

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis dan Desain Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Desain penelitian yang digunakan adalah observasional, yaitu menggali data tentang mutu mikrobiologi/ biologi, dan mutu fisik sayur lalapan yang tersebar di Desa Mangliawan Kecamatan Pakis Kabupaten Malang.

#### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada Bulan Maret – Mei 2019 yang bertempat di Desa Mangliawan Kecamatan Pakis Kabupaten Malang,

1. Pengambilan sampel berupa sayur lalapan (Kubis dan Kemangi) dilakukan dua tahap yaitu pada tanggal 22 Mei dan 23 Mei, pengambilan sampel dilakukan di 5 warung yaitu: Warung Niki Echo 2, Warung Lalapan Mbak Susi, Warung Lalapan Sri Rejeki, Warung Mbak lin, Warung Lalapan 88.
2. Uji laboratorium di Laboraturium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Malang pada tanggal 23 Mei-26 Mei.

#### **B. Alat dan Bahan**

1. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah plastik bersegel dan berlabel, ice box untuk menyimpan sampel sayuran, neraca analitik, mikroskop, *deck glass*, *objeck glass*, cawan petri, gelas kimia, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet, jarum ose, autoklaf, dan inkubator.
2. Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah sayur kemangi (*ocinum basilicum*), kubis (*Brassciae Capitatae Folium*) yang dijual oleh pedagang lalapan di Desa Mangliawan Kecamatan Pakis Kabupaten Malang dengan spesifikasi bahan sesuai yang ada pada lapangan, label, dan NaCl. Sampel yang diambil akan diteliti kurang lebih dari 24 jam setelah waktu pengambilan dengan pertimbangan untuk menghindari kontaminasi tambahan. Sampel yang didapat disimpan pada ice box untuk menghindari kontaminasi tambahan.

## **C. Populasi dan Sampel**

### **1. Populasi**

Populasi dalam penelitian ini adalah sayur kemangi dan kubis yang dijual oleh pedagang lalapan di Desa Mangliawan Kecamatan Pakis Kabupaten Malang.

### **2. Sampel**

Sampel dalam penelitian ini adalah sayur kemangi dan kubis yang dijual di lima warung yang menjual lalapan di Desa Mangliawan Kecamatan Pakis Kabupaten Malang yaitu: Warung Niki Echo 2, Warung Lalapan Mbak Susi, Warung Lalapan Sri Rejeki, Warung Mbak lin, Warung Lalapan 88.

### **2. Teknik Sampling**

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *Purposive Sampling* berdasar pengambilan sampel secara sengaja. Peneliti menentukan sendiri sampel yang diambil dengan beberapa pertimbangan tertentu. Pertimbangan didasarkan oleh letak warung yang menjual lalapan sehingga dapat mewakili warung yang menjual lalapan di daerah tersebut.

Waktu pengambilan Sampel pukul 16.00-19.30 WIB dari warung lalapan kemudian dipindahkan ke plastik tertutup, kemudian dianalisis di Laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Malang pukul 08.00-13.00 WIB.

## E. Definisi Operasional Variabel

Tabel 5 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Mutu Fisik	Kualitas suatu bahan pangan yang dapat dilihat secara inderawi, tanpa perlu bantuan alat	Pengamatan fisik sayur sesuai indikator SNI (1998).	Dinyatakan dalam bentuk deskriptif yaitu hasil pengamatan inderawi terhadap Warna, Tekstur, dan Aroma	Ordinal
Mutu Mikrobiologi/ Biologi	Kualitas bahan pangan yang ditentukan dari jumlah total cemaran mikroba  Kualitas bahan pangan yang ditentukan dari keberadaan telur cacing nematoda usus	Uji angka lempeng total (ALT) dengan metode Standar Plate Counts (SPC)  Uji keberadaan telur cacing nematoda usus	ALT dinyatakan dalam gram/koloni  Dinyatakan dalam bentuk jenis telur cacing yang terdapat pada sayur lalapan	Rasio  Ordinal

## F. Metode Penelitian

### 1. Angka lempeng total (Fardiaz, 1992)

Alat dan bahan

Alat

- 10 Cawan petri steril
- 10 Pipet ukur 1 ml steril
- Gunting dan pinset steril
- Inkubator
- Bunsen
- Jarum ose steril
- Kertas sampul

- 30 Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi
- Pipet volume 1 ml, 5 ml, dan 20 ml steril
- Labu hisap
- Sendok steril
- Mortar dan pestle steril
- Neraca analitik
- Colony counter

Bahan

- Kemangi dan kubis
- PCA
- Aquades

Cara Kerja :

a. Pengambilan sampel

1. Sayur kemangi dan kubis dimasukkan kedalam kantung plastik yang tertutup, bersih dan kering.
2. Kantung plastik diberi label nomor atau kode sampel, tanggal pengambilan sayur kemangi dan kubis kemudian dibawa ke laboratorium.

b. Angka Lempeng Total (Fardiaz, 1992)

1. Menimbang 5 gram masing-masing sampel.
2. Menghaluskan dengan mortar.
3. Melarutkan 5 gram bahan ke dalam 45 ml aquades steril, mengocok hingga homogen (pengenceran  $10^{-1}$ ).
4. Memipet sebanyak 1 ml larutan pengenceran  $10^{-1}$  menggunakan pipet 1 ml steril, melarutkan kedalam aquades steril 9 ml (pengenceran  $10^{-2}$ ).
5. Mengambil kembali 1 ml larutan pengenceran  $10^{-2}$  kemudian melarutkan pada aquades steril 9 ml (pengenceran  $10^{-3}$ ).
6. Mengambil kembali 1 ml larutan pengenceran  $10^{-3}$  kemudian melarutkan pada aquades steril 9 ml (pengenceran  $10^{-4}$ ).
7. Memasukkan sebanyak 1 ml suspensi dari pengenceran  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , dan  $10^{-4}$  ke dalam cawan petri.

8. Menambahkan 15 ml PCA yang sudah didinginkan hingga temperatur 50 °C pada masing-masing cawan yang telah diberi suspensi.
  9. Memutar cawan membentuk angka delapan dan mendinginkan sampai menjadi padat.
  10. Menginkubasikan pada temperatur 36 °C selama 24 jam dengan meletakkan pada posisi terbalik.
  11. Menghitung mikroorganisme menggunakan alat colony counter sesuai SPC.
2. Uji Keberadaan Telur Cacing Nematoda (Sumanto, 2012).

#### Alat dan Bahan

##### Alat

- Neraca analitik
- 2 Beaker glass 500 ml
- 10 beaker glass 200 ml
- Pinset
- Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi
- Deck glass
- Object glass
- Mikroskop

##### Bahan

- Label
- Sampel sayur lalapan kemangi dan kubis
- NaCl
- Aquades

##### Cara Kerja

###### a. Pengambilan sampel

- 1) Sayur kemangi dan kubis dimasukkan ke dalam kantong plastik yang tertutup rapat, bersih dan kering
- 2) Kantong plastik diberi label nomor atau kode sampel, tanggal pengambilan sayur kemangi dan kubis kemudian dibawa ke laboratorium

###### c. Metode pemeriksaan dan prinsip

Metode pemeriksaan yang digunakan adalah metode flotasi. Prinsipnya adalah sampel dielmsukan kedalam larutan NaCl jenuh, dimana telur cacing pada sampel mengapung ke permukaan larutan karena perbedaan berat jenis antara larutan NaCl dan telur cacing

d. Persiapan alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan disiapkan adalah Neraca analitik, 2 Beaker glass 500 ml, 10 beaker glass 200 ml, Pinset, Tabung reaksi, Rak tabung reaksi, Deck glass, Object glass, dan Mikroskop. Bahan yang disiapkan adalah sampel sayur kemangi dan kubis. kemudian aquades dan NaCl untuk dibuat menjadi larutan NaCl jenuh. Label untuk kode sampel dalam pemeriksaan sampel.

e. Persiapan sampel

Sayur kemangi dan kubis dikeluarkan dari kantung plastik. Sayur kemangi dan kubis tersebut kemudian dipotong-potong daun dan batangnya.

f. Pembuatan NaCl jenuh

- 1) Masukkan aquades 500 ml dalam gelas kimia
- 2) Dimasukkan NaCl 165 gram ke dalam larutan sedikit demi sedikit sampai larutan menjadi larutan NaCl jenuh

g. Uji Keberadaan Telur Cacing Nematoda (Sumanto, 2012: 3).

Prosedur pemeriksaan telur cacing metode flotasi

1. Sampel kemangi dan kubis direndam dalam larutan NaCl jenuh kemudian dibiarkan selama 25 menit.
2. Setelah 25 menit, diaduk hingga homogen. Kemudian sampel kemangi dan kubis diangkat dan dikeluarkan dengan menggunakan pinset.
3. Larutan NaCl jenuh hasil rendaman dimasukkan ke dalam tabung reaksi sampai penuh
4. Letakkan deck glass diatas tabung reaksi hingga menyentuh permukaan larutan. Diamkan selama 45 menit
5. Setelah 45 menit pindahkan deck glass diatas object glass
6. Periksa dibawah mikroskop dengan pembesaran objektif 10x dan 40x

### 3. Pengamatan Mutu Fisik

#### Alat dan Bahan

##### Alat

- Wadah untuk meletakkan sampel

##### Bahan

- Sampel Kubis dan Kemangi

##### Prosedur

1. Meletakkan sampel pada wadah
2. Mengamati sampel (kubis dan kemangi) dengan cara melihat warna sampel, merasakan tekstur pada sampel, dan mencium aroma sampel.

## **G. Metode Analisis**

### 1. Angka Lempeng Total

Untuk mengetahui cemaran mikroba pada sayur kemangi dan kubis dengan cara hitung cawan menggunakan Standar Plate Counts (SPC) dengan ketentuan sebagai berikut:

1. Cawan yang dipilih dan dihitung yang mengandung jumlah koloni antara 30-300.
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan suatu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan, dapat dihitung sebagai satu koloni.
3. Satu deretan (rantai) koloni yang terlihat sebagai satu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

Dalam SPC ditentukan cara pelaporan dan perhitungan koloni sebagai berikut:

1. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka yaitu angka pertama di depan angka kedua di belakang koma. Jika angka yang ketiga sama dengan atau lebih dari 5, harus dibulatkan satu angka lebih tinggi pada angka yang kedua.
2. Jika semua pengenceran yang dibuat untuk pemupukan menghasilkan angka kurang dari 30 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.

3. Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran tertinggi yang dihitung, misalnya dengan cara menghitungnya pada  $\frac{1}{4}$  bagian cawan petri, kemudian dikalikan dengan empat. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih dari 300 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.
4. Jika cawan dari dua tingkat pengenceran menghasilkan koloni dengan jumlah antara 30-300, dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan 2, tentukan rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan pengencerannya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar dari 2, yang dilaporkan hanya hasil terkecil.
5. Jika digunakan dua cawan petri (duplo) per pengenceran data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh diambil salah satu, meskipun salah satu dari cawan duplo tersebut tidak memenuhi syarat 30-300.

## 2. Analisis Keberadaan Telur Cacing Nematoda Usus

Untuk mengetahui keberadaan telur cacing nematoda usus pada sayur kemangi dan kubis, pindahkan deck glass diatas object glass kemudian periksa dibawah mikroskop dengan pembesaran objektif 10x dan 40x.

## 3. Penilaian Mutu Fisik

Untuk mengetahui mutu fisik sayur kemangi dan kubis, sayur diamati menggunakan panca indera (melihat warna, merasakan tekstur, dan mencium aroma), kemudian data yang diperoleh diklasifikasikan menjadi segar dan tidak segar sesuai syarat mutu SNI (1998).

## H. Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

### 1. Mutu Mikrobiologi

#### a. Angka Lempeng Total

Perhitungan total cemaran mikroba dihitung menggunakan *Standart Plate Counts* (SPC), dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel.



b. Keberadaan Telur Cacing Nematoda Usus

Keberadaan telur cacing diketahui dengan menggunakan mikroskop, dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel.

2. Mutu Fisik

Data karakteristik mutu fisik sayur kemangi dan kubis dilakukan secara subjektif menggunakan panca indera, dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dengan standar perbandingan SNI, 1998.