengumpulan data

Pada penelitian ini, Teknik pengumpulan data yang digunakan adalah observasi dan pemeriksaan laboratorium

a. Observasi

Observasi merupakan suatu pengamatan dan pencatatan secara sistematis terhadap suatu unsur-unsur yang tampak dalam suatu gejala pada objek penelitian. Data hasil observasi pada penelitian ini dapat berupa hasil dari observasi terkait lingkungan di sekitar Pasar ketapian, Kebersihan pada tempat penjualan daging, penggunaan pakaian kerja pada saat penjualan.

b. Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan laboratorium dalam penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* pada daging ayam yang dijual di Pasar Ketapian Denpasar Timur.

3. Instrumen pengumpulan data

Instrumen pengumpulan data digunakan untuk mengumpulkan data agar lebih mudah untuk dikumpulkan, instrument pengumpulan data yang digunakan pada penelitian ini adalah :

- a. Alat tulis, digunakan untuk membantu dalam proses pengisian data observasi dan proses dalam pelabelan sampel
- b. Lembar observasi
- c. Alat dokumentasi (berupa kamera)
- d. Alat pengambilan sampel

G. Pengolahan dan Analisis data

Dari penelitian yang dilakukan, pengolahan dan analisis data dilakukan dengan cara deskriptif. Hal tersebut dikarenakan data yang diperoleh selanjutnya akan dikumpulkan, diolah dan disajikan dalam bentuk tabel kemudian dibahas secara naratif terkait dengan identifikasi *Escherichia coli* dan faktor pencemar pada daging ayam yang dijual di Pasar Ketapian Denpasar Timur.

H. Etika penelitian

1. Hak dan kewajiban responden

- a. Hak-hak responden :
 - 1) Hak untuk dihargai privasinya : Sebisa mungkin tidak mengganggu waktu luang responden.
 - 2) Hak untuk merahasiakan informasi yang diberikan : Tidak menggunakan nama responden, cukup dengan kode-kode tertentu.
 - 3) Hak memperoleh jaminan keamanan atau keselamatan akibat informasi yang diberikan.

b. Kewajiban responden

Memberikan informasi terkait yang diperlukan untuk mendukung penelitian yang sedang dilakukan.

2. Hak dan kewajiban peneliti

a. Hak peneliti

Seorang peneliti memiliki hak untuk memperoleh informasi yang diperlukan sebagai penelitian yang dilakukan dengan sejujurnya dan selengkapnyanya dari responden.

b. Kewajiban peneliti

Kewajiban peneliti adalah menjaga privasi dari responden dan menjaga kerahasiaan dari responden untuk menunjang penelitian agar berjalan dengan lancar