

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

#### **3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian telah dilakukan pada bulan Januari 2019 hingga Februari 2019 yang bertempat di Kecamatan Tembalang, Semarang untuk pengambilan sampel dan responden serta Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro sebagai tempat untuk analisis.

#### **3.2. Materi**

Bahan yang dipakai penelitian berupa bakso sapi yang diperoleh dari para penjual sayur keliling/warung di Kecamatan Tembalang-Semarang. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu larutan jenuh asam 1,8 dihidroksinaftalen 3,6 disulfonat, aquades, larutan garam fisiologis, medium *Plate Count Agar* (PCA), formaldehid (37%), asam sulfat.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, oven, cawan porselen, pipet ukur, mortar dan penggerus, erlenmeyer, buret, labu ukur, cawan petri, tabung reaksi, autoklaf, bunsen, oven, Spektrofotometer UV-Vis, Waterbath, *Laminar Air Flow* (LAF), kuvet, mikropipet, inkubator.

### 3.3. Metode Penelitian

#### 3.3.1. Penentuan dan Pengambilan Sampel Bakso Curah dan Responden

Penelitian ini dibagi menjadi 3 tahap yaitu pengambilan sampel bakso, wawancara responden dan analisa sampel bakso curah. Parameter utama dalam penelitian ini adalah kadar formalin pada bakso curah serta pola konsumsi konsumen bakso curah sedangkan parameter pendukung meliputi kadar air, total mikroorganisme dan karakteristik fisik (warna, bau, lendir) bakso curah. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan metode survei. Teknik pengambilan sampel bakso dan responden menggunakan *accidental sampling* dengan kriteria berupa sampel bakso yang dijual curah/eceran di pedagang sayur keliling/warung dan responden adalah ibu rumah tangga di wilayah Kelurahan Tembalang yang terbagi dalam 12 kelurahan. Wawancara responden menggunakan kuesioner yang telah disiapkan yang dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

Populasi bakso curah yang dijual di pedagang sayur keliling/warung tidak diketahui sehingga merupakan populasi *infinite*. Akibat dari referensi data terkait populasi tersebut tidak ada maka penentuan besar sampel bakso dilakukan dengan mengambil sampel bakso curah tiap kelurahan yaitu 5-7 bungkus dengan 1 bungkusnya berisi rata-rata 10 butir bakso sehingga pada pelaksanaannya diperoleh sampel bakso sebesar 80 bungkus bakso curah. Sementara jumlah populasi ibu rumah tangga dihitung berdasarkan jumlah keluarga di Kecamatan Tembalang, Semarang menurut data sekunder kependudukan tahun 2016 dari BPS Kota Semarang yaitu sebesar 47.439 keluarga. Teknik pengambilan responden

menggunakan *accidental sampling* dengan perhitungan jumlah responden berdasarkan Gay dan Diehl (1992) yaitu untuk penelitian survey jumlah sampel minimum adalah 100. Oleh karena itu dalam penelitian ini responden yang diambil berjumlah 235. Wawancara responden dilakukan pada saat acara pertemuan rutin PKK di tingkat RT maupun RW dalam setiap kelurahan dimana setiap pertemuan terdapat 15-20 ibu rumah tangga.

### **3.3.2. Analisis Sampel Bakso Curah**

Sampel bakso curah diambil dari pedagang sayur keliling/warung yang tersebar di Kecamatan Tembalang yang berjumlah 12 kelurahan. Waktu pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari pukul 05.30 WIB – 09.00 WIB.

Analisis sampel bakso curah dibagi dalam 3 bagian yaitu analisis total mikroorganisme, kadar air, karakteristik fisik dan analisis formalin. Sampel bakso curah setelah selesai pengambilan sampel dari tempat penjualan langsung dilakukan analisis karakteristik fisik bakso curah berupa kekenyalan, warna, aroma khas bakso daging dan banyaknya lendir. Selang waktu sekitar 2-3 jam setelah analisis karakteristik fisik, sampel dilakukan analisis total mikroorganisme dan kadar air secara bersamaan. Terakhir, sampel bakso curah dilakukan analisis formalin secara kualitatif dan kuantitatif. Sampel bakso untuk pengujian analisis total mikroorganisme dan analisis formalin disimpan dalam lemari pendingin suhu  $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Adapun prosedur setiap analisis dilakukan sebagai berikut:

**a. Analisis karakteristik fisik**

Analisis karakteristik fisik bakso curah berupa warna, aroma khas bakso daging, kekenyalan dan banyaknya lendir. Analisis ini merupakan analisis sensoris menggunakan skor 1-5 sebagai penilaian tingkat mutu bakso dimana semakin besar angka maka intensitas dari masing masing parameter semakin besar pula. Adapun keterangan penilaian dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Skor Penilaian Tingkat Mutu Bakso Curah

Warna	Aroma khas bakso	Lendir	Kekenyalan
1: Pucat	1: Lemah	1: Kesat	1: Rapuh
2: Agak Pucat	2: Agak lemah	2: Agak kesat	2: Agak rapuh
3: Normal	3: Normal	3: Normal	3: Kenyal
4: Abu-abu	4: Agak kuat	4: Agak lengket	4: Agak keras
5: Abu-abu Gelap	5: Kuat	5: Lengket	5: Keras

**b. Analisis total mikroorganisme**

Metode pengujian total mikroorganisme menggunakan *Total Plate Count* (TPC) (SNI 2897: 2008). Sampel bakso curah dihaluskan lalu ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dimasukkan ke dalam 45 ml larutan garam fisiologis 0,85% untuk memperoleh pengenceran  $10^{-1}$ . Sampel yang tidak langsung dianalisa disimpan pada lemari pendingin suhu  $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Proses pengujian dilakukan dengan cara sebanyak 1 ml suspensi pengenceran  $10^{-1}$  dipindahkan dengan mikropipet ke dalam 9 ml larutan garam fisiologis 0.85% untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-2}$ . Pengenceran dilakukan hingga tingkat pengenceran  $10^{-6}$ . *Plate Count Agar* (PCA) sebanyak 15-20 ml yang telah disterilkan dan diturunkan suhunya sekitar  $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  (hangat-hangat kuku) lalu di tuang ke dalam cawan petri steril yang sudah berisi 1 ml suspensi  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  secara duplo. Cawan

yang telah berisi larutan sampel dan media PCA diputar ke depan dan belakang membentuk angka delapan dan kemudian didiamkan sampai padat. Kondisi pengenceran dan pencawanan tersebut dilakukan dalam proses yang steril. Cawan-cawan tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 34 °C selama 24 jam dengan posisi cawan terbalik. Perhitungan jumlah koloni dilakukan pada setiap seri pengenceran. Cawan yang dipilih yaitu cawan yang mempunyai jumlah koloni 25 sampai 250. Perhitungan jumlah koloni dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{TPC (Koloni/ml)} = \text{Jumlah Koloni per cawan} \times (1/\text{faktor pengenceran})$$

### c. Analisis kadar air

Analisis kadar air pada bakso curah menggunakan metode pengeringan dengan oven (*Thermogravimetri*) oleh Legowo *et al.* (2005). Prosedur dan perhitungan kadar air dengan metode pengeringan oven adalah pertama, cawan porselin yang telah diberi kode sesuai kode sampel dipanaskan dalam oven dengan suhu 100 °C selama 1 jam. Setelah 1 jam, cawan porselin diambil dan dimasukkan dalam desikator 15 menit, kemudian cawan porselin ditimbang. Sampel sebanyak ±2 gram ditimbang dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya. Kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 100°C selama 4 jam, setelah di oven sampel ditimbang hingga tercapai bobot konstan, jika belum konstan sampel dimasukkan ke dalam oven lagi selama 1 jam, dimasukkan desikator, kemudian lakukan penimbangan hingga tercapai bobot konstan. Bobot dianggap konstan apabila selisih penimbangan tidak melebihi 0,2 mg. Setelah didapatkan bobot konstan kemudian kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Air: } \frac{(\text{BC} + \text{BS}) - (\text{BC} + \text{BS setelah dioven})}{\text{BS}} \times 100 \%$$

Keterangan:

BC : Berat Cawan

BS : Berat Sampel

#### **d. Analisis Formalin**

Analisis formalin bakso curah dilakukan dalam 2 tahap yaitu pengujian kualitatif lalu hasil yang positif kemudian diuji kuantitatif dengan Spektrofotometri UV-Vis. Pengujian formalin bakso curah diawali dengan mempersiapkan sampel (Suryadi *et al.*, 2010) dan pembuatan pereaksi asam kromatofat (AOAC 931.08, 2003). Persiapan sampel dilakukan untuk membuat filtrat sampel bakso curah. Sampel bakso sebanyak 5 gram yang telah halus ditambahkan aquades sebanyak 50 ml. Sampel dipanaskan selama 1 jam pada suhu  $95\pm 2^{\circ}\text{C}$  sambil dikocok selama 1 menit setiap 5 menit. Setelah dingin lalu disaring ke dalam labu ukur 100 ml kemudian volume dicukupkan hingga tanda batas. Larutan standar asam kromatofat atau 1,8 dihydroxynapthalene 3,6 disulfuric acid 0,5% (w/v) sebagai indikator pengujian dibuat dengan cara menimbang 500 mg larutan tersebut lalu ditambahkan 100 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  72% ( 150 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ke dalam 100 ml aquades ) ke dalam labu takar.

