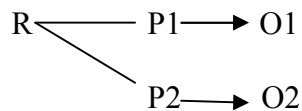


BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan rancangan penelitian eksperimental laboratorium dengan tujuan untuk mengetahui perbandingan pertumbuhan *Aspegillus sp.* pada bumbu pecel siap saji yang disimpan pada suhu ruang dan suhu lemari es. Dengan rancangan penelitian sebagai berikut :



Gambar 3.1: Rancangan Penelitian (Alimul, 2011)

Keterangan :

R : Random

P1 : Perlakuan pada suhu ruang

P2 : Perlakuan pada suhu lemari es

O1 : Observasi setelah perlakuan pada suhu ruang

O2 : Observasi setelah perlakuan pada suhu lemari es

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

Bumbu pecel produksi home industri yang dijual di pasar tradisional

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah bumbu pecel yang di beli dari pasar Karang Menjangan daerah Surabaya, dalam penelitian ini terdapat 2 kriteria perlakuan dan setiap perlakuan mendