

### III. BAHAN DAN METODE

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan bulan April tahun 2015 di Pasar Central Kota Medan dan Laboratorium Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan yaitu neraca digital, tabung reaksi, tabung inokulum, objek gelas, ose cincin, ose jarum, cawan petri, blender, *Vortex*, inkubator, *autoclave*, rak tabung, pisau, tip steril, plastik klip steril, lampu Bunsen, *micropipet* 100µl, *tissue*, *cooler box*, mikroskop dan alat dokumentasi.

##### 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan yaitu daging sapi, *Mac-Conkey Agar*, *Blood Agar*, *Mantol Salt Agar* (MSA), *Eousin Methilen Blue* (EMB), *emersi oil*, *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dan media reaksi biokimia (RBK) yang terdiri atas : *glucose*, *lactose*, *maltose*, *manithol*, *sacrose*, *indol*, *metil red*, *voges poskouer*, *simon sitrat*, *urease*, *solid* dan TSI (*triple sugar iron*).

#### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara deskriptif yaitu mengidentifikasi jenis-jenis bakteri yang terdapat pada sampel daging sapi yang diambil dari pasar Central Kota Medan. Sebagai pembanding digunakan sampel daging sapi yang dijual di pasar moderen yaitu Swalayan Berastagi Kota Medan. Parameter yang diamati adalah jenis-jenis bakteri yang tumbuh selama masa inkubasi.

### **3.4 Prosedur Kerja**

#### **3.4.1 Preparasi Alat Dan Bahan**

Semua alat-alat yang akan digunakan terlebih dahulu dilakukan sterilisasi menggunakan autoclave dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit. Alat yang telah disterilkan digunakan untuk pengujian cemaran mikrobiologis pada daging sapi.

#### **3.4.2 Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging sapi yang dijual di Pasar Central dan Swalayan Brastagi Kota Medan. Sampel diambil sebanyak 100 gram dari masing-masing tempat penjual daging, sampel dimasukkan kedalam plastik klip steril kemudian dimasukkan kedalam *cooler box* untuk mencegah kontaminasi dalam perjalanan menuju Laboratorium Mikrobiologi FK USU.

#### **3.4.3 Penanaman Sampel**

Sampel diambil sebanyak 25 gram, masing-masing sampel diblender dengan campuran *Phosphate Buffer Saline (PBS)* sebanyak 225 ml hingga menjadi suspensi. Kemudian sampel ditanam dengan mengambil suspensi menggunakan ose cincin kemudian ditanam pada media *Mac-Conkey Agar* dan media *Blood Agar*. Penanaman sampel dilakukan dengan metode strik empat kuadran. Media yang sudah ditanam sampel kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37<sup>0</sup>C selama 1 x 24 jam. Jika terdapat pertumbuhan koloni mikroba maka dilakukan pewarnaan gram untuk melihat bentuk bakteri secara mikroskopis.

#### **3.4.4 Pewarnaan Gram**

Pewarnaan gram dilakukan dengan mengambil 1 koloni murni dan membuat sediaan diatas objek glass, kemudian difiksasi diatas api bunsen. Sediaan diletakkan pada rak pewarnaan dan ditetesi dengan larutan gentian violet lalu didiamkan selama 1-5 menit. Selanjutnya sediaan dicuci dengan air mengalir dan ditetesi dengan larutan lugol selama 1 menit. Kemudian sediaan dilunturkan dengan aceton-alkohol 30 detik dan dicuci dengan air mengalir, ditetesi dengan fuchsin air yang dibiarkan hingga 30 detik. Kemudian dibilas dengan air dan dikeringkan pada suhu ruangan. Sediaan diamati dibawah mikroskop dengan lensa pembesaran 10x dan 100x dengan menambahkan 1 tetes emersi oil. Pewarnaan dilakukan untuk melihat golongan bakteri gram negatif dan gram positif.

#### **3.4.5 Identifikasi**

Identifikasi dilakukan dengan menanam koloni murni pada media selektif untuk gram positif dan gram negatif berdasarkan hasil dari pewarnaan gram. Bakteri gram positif disubkultur pada Media *Mantol Salt Agar* (MSA). Sedangkan bakteri gram positif disubkultur pada media *Eousin Methilen Blue* (EMB). Identifikasi lanjutan untuk bakteri gram negatif yaitu dengan membuat reaksi biokimia (RBK) yang bertujuan untuk menentukan spesies bakteri gram negatif.

#### **3.5 Penyajian Data**

Data yang diperoleh dari penelitian adalah jenis-jenis bakteri yang mencemari daging sapi yang dijual di Pasar Central dan Pasar Moderen Kota Medan sebagai pembanding. Hasil disajikan dalam bentuk tabel yang menggambarkan jenis-jenis bakteri yang mencemari daging sapi.