



Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

III. MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Kecamatan Tampan pada bulan Maret sampai April 2015. Analisis aspek mikrobiologi dilakukan di Laboratorium Makanan dan Minuman Dinas Perindustrian dan Perdagangan Provinsi Riau.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakso bakar yang dibeli dari pedagang bakso bakar di Kecamatan Tampan. Bahan untuk analisis mikrobiologi adalah *plate count agar* (PCA), *buffered pepton water* (BPW) 0,1%, *brilliant green lactose bile agar* (BGLBB), *lauryl sulfate tryptose broth* (LSTB), *eschericia coli broth* (ECB), *levine eosine methylene blue agar* (L-EMBA), *methyl red-voges proskauer* (MR-VP), *kalium cyanide broth* (KCB), *simmons citrate agar* (SCA), *reagen kovac*, *reagen voges-proskauer* (VP), *baird-parker agar* (BPA), *egg yolk tellurite emultion*, *brain heart infusion broth* (BHIB), *triple sugar agar* (TSA).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, pipet serologis, tabung reaksi dan penutupnya, tabung *durham*, gelas ukur, *beaker glass*, *labu erlenmeyer*, botol medium, inkubator, *stomacher*, *colony counter*, penangas air, *tube mixer*, timbangan, *clean banch*, gunting, pinset, plastik steril, timbangan, rak tabung, gelas preparat, jarum inokulum diameter 3 mm, mortar dan *rotary evaporator*.



3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat deskriptif yaitu untuk mengidentifikasi bakteri TPC, *Escherichia coli*, *Coliform* dan *Salmonella sp.* Pengambilan sampel dilakukan secara acak (*simple random sampling*) 30% dari total 50 sekolah yang tersebar di wilayah Kecamatan Tampan (BPS Tampan, 2014). Sampel diambil dari 15 pedagang bakso bakar yang berjualan di sekitar sekolah. Masing-masing pedagang tersebut diambil sampel sebanyak 3 tusuk bakso bakar. Tiap sampel dibawa dengan wadah steril secara aseptis dan langsung dikirim ke laboratorium untuk dilakukan analisis mikrobiologis.

Lokasi Pengambilan sampel dikelompokkan secara proporsional berdasarkan empat kelurahan di Kecamatan Tampan yaitu Kelurahan Simpang Baru sebanyak 6 sampel, Kelurahan Tuah Karya sebanyak 3 sampel, Kelurahan Sidomulyo Barat sebanyak 3 sampel, dan Kelurahan Delima sebanyak 3 sampel. Setiap lokasi pengambilan diberi kode A= Jl. Delima, B= Jl. Lobak, C= Jl. Srikandi, D= Jl. Purwodadi, E= Jl. Putri Tujuh, F= Jl. Eka Tunggal, G= Jl. Swakarya, H= Jl. Taman Karya, I= Jl. Cipta Karya, J= SD Buluh Cina, K= SD Melati, L= Jl. Bina Krida, M= Jl. Merpati Sakti, N= Jl. Bangau Sakti, O= Jl. Rajawali.

3.4. Parameter Penelitian

3.4.1. Penghitungan *Total Plate Count* (TPC) (SNI 2897:2008)

Penghitungan TPC menggunakan metode cawan tuang (*pour plate*). Sampel ditimbang sebanyak 25 g, kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril yang telah berisi 225 ml larutan BPW 0,1% steril, kemudian dihomogenkan



Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

dengan *stomacher* selama 1-2 menit. Larutan yang terbentuk merupakan pengencer 10^{-1} . Suspensi 10^{-1} sebanyak 1 ml dipindahkan ke dalam 9 ml larutan BPW dengan pipet steril untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Selanjutnya buat pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan seterusnya dengan cara yang sama.

Selanjutnya dimasukkan 1 ml suspensi dari setiap pengenceran ke dalam cawan petri secara duplo. Cawan petri ditambah 15-20 ml PCA yang sudah didinginkan hingga temperatur $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pada masing-masing cawan yang sudah berisi suspensi. Supaya larutan contoh dan media PCA tercampur seluruhnya, maka dilakukan homogenisasi dengan memutar cawan membentuk angka delapan dan didiamkan sampai menjadi padat. Selanjutnya diinkubasi pada temperatur $34-36^{\circ}\text{C}$ selama 24-48 jam dengan posisi cawan petri terbalik. Penghitungan jumlah koloni dilakukan pada setiap pengenceran kecuali pada cawan petri yang berisi koloni menyebar (*spreader colonies*) dengan cara memilih cawan yang berisi jumlah koloni 25 sampai 250 koloni yang tumbuh di media dihitung sebagai total mikroba.

3.4.2. Uji *Coliform* (SNI 2897:2008)

Prinsip penghitungan jumlah *Coliform* adalah berdasarkan metode *Most Probable Number* (MPN) yang terdiri atas uji presumtif (penduga) dan uji konfirmasi (peneguhan) menggunakan media cair dalam tabung reaksi dan dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif. Pengamatan tabung positif dapat dilihat dengan timbulnya gas di dalam tabung *durham*.

Pengujian diawali dengan penyiapan sampel sebanyak 25 g secara aseptik kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril yang telah berisi 225 ml larutan



Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

BPW 0,1% steril, lalu dihomogenkan dengan *stomacher* selama 1-2 menit. Larutan yang terbentuk merupakan pengenceran 10^{-1} . Uji pendugaan dilakukan dengan pemindahan 1 ml larutan pengencer 10^{-1} tersebut dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml larutan BPW 1% untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Selanjutnya dengan cara yang sama dibuat pengenceran 10^{-3} . Pipet masing-masing 1 ml dari setiap pengenceran ke dalam 3 seri tabung LSTB yang berisi tabung *durham*. Selanjutnya diinkubasi pada temperatur 35°C selama 24-48 jam. Diperhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

Uji peneguhan harus selalu disertai dengan menggunakan kontrol positif. Pengujian dilakukan dengan memindahkan biakan positif dari hasil uji pendugaan positif dengan menggunakan jarum inokulasi dari setiap tabung LSTB ke dalam tabung ECB yang berisi tabung *durham*. Selanjutnya ECB diinkubasikan pada temperatur $45,5^{\circ}\text{C}$ selama 24 ± 2 jam. Perhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas. Selanjutnya gunakan tabel *Most Probable Number* (MPN) untuk menentukan nilai MPN berdasarkan jumlah tabung BGLBB yang positif sebagai jumlah *coliform* per mililiter atau per gram.

3.4.3. Uji *Eschericia coli* (SNI 2897:2008)

Prinsip pengujian *E. coli* menggunakan metode *most probable number* (MPN) dengan menggunakan seri 3 tabung. Pengujian dilakukan dengan uji pendugaan, uji peneguhan dan isolasi-identifikasi melalui uji biokimia *Indole*, *methyl red*, *voges-proskauer* dan *citrate* (iMViC). Pengujian diawali dengan



menyiapkan sampel sebanyak 25 g secara aseptik, kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril yang telah berisi 225 ml larutan BPW 0,1% steril, lalu dihomogenkan dengan *stomacher* selama 1-2 menit. Larutan yang terbentuk merupakan pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya pengujian dilakukan dengan menggunakan seri 3 tabung yaitu :

1. Uji pendugaan

Uji pendugaan dilakukan dengan memindahkan 1 ml larutan pengencer 10^{-1} tersebut dengan menggunakan pipet steril ke dalam 9 ml larutan BPW 1% untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Dengan cara yang sama dibuat pengenceran 10^{-3} . Pipet masing-masing 1 ml dari setiap pengenceran ke dalam 3 seri tabung LSTB yang berisi tabung *durham*. Inkubasi dilakukan pada temperatur 35°C selama 24-48 jam dan diperhatikan adanya gas yang terbentuk didalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

2. Uji peneguhan (konfirmasi)

Uji peneguhan harus selalu disertai dengan penggunaan kontrol positif. Pengujian dilakukan melalui pemindahan biakan positif dari hasil uji pendugaan positif dengan menggunakan jarum inokulasi dari setiap tabung LSTB ke dalam tabung ECB yang berisi tabung *durham*. Selanjutnya ECB diinkubasikan pada temperatur $45,5^{\circ}\text{C}$ selama 24 ± 2 jam dan bila hasilnya negatif inkubasikan kembali selama 48 ± 2 jam dan diperhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

3. Uji isolasi-identifikasi

Uji isolasi dan identifikasi dilakukan dengan pembuatan goresan pada media L-EMBA atau VRBA dari tabung ECB yang positif, inkubasi pada

- Hak Cipta Diindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengummumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.


Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

selama 96 jam. Hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya kekeruhan pada media. Klasifikasi *E. coli* adalah apabila reaksi iMViC dengan pola + + - - atau - + - (Tabel 3.1), membentuk gas di EC broth setelah diinkubasi selama 48±2 jam dan pada pewarnaan Gram menunjukkan Gram negatif, tidak berspora dan berbentuk bola atau kokus. Dihitung MPN untuk *E. coli* per gram contoh dengan menggunakan tabel MPN berdasarkan jumlah seri tabung yang positif pada tabung EC broth.

Tabel 3.1. Hasil Reaksi *indole, Methyl red, Voges-proskauer, citrate* (iMViC) terhadap *E. coli*

Tipe organisme	Indol	MR	VP	Citrat
<i>E. coli</i> spesifik	+	+	-	-
<i>E. coli</i> non spesifik	-	+	-	-
<i>Typical intermediate</i>	N/A	+	-	+
<i>Atypical intermediate</i>	-	+	-	+
<i>Typical Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	+
<i>Atypical Enterobacter aerogenes</i>	+	-	+	+

Sumber : SNI 2897:2008 (2008)

3.4.4. Uji *Salmonella*

Pengujian jumlah *Salmonella* sp menggunakan media menggunakan empat tahapan yaitu pra pengayaan (*pre-enrichment*), pengayaan (*enrichment*), kemudian dilanjutkan dengan uji seleksi dan uji biokimia. Tahap pra-pengayaan dilakukan dengan mempersiapkan sampel bakso bakar ditimbang sebanyak 25 g kemudian dimasukkan ke dalam wadah steril yang telah berisi 225 ml larutan LB steril, kemudian dihomogenkan dengan *stomacher* selama 1-2 menit. Suspensi

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

dipindahkan ke dalam labu *erlenmeyer* atau wadah steril kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24±2 jam.

Tahapan uji pengayaan dengan cara mengaduk perlahan biakan pra-pengayaan, kemudian diambil dan dipindahkan masing-masing 1 ml ke dalam media 10 ml TTB, 10 ml RV dan 10 ml SCB. Medium TTB, RV dan SCB diinkubasi pada temperatur 35°C selama 24±2 jam. Tahap seleksi dilakukan melalui pengambilan 1 ose dari masing-masing media pengayaan dan diinokulasikan pada media HE, XLD dan BSA, kemudian diinkubasikan pada temperatur 35°C selama 24±2 jam. Media BSA yang belum jelas dapat diinkubasi lagi selama 24±2 jam. Koloni *Salmonella* diamati pada media HE yang terlihat berwarna hijau kebiruan dengan atau tanpa titik hitam (H₂S). Pada media XLD koloni terlihat merah muda dengan atau tanpa titik mengkilat atau terlihat hampir seluruh koloni hitam, sedangkan pada media BSA koloni terlihat keabu-abuan atau kehitaman, kadang metalik, media di sekitar koloni berwarna coklat dan semakin lama waktu inkubasi akan berubah menjadi hitam. Pengamatan koloni spesifik *Salmonella* dengan hasil reaksi seperti tercantum pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Hasil Uji *Salmonella* sp pada TSA dan LIA