Analisis kualitatif formalin kemudian dilanjutkan dengan mengambil filtrat sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 5 ml pereaksi asam kromatofat kemudian dikocok selama 5 detik. Setelah itu larutan tersebut dipanaskan pada suhu  $95^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Sampel kemudian diamati perubahan warnanya. Sampel yang berwarna cenderung ungu hingga merah keunguan berarti positif mengandung formalin. Data mengenai kandungan formalin secara analisis kualitatif dan kuantitatif dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

Sampel yang positif mengandung formalin kemudian diuji secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pengujian kuantitatif formalin menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan dengan membuat larutan induk formalin 1000 ppm, blanko dan larutan standar formalin 2 ppm; 4 ppm; 6 ppm; 8 ppm dan 10 ppm, pembuatan kurva kalibrasi kemudian pengujian kadar formalin pada sampel bakso curah. Larutan induk formalin 1000 ppm sebanyak 100 ml dibuat dengan cara mencampurkan larutan formalin 37% p.a sebanyak 0,27 ml yang diencerkan dalam labu takar 100 ml dengan aquades sampai tanda batas lalu dikocok hingga homogen. Larutan standar dibuat dari larutan induk formalin 1000 ppm. Pengambilan larutan formalin 1000 ppm mengikuti komposisi pada Tabel 3. kemudian dimasukkan pada labu ukur 10 ml dan ditambahkan aquades hingga tanda batas kemudian dikocok hingga homogen.

Tabel 3. Volume pengambilan larutan formalin 1000 ppm

Konsentrasi larutan standar formalin (ppm)	Volume larutan formalin 1000 ppm yang diambil (ml)
0	0
2	0.02
4	0.04
6	0.06
8	0.08
10	0.1

Larutan standar digunakan untuk membuat kurva kalibrasi yang berguna saat menentukan konsentrasi formalin. Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan cara larutan standar tiap konsentrasi (0, 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm) diambil 1 ml ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 ml pereaksi asam kromatofat lalu dihomogenkan kemudian dipanaskan pada suhu 95°C selama 15 menit (Male *et al.*, 2017). Setelah dingin ditambahkan aquades hingga tanda batas lalu dikocok

hingga homogen. Setelah itu, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 480 nm. Kemudian dibuat kurva hubungan absorbansi dan konsentrasi larutan hingga diperoleh persamaan linear  $y=ax+b$  dari koefisien korelasi (  $r$  ) pada persamaan garis linearnya. Pembuatan larutan standar pada penelitian ini dilakukan setiap kali pengujian di waktu yang berbeda yaitu sebanyak 3 kali pengujian.

Kadar formalin pada sampel kemudian diuji dengan cara mengambil filtrat sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 5 ml pereaksi asam kromatofat kemudian dikocok selama 5 detik. Setelah itu larutan tersebut dipanaskan pada suhu  $95^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Setelah dibiarkan dingin selama 15 menit, larutan tersebut kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 480 nm. Absorbansi yang diperoleh dari tiap sampel kemudian digunakan untuk menghitung kadar formalin menggunakan persamaan regresi yang diperoleh sebelumnya.

### **3.3.3. Analisis Pola Konsumsi Konsumen Bakso Curah**

Wawancara pola konsumsi konsumen bakso curah dilakukan kepada ibu rumah tangga di Kecamatan Tembalang dari 12 kelurahan. Wawancara dilakukan pada acara PKK di tingkat RT ataupun RW menggunakan kuesioner yang telah disiapkan yang dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

### **3.5. Analisis Data**

Data yang diperoleh dari hasil kuesioner kemudian ditabulasi dan diolah dengan bantuan aplikasi Microsoft Excel. Data hasil analisis sampel bakso



dihitung nilai minimal, maksimal dan rata-rata dari total sampel bakso curah. Sementara itu, data pola konsumsi ditabulasi dan ditampilkan dalam bentuk frekuensi dan *pie chart* lalu dibahas secara deskriptif.