

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dipergunakan pada penelitian ini adalah Quasi Eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap 2 faktor, yaitu factor suhu penyimpanan dan waktu penyimpanan, dan dibagi dalam 3 kelompok perlakuan yaitu perlakuan penyimpanan pada suhu 27°C – 35°C, penyimpanan pada suhu - 5°C – 0°C, dan penyimpanan pada suhu 1°C – 4°C.

3.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2021

3.4 Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah Daging Sapi yang masih fresh setelah disembelih di Kota Malang sebanyak 3 sampel dengan kode sampel D1, D2, dan D3. Untuk sampel D1 didapatkan dari RPH Mergosono, sampel D2 didapat dari RPH Cemorokandang, dan sampel D3 didapat dari RPH Tumpang.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Data yang didapat pada penelitian ini adalah data primer yaitu data yang diperoleh pada saat penelitian, sedangkan data sekunder didapat dari observasi di lapangan mengenai berbagai tempat potong hewan di Kota Malang sapi, serta SNI 7388:2009, tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

variabel bebas yang terkait dalam penelitian ini adalah pengaruh suhu dan waktu penyimpanan daging sapi.

3.6.2 Variabel Terikat

variabel terikat dari penelitian ini adalah jumlah mikroorganisme yang tumbuh pada sampel daging sapi.

3.7 Definisi Operasional

Variable	Definisi Operasional	Pengukuran	Hasil Ukur	Skala
Dependen Staphylococcus Aureus	Bakteri berbentuk coccus tersusun seperti buah anggur, gram positif, pada media MSA menfermentasikan Manitol	Penanaman pada media MSA, dihitung koloni yang berwarna kuning dan memfermentasi mannit sehingga media menjadi jernih	Koloni/g Nilai Ambang Batas (NAB) 1×10^2 koloni/g	Numerik
Independen Suhu	- suhu ruang ($27^{\circ}\text{C} - 35^{\circ}\text{C}$) - suhu freezer ($-5^{\circ}\text{C} - 0^{\circ}\text{C}$) - suhu refrigerator ($1^{\circ}\text{C} - 4^{\circ}\text{C}$)	Thermometer	$^{\circ}\text{C}$	Numerik
Waktu	2 jam, 24 jam, dan 48 jam	-	jam	Numerik

3.8 Alat dan Bahan

3.8.1 Alat

- a. Alat penyiapan daging sapi adalah pisau, telenan, nampan, sarung tangan, masker
- b. Alat pembuatan media Manitol Salt Agar adalah cawan petri, tabung reaksi steril, hot plate, magnetic stirrer, rak tabung reaksi, beaker glass 1000 ml, neraca analitik, piper volume, spatula, batang pengaduk, autoklaf, sarung tangan, dan masker
- c. Alat inokulasi bakteri adalah cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pembakar spirtus, LAF, Bunsen, pipet volume, korek api, mortar dan alu, timbangan analitik, spreader, incubator, sarung tangan, dan masker
- d. Alat menghitung populasi bakteri adalah coloni counter, spidol

3.8.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah

- a. Bahan sampel adalah daging sapi
- b. Bahan sterilisasi alat dan pembuatan media akuadest steril, alcohol 70%, media MSA (Manithol Salt Agar), kapas, kertas tahan panas, dan karet gelang
- c. Bahan inokulasi bakteri adalah akuadest steril, alcohol 70%, kertas label, sampel daging sapi, media MSA (Manithol Salt Agar)
- d. Bahan menghitung populasi bakteri adalah sampel yang sudah diinokulasi pada media MSA.

3.9 Prosedure Penelitian

3.9.1 Tahap Persiapan

a. Persiapan Sampel dan Alat

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini harus dalam keadaan bersih dan steril. Pengambilan sampel daging sapi dari Rumah Potong Hewan Kota Malang harus dengan steril dengan cara memasukkan sampel ke dalam box sampel steril dan sesegera mungkin dibawa ke laboratorium agar meminimalisir kontaminasi. Sampel disimpan pada suhu

27°C – 35°C, -5°C – 0°C, dan suhu 1°C – 4°C dengan lama penyimpanan selama 2 jam, 24 jam, dan 48 jam setelah penyembelihan.

b. Sterilisasi Alat

- 1) Cawan petri dibungkus dengan kertas tahan panas, mulut tabung reaksi dan pipet volume ditutup dengan kapas
- 2) Seluruh alat yang telah disumbat dengan kapas dan sudah dibungkus dengan kertas tahan panas dimasukkan ke dalam autoklaf untuk sterilisasi

3.9.2 Tahap Pelaksanaan

a. Pembuatan Media

1. Menimbang padatan MSA dan memasukkan ke dalam beaker glass
2. Mencampur padatan media dengan akuadest dan di panaskan di atas hot plate
3. Ditutup mulut beaker glass dengan aluminium foil
4. Media agar di sterilkan di dalam autoklaf (121°C, 2 atm) selama 15 menit

b. Inokulasi Bakteri

1. Menimbang daging sapi yang sudah disimpan pada masing-masing suhu dan lama penyimpanan sebanyak 10 gram dan ditumbuk menggunakan mortar sampai halus
2. Melakukan pengenceran menggunakan akuadest steril hingga pengenceran 10^{-4}
3. Pengenceran 10^{-1} dilakukan dengan cara menimbang 1 gram daging ditumbuk halus dan dimasukkan dalam 45 ml akuadest steril, dihomogenkan selama 10 menit sampai terbentuk endapan
4. Mengambil 1 ml larutan dari pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan ke dalam 9 ml akuadest
5. Melakukan pengenceran berseri dengan cara yang sama hingga mencapai pengenceran 10^{-4}
6. Mengambil 1 ml larutan pada pengenceran 10^{-2} - 10^{-3} dan ditebarkan pada media MSA dan dratakan dengan menggunakan spreader

7. Membungkus media agar yang telah diinokulasi dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam incubator

3.9.3 Tahap Pengujian

a. Uji Kualitatif

Uji kualitatif meliputi uji organoleptis (pH, warna, tekstur, dan aroma)

b. Uji Kuantitatif

Uji kuantitatif yaitu dengan perhitungan jumlah populasi bakteri pada daging sapi di setiap waktu dan suhu penyimpanan. Perhitungan jumlah bakteri menggunakan metode TPC (Total Plate Count). Adapun dalam menghitung bakteri CFU (Colony Forming Unit) dengan rumus:

$$P (CFU g) = \frac{\text{jumlah koloni}}{\text{faktor pengenceran} \times \text{cawan}}$$

3.10 Metode Analisis Data

3.10.1 Analisis Univariat

Analisis univariate digunakan pada penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik setiap variable penelitian. Bentuk analisis univariate tergantung dari jenis datanya. Pada penelitian ini datanya dalam bentuk numerik maka digunakan nilai mean, median, dan standart deviasi. Pada analisis ini hanya menghasilkan distribusi frekuensi dan persentase dari tiap variable.

3.10.2 Analisis Bivariat

Apabila telah dilakukan analisis univariat, hasilnya akan diketahui karakteristik atau distribusi setiap variabel, dan dapat dilanjutkan dengan analisis bivariat. Analisis bivariat dilakukan terhadap dua variabel yang diduga berhubungan atau berkorelasi. Sebelum dilakukan analisis bivariate, dilakukan Uji Normalitas dengan menggunakan Uji Shapiro-Wilk. Jika Distribusi data Normal dan varians data juga sama maka dilanjutkan dengan uji Two Way Anova, jika data tidak berdistribusi normal dan varians tidak sama, diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya distribusi menjadi normal atau varians menjadi sama. Jika variabel hasil transformasi tidak berdistribusi normal atau varians tetap tidak sama, maka digunakan uji alternatifnya yaitu uji Kruskal –Wallis.