Media	Agar miring (Slant)	Dasar agar (bottom)	H ₂ S	Gas
TSIA	Alkalin/K (merah)	Asam/A (Kuning)	Positif (hitam)	Negatif/positif
LIA	Alkalin/K (ungu)	Alkalin/K (ungu)	Positif (hitam)	Negatif/positif

Sumber : SNI 2897:2008 (2008)

Tahapan selanjutnya dilakukan identifikasi dengan pengambilan koloni dengan menduga dari ketiga media tersebut. Inokulasi dilakukan dengan media agar miring TSIA dan LIA dengan cara menusuk ke dasar media agar, selanjutnya

digores pada masing-masing media agar miring. Inkubasi dilakukan pada temperatur 35°C selama 24±2 jam. Interpretasi hasil reaksi biokimia *Salmonella* sp ditunjukkan pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3. Reaksi Biokimia *Salmonella* sp

No	Uji Substrat	Hasil Reaksi		
		Positif	Negatif	<i>Salmonella</i>
1	Glukosa (TSI)	Tusukan kuning	Tusukan merah	+
2	<i>Lysine Dekarboksilase</i> (LIA)	Tusukan ungu	Tusukan kuning	+
3	H ₂ S (TSI dan LIA)	Hitam	Tidak hitam	+
4	Urease	Pink sampai merah	Tetap kuning	-
5	<i>Lysine Dekarboksilase Broth</i>	Warna ungu	Warna kuning	+
6	<i>Phenol Red Dulcitol Broth</i>	Warna kuning dan atau dengan gas	Tanpa berubah warna dan tanpa terbentuk gas	a)
7	KCN Broth	Ada pertumbuhan	Tidak ada pertumbuhan	-
8	<i>Malonat Broth</i>	Warna biru	Tidak berubah warna	b)
9	Uji Indol	Permukaan warna merah	Permukaan warna kuning	-
10	Uji <i>Polyvalent flagelar</i>	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	+
11	Uji <i>Polyvalent somatic</i>	Aglutinasi	Tidak aglutinasi	+
12	<i>Phenol Red Lactose Broth</i>	Warna kuning dengan/tanpa gas	Tidak terbentuk gas dan tidak berubah warna	-
13	<i>Phenol Red Sucrosa Broth</i>	Warna kuning dengan/tanpa gas	Tidak terbentuk gas dan tidak berubah warna	-
14	Uji <i>Voges-Proskauer</i>	Pink sampai merah	tidak berubah warna	-
15	Uji <i>Methyl Red</i>	Merah menyebar	warna kuning menyebar	+
16	<i>Simmon's sitrat</i>	Pertumbuhan warna biru	tidak ada pertumbuhan dan tidak ada perubahan	V

Sumber : SNI 2897:2008 (2008)

Keterangan :

a) Mayoritas dari kultur *S. arizonae* adalah negatif

b) Mayoritas dari kultur *S. arizonae* adalah negatif

V Variabel

Selanjutnya dilakukan uji biokimia untuk *Salmonella* sp dengan melakukan uji urease, uji indol, uji MR-VP dan uji sitrat. Pengujian urease negatif



ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kuning, uji VP negatif tidak terjadi perubahan warna pada media, uji MR positif adanya difusi warna merah dalam media dan uji sitrat positif adanya pertumbuhan diikuti dengan perubahan warna hijau menjadi biru.

3.5. Analisis Data

Data hasil uji laboratorium dianalisis secara statistik dengan pengujian nilai rata-rata kemudian tiap nilai pengujian dibahas secara deskriptif dan dibandingkan dengan SNI tentang cemaran mikrobiologis (TPC, *E. coli*, *Coliform* dan *Salmonella*) pada produk olahan bakso.

Hak Cipta Diindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.