

BAB 3

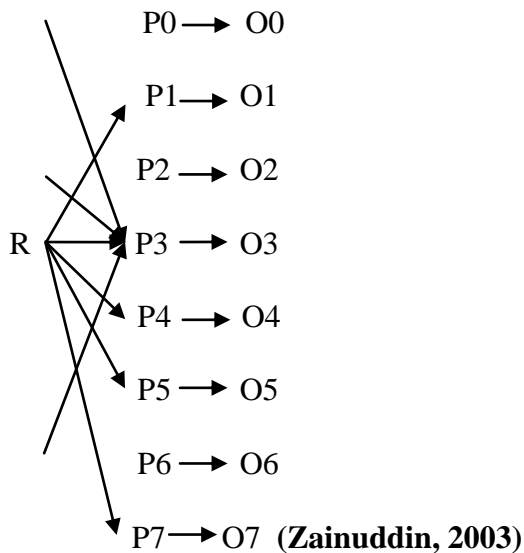
METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan *Aspergillus* sp pada berbagai lama penyimpanan petis ikan. Dengan rancangan penelitian sebagai berikut:

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian adalah sebagai berikut :



Keterangan :

R : Random

P0 : Perlakuan sampel selama penyimpanan 0 hari

P1 : Perlakuan sampel selama penyimpanan 1 hari

P2 : Perlakuan sampel selama penyimpanan 2 hari

P3 : Perlakuan sampel selama penyimpanan 3 hari

P4 : Perlakuan sampel selama penyimpanan 4 hari

P5 : Perlakuan sampel selama penyimpanan 5 hari

P6 : Perlakuan sampel selama penyimpanan 6 hari

P7 : Perlakuan sampel selama penyimpanan 7 hari

O0: Perlakuan sampel setelah penyimpanan 0 hari

O1: Perlakuan sampel setelah penyimpanan 1 hari

O2: Perlakuan sampel setelah penyimpanan 2 hari

O3: Perlakuan sampel setelah penyimpanan 3 hari

O4: Perlakuan sampel setelah penyimpanan 4 hari

O5: Perlakuan sampel setelah penyimpanan 5 hari

O6: Perlakuan sampel setelah penyimpanan 6 hari

O7: Perlakuan sampel setelah penyimpanan 7 hari

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi penelitian

Populasi adalah petis yang dibeli di pasar Sri Mangunan Kabupaten Sampang yang dijual dalam keadaan terbuka. Petis yang digunakan adalah petis ikan tenggiri (*Scomberomorus commersonii*).

3.3.2 Sampel penelitian

Sampel pada penelitian ini yaitu mengamati pertumbuhan *Aspergillus* sp. Jumlah sampel masing- masing kelompok yaitu ≥ 5 yang ditentukan dengan rumus berikut (Hidayat, 2010) :

$$(r-1) (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) (8-1) \geq 15$$

$$(n-1) (7) \geq 15$$

$$7r - 7 \geq 15$$

$$7r \geq 15 + 7$$

$$7r \geq 22$$

$$r \geq 22/7$$

$$r \sim 3$$

Keterangan:

r : Jumlah ulangan atau jumlah sampel

t : Jumlah kelompok atau perlakuan

3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2013 sampai Juli 2014. Sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Prodi D3 Analisis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.5 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.5.1 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini, yaitu:

Variabel bebas : Lama penyimpanan petis ikan tenggiri

Variabel terikat : Pertumbuhan *Aspergillus* sp

Variabel kontrol : Lama inkubasi, suhu, sterilisasi

3.5.2 Definisi Operasional

Lama Penyimpanan :

1. Perlakuan 0 hari yaitu mulai dari membuka petis diperiksa dibawah mikroskop dan penanaman pada media SDA
2. Perlakuan 1 hari yaitu pengamatan pada media SDA setelah inkubasi 24 jam dan pengamatan di mikroskop

