

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif yang bertujuan untuk menggambarkan kualitas air cucian peralatan makanan pedagang kaki lima di Mulyosari Surabaya berdasarkan kandungan *Salmonella* sp.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi untuk penelitian ini adalah air cucian peralatan makanan dari pedagang kaki lima di daerah Mulyosari, dengan jumlah 30 pedagang kaki lima di Mulyosari, dari batas utara pertigaan sampai batas selatan pom bensin Mulyosari.

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel sejumlah 30 air cucian peralatan makanan dari pedagang kaki lima di daerah Mulyosari.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pemeriksaan kualitas air cucian dilaksanakan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya. Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2015 sampai Juli 2015, sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan Mei 2015.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah kualitas air cucian peralatan makanan pada penjual kaki lima di daerah Mulyosari berdasarkan kandungan *Salmonella* sp.

3.4.2 Definisi operasional

Kualitas air cucian peralatan makanan dikategorikan menjadi baik, apabila air cucian tidak mengandung *Salmonella* sp. pada pemeriksaan secara mikrobiologis. Dikatakan tidak baik apabila air cucian mengandung *Salmonella* sp. pada pemeriksaan secara mikrobiologis.

3.5 Tehnik Pengumpulan Data

Data dikumpulkan dengan melakukan pengujian laboratorium secara mikrobiologis. Langkah-langkah pengumpulan data adalah sebagai berikut

3.5.1 Persiapan Sampel Air Cucian

Alat yang digunakan untuk persiapan sampel antara lain wadah steril (kantong plastik), gayung, karet, dan label.

Prosedur pengambilan sampel yaitu dengan mengambil air cucian secukupnya dengan menggunakan gayung lalu dimasukkan kedalam kantong plastic, dan ikat dengan karet.

3.5.2 Alat dan Bahan Pemeriksaan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah autoclave, lemari es, incubator, hot plate, kompor gas, timbangan analitik, gelas ukur, pipet ukur, tabung reaksi, beaker glass, erlenmeyer, cawan petri, sendok pengaduk, rak tabung.

Bahan atau media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media selenite broth (media pemupuk), media mac conkey, media biokimia/gula-gula.

a. Pembuatan Media

1. Media *Selenite Broth* (SB)

Tujuan : Untuk memperbanyak kuman

Prosedur :

1. Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan
2. Menimbang bahan sesuai dengan perhitungan

Peptone :

$$\frac{5\text{gram}}{1000} \times 300\text{ml} = 1,5\text{gram}$$

Manitol :

$$\frac{4\text{gram}}{1000} \times 300\text{ml} = 1,2\text{gram}$$

Sodium selenite :

$$\frac{4\text{gram}}{1000} \times 300\text{ml} = 1,2\text{gram}$$

3. Melarutkan dan mendidihkan
4. di PH dan d I steril dengan autoclave
5. diinkubasi 37°C selama 24jam

2. Media *Mc Conkey* (MC)

Tujuan : Untuk mendapatkan atau membedakan ciri khusus pada kuman tertentu.

Bahan : MC (mc conkey), Aquadest ± 510 ml, kertas indikator PH, bahan penetral (Asam Hcl = 0,1 N dan Basa NaoH = 0,1 N).

Prosedur :

1. Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan
2. Menimbang bahan sesuai dengan perhitungan

MC = 50gram dalam 1liter

$$\frac{50\text{gram}}{1000\text{ml}} \times 510\text{ml} = 25,5 \text{ gram}$$

3. Memasukkan kedalam erlenmeyer dengan 510 ml aquades
4. Melarutkan dan mendidihkan, lalu disuam-suam
5. Di Ph 7,2 dan masukkan ke autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit.
6. lalu tuang media sedikit demi sedikit ke dalam plate.

3. Media Biokimia

Media Gula-Gula

Procedur :

1. Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan
2. Membuat air pepton untuk melarutkan media gula-gula (5ml x 50 tabung = 250ml x 5gula-gula = 1250ml air pepton).

$$\frac{10\text{gram}}{1000\text{ml}} \times 1250\text{ml} = 12,5 \text{ gram}$$

$$\text{Nacl} = \frac{5\text{gram}}{1000\text{ml}} \times 1250\text{ml} = 6,25\text{gram}$$

3. Melarutkan dan panaskan, lalu disuam-suam dan d PH (7,2-7,4)
4. Menuangkan ke dalam 5 beaker glass (untuk 5gula-gula)
5. Membuat media gula-gula dengan penimbangan sesuai perhitungan

Perhitungan gula-gula

Membuat 150tabung \longrightarrow 1 tabung 5ml \longrightarrow 150x5= 750ml \longrightarrow

$$\text{Manosa} = \frac{1\text{gram}}{100\text{ml}} \times 750\text{ml} = 7,5\text{gram}$$

$$\text{Glukosa} = \frac{1\text{gram}}{100\text{ml}} \times 750\text{ml} = 7,5\text{gram}$$

$$\text{Maltosa} = \frac{1\text{gram}}{100\text{ml}} \times 750\text{ml} = 7,5\text{gram}$$

$$\text{Laktosa} = \frac{1\text{gram}}{100\text{ml}} \times 750\text{ml} = 7,5\text{gram}$$

$$\text{Sukrosa} = \frac{1\text{gram}}{100\text{ml}} \times 750\text{ml} = 7,5\text{gram}$$

1. Masukkan gula-gula ke dalam beaker glass yang berisi air pepton
2. Menambahkan BTB 0,4% sebanyak 7,5ml
3. Lalu di pH dan masukkan media gula-gula dalam tabung reaksi yang sudah berisi tabung durham
4. Tutup dengan kasa dan warna yang sesuai
5. Steril autoclave suhu 121°C selama 15menit

Media Indol

Prosedur :

1. Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan
2. Menimbang sesuai dengan perhitungan

Membuat 30tabung \longrightarrow 1tabung 5ml \longrightarrow 30x5=150ml

$$\text{Pepton} = \frac{10\text{gram}}{1000\text{ml}} \times 150\text{ml} = 1,5\text{gram}$$

$$\text{NaCl} = \frac{5\text{gram}}{1000\text{ml}} \times 150\text{ml} = 0,75\text{gram}$$

3. Setelah menimbang dilarutkan dan dipanaskan
4. Disuam-suam dan PH 7,2 – 7,4
5. Menuang pada tabung dan steril di autoclave

Media *Voges proskover* (VP) dan *methyl red* (MR)

Prosedur :

1. Menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan
2. Menimbang sesuai dengan perhitungan

Membuat 30tabung \longrightarrow 1tabung 5ml \longrightarrow 30x5=150ml

$$\text{Glukosa} = \frac{0,5\text{gram}}{80\text{ml}} \times 300\text{ml} = 1,875\text{gram}$$

$$\text{K}_2\text{HPo}_4 = \frac{0,5\text{gram}}{80\text{ml}} \times 300\text{ml} = 1,875\text{gram}$$

$$\text{Pepton} = \frac{0,5\text{gram}}{80\text{ml}} \times 300\text{ml} = 1,875\text{gram}$$

3. Setelah penimbangan sesuai dengan perhitungan
4. Melarutkan dan panaskan dan disuam-suam
5. di $\text{ph} \geq 1$ dan dituang pada tabung
6. lalu disteril autoclave

Media *Urea*

Procedur :

Membuat 30tabung \longrightarrow 1tabung 5ml \longrightarrow 30x5 =150ml

Perhitungan perbandingan 10 : 1

1. Urea agar base 30tabung x 5 = 150ml

$$\frac{21\text{gram}}{1000\text{ml}} \times 150\text{ml} = 3,15\text{gram}$$

Harnstoff = 20%

$$\frac{20\text{gram}}{100\text{ml}} \times 15\text{ml} = 3\text{gram}$$

2. Setelah menimbang Harnstoff agar larutkan dan panaskan pada Erlenmeyer
3. lalu disuam-suam dan di pH 6,8
4. lalu steril dengan autoclave

Media Semi Solid (SS)

Prosedur :

1. Membuat 30tabung, 1 tabung 5ml → 30x5 = 150ml

Pepton

$$\frac{5\text{ gram}}{1000\text{ml}} \times 150\text{ ml} = 0,75\text{ gram}$$

Nacl

$$\frac{5\text{ gram}}{1000\text{ml}} \times 150\text{ ml} = 0,75\text{ gram}$$

Bacto agar

$$\frac{3\text{ gram}}{1000\text{ml}} \times 150\text{ ml} = 0,45\text{ gram}$$

2. Setelah penimbangan pepton, Nacl , Bacto agar
3. Melarutkan dan panaskan pada beaker glass
4. Lalu disuam-suam dan di Ph 7,6
5. Disteril dengan autoclave

Media *Tripel Sugar Iron Agar (TSIA)*

Prosedur :

30tabung → 1tabung 5ml → 30x5= 150ml →

Perhitungan :

$$\frac{65 \text{ gram}}{1000\text{ml}} \times 150 \text{ ml} = 9,75 \text{ gram}$$

1. Menimbang sesuai perhitungan
2. Melarutkan dan panaskan
3. Disuam-suam kemudian d ph (6,8-7)
4. Menuang pada tabung dan steril dengan autoclave
5. Didinginkan dan dimiringkan hingga terbentuk lereng dan dasar

Media *Simon Citrat (SC)*

Prosedur :

30tabung → 1tabung 5ml → 30x5= 150ml

Perhitungan :

$$\frac{22,5 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 150 \text{ ml} = 3,375 \text{ gram}$$

1. Menimbang sesuai perhitungan
2. Melarutkan dan panaskan
3. Disuam-suam kemudian d ph (6,8-7)
4. Menuang pada tabung dan steril dengan autoclave
5. Didinginkan dan dimiringkan hingga terbentuk lereng

b. Penanaman Sampel pada Media

1. Penanaman sampel pada Media *Selenite Broth*

30 sampel air cuci tersebut dimasukkan ke media selenite broth sebanyak 90 ml , Lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24jam. Setelah itu dilanjut penanaman ke media Mc conkey

Penanaman pada media Mc Conkey :

Setelah media selenite broth itu diinkubasi selama 24jam, hasil penanaman dari selenite broth ditanam pada media Mc conkey dengan menggunakan ose steril lalu goreskan pada media Mc conkey dengan metode “ Y ” atau “ T “ .Setelah itu diinkubasi selama 24jam suhu 37°C dan dilanjut penanaman ke media Biokimia.

2. Penanaman Pada media Biokimia

Media Gula- gula :

Mengambil koloni kuman (bulat, transparan, tidak memecah laktosa) menggunakan ose bulat steril pada Mc conkey, lalu menanam pada media gula-gula, dengan cara mencelupkan ose yang berisi kuman 3-4 kali dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24jam.

Media Indol :

Mengambil koloni kuman (bulat, transparan, tidak memecah laktosa) menggunakan ose bulat steril pada Mac conkey, lalu menanam pada media indol, dengan cara mencelupkan ose yang berisi kuman 3-4 kali, lalu di inkubasi pada suhu 37°C selama 24jam, Setelah itu, teteskan dengan reagen kovac sebanyak 3 tetes untuk melihat adanya cincin merah yang menandakan positif.

Media VP atau MR :

Mengambil koloni kuman (bulat, transparan, tidak memecah laktosa) menggunakan ose bulat steril pada Mc conkey, lalu menanam pada media VP/MR, dengan cara mencelupkan ose yang berisi kuman 3-4 kali, dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24jam. Setelah itu untuk VP ditambahkan reagen KOH 40% 1 tetes dan alfa naphtol sebanyak 3 tetes, Sedangkan untuk MR ditambahkan reagen MR 3 tetes.

Media Urea :

Mengambil koloni kuman (bulat, transparan, tidak memecah laktosa) menggunakan ose bulat steril pada Mc conkey, lalu menanam pada media urea, dengan cara digoreskan menggunakan ose bulat. Dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24jam.

Media Semi Solid (SS) :

Mengambil koloni kuman (bulat, transparan, tidak memecah laktosa) menggunakan ose jarum steril pada Mc conkey, lalu menanam pada media semisolid, dengan cara ditusuk pada bagian tengah dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24jam.

Media Simon Citrat (SC) :

Mengambil koloni kuman (bulat, transparan, tidak memecah laktosa) menggunakan ose bulat steril pada Mc conkey, lalu menanam pada media simon citrat, dengan cara digoreskan menggunakan ose bulat, dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24jam.

Media Tripel Sugar Iron Agar (TSIA) :

Mengambil koloni kuman (bulat, transparan, tidak memecah laktosa) menggunakan ose jarum steril pada Mc conkey, lalu menanam pada media TSIA, dengan cara ditusukkan pada bagian tengahnya sampai hampir dasar, lalu goreskan pada bagian lereng, dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24jam.

3.6 Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif, yaitu dengan menghitung presentase air cucian peralatan makanan yang berkualitas baik dan tidak baik.

Tabel 3.1 Contoh Tabel Uji Mikrobiologi

No. Urut	Tanggal Pengambilan	Kode Sampel	Kontaminasi		Keterangan	
			Positif (+)	Negatif (-)	Kualitas Baik	Kualitas Tidak Baik
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						

Langkah selanjutnya adalah menghitung jumlah bakteri yang diperoleh dari hasil penelitian kualitas bakteriologi pada air cuci peralatan makanan pada pedagang kaki lima di daerah Mulyosari Surabaya.