3. Perlakuan 2 hari yaitu pengamatan pada media SDA setelah inkubasi 2 hari dan pengamatan di mikroskop
4. Perlakuan 3 hari yaitu pengamatan pada media SDA setelah inkubasi 3 hari dan pengamatan di mikroskop
5. Perlakuan 4 hari yaitu pengamatan pada media SDA setelah inkubasi 4 hari dan pengamatan di mikroskop
6. Perlakuan 5 hari yaitu pengamatan pada media SDA setelah inkubasi 5 hari dan pengamatan di mikroskop
7. Perlakuan 6 hari yaitu pengamatan pada media SDA setelah inkubasi 6 hari dan pengamatan di mikroskop
8. Perlakuan 7 hari yaitu pengamatan pada media SDA setelah inkubasi 7 hari dan pengamatan di mikroskop.

Dalam penelitian ini variabel terikat adalah pertumbuhan jamur *Aspergillus* sp yang ditemukan pada Petis ikan tenggiri (*Scomberomorus commersonii*) yang ditetapkan berdasarkan hasil pemeriksaan dengan cara mengkulturkan atau membiakkan dengan media *Saburound Distrugse Agar* (SDA). Pertumbuhan *Aspergillus* sp ini dikategorikan menjadi:

(+) : Bila terdapat bagian tubuh jamur *Aspergillus* sp pada petis

(-) : Bila tidak terdapat bagian tubuh *Aspergillus* sp pada petis

3.6 Metode Pengumpulan Data

Data pertumbuhan *Aspergillus* sp dikumpulkan dengan cara observasi atau pengamatan melalui pengujian Laboratorium. Langkah-langkah pemeriksaan diantaranya sebagai berikut:

3.6.1 Persiapan pemeriksaan

3.6.1.1 Sterilisasi alat dan bahan

1. Mengisi bagian dasar autoclave dengan aquades
2. Menutup sekat yang berlubang – lubang antara bagian dasar dan bagian atas autoclave
3. Masukkan alat dan bahan yang akan disteril
4. Menutup autoclave dengan seksama dan berlawanan
5. Membuka katup udara agar uap air keluar pada saat pemanasan
6. Apabila suhu mencapai 10°C tutup katup udara untuk meningkatkan tekanan uap air dalam autoclave
7. Perhatikan kenaikan suhu. Sterilisasi dipertahankan 15 menit setelah setelah suhu atau tekanan uap turun
8. Membuka tutup autoclave dengan hati-hati
9. Mengeluarkan alat dan bahan yang telah disterilasi (Soemarno, 2005).

3.6.1.2 Pembuatan media *Saboround Dextrose Agar (SDA)*

Alat yang digunakan adalah gelas arloji, erlenmeyer 500 ml, pengaduk, pipet ukur 1 ml, neraca analitik, hot plate, petridisk, gelas ukur 500 ml, PH untuk media, pipet pastur.

Prosedur :

1. Menimbang semua bahan dan masukkan ke dalam erlenmeyer.
2. Melarutkan bahan-bahan tersebut dengan 1000 ml aquades ke dalam erlenmeyer.
3. Memanaskan sampai larut sempurna hingga mendidih
4. Menutup erlenmeyer dengan kasa, dan bungkus erlenmeyer dengan kertas koran dan ikat dengan tali.

5. Mensterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit
6. Setelah disterilisasi tambahkan dengan larutan chloramphenicol 0,26 ml secara steril ke dalam media(larutan Chloramphenicol steril : 250mg chloramphenicol ditambah 10 ml PZ steril). Melakukan penambahan larutan chloramphenicol ke dalam media sebelum media padat.
7. Menuangkan media pada cawan petri steril. Melakukan semua tahapan diatas secara steril (BBLK 1993).

3.6.2 Persiapan sampel

Alat yang digunakan adalah timbangan, pengaduk/sendok, wadah plastik. Bahan yang digunakan adalah KOH 10%

Prosedur persiapan sampel :

1. Membeli petis yang dijual dipasar Sri mangunan kab. Sampang sebanyak 500gram.
2. Menimbang petis dan dibagi ke 24 wadah palstik yaitu tiap wadah berisi 20 gram petis.
3. Memberi label pada masing-masing wadah plastik, yaitu dengan kode sampel P0.1, P0.2, P0.3, P1.1, P1.2, P1.3, P2.1, P2.2, P2.3, P3.1, P3.2 P3.3, P4.1, P4.2, P4.3, P5.1, P5.2, P5.3, P6.1, P6.2, P6.3, P7.1, P7.2, P7.3
4. Setelah itu petis dibawa ke laboratorium untuk diperlakukan, yaitu:
 - a. Kode sampel P0.1, P0.2, P0.3 tanpa perlakuan
 - b. Kode sampel P1.1, P2.2, P1.3 dengan penyimpanan 1 hari
 - c. Kode sampel P2.1, P2.2, P2.3 dengan penyimpanan 2 hari
 - d. Kode sampel P3.1, P3.2, P3.3 dengan penyimpanan 3 hari
 - e. Kode sampel P4.1, P4.2, P4.3 dengan penyimpanan 4 hari

- f. Kode sampel P5.1, P5.2, P5.3 dengan penyimpanan 5 hari
- g. Kode sampel P6.1, P6.2, P6.3 dengan penyimpanan 6 hari
- h. Kode sampel P7.1, P7.2, P7.3 dengan penyimpanan 7 hari

3.6.3 Pemeriksaan jamur *Aspergillus sp*

Alat yang digunakan adalah : Mikroskop, pisau, pinset, pengait, tabung reaksi, rak tabung, pengaduk, pipet pastur, objek glass, cover glass, api spirtus. Bahan yang digunakan adalah media *Saboround Dextrose Agar* (SDA), petis. Reagen yang digunakan adalah aquades steril, larutan *Lactophenol Cotton Blue* (LCB).

1. Pemeriksaan secara makroskopis

Sampeldiambil dari wadah plastik kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi. Masing-masing sampel diencerkan pada tabung reaksi yang berisi sampel 5 gram petis diisi dengan aquades steril 10 ml sambil diaduk kemudian ditanam pada media SDA, diinkubasi pada suhu ruang selama 1 sampai 7 hari selama 24 jam. Pertumbuhan koloni berbentuk granular, berwarna kuning, kuning-hijau, kuning-cokelat atau hitam.

2. Pemeriksaan secara mikroskopis

Menyiapkan alat dan bahan, Nyalakan api spirtus, ambil reagen LCB 1 tetes letakkan di atas objek glass yang bersih dan beebas lemak, koloni jamur diambil dengan pasau dan pengait, letakkan jamur di objek glass yang sudah ada reagen LCB tadi dan campur dengan rata, dan tutup dengan cover glass Lalu difiksasi dengan api bunsen supaya jamur tersebut melekat pada cover glass. Selanjutnya dilihat di mikroskop dengan pembesaran 45x (Pohan, 2007).

3.6.4 Tabulasi Data

Data yang diperoleh ditabulasikan sebagai berikut :

Tabel 3.1 Contoh tabulasi data

NO	Lama Penyimpanan							
	P0 (+/-)	P1 (+/-)	P2 (+/-)	P3 (+/-)	P4 (+/-)	P5 (+/-)	P6 (+/-)	P7 (+/-)
1								
2								
3								

Keterangan : (+) jika terdapat bagian tubuh jamur *Aspergillus* sp

(-) jika tidak terdapat bagian tubuh jamur *Aspergillus* sp

3.7 Metode Analisis data

Data yang diperoleh dari uji laboratorium kemudian ditabulasi selanjutnya data diuji menggunakan uji chi – square dengan tingkat kesalahan 5 % (0,05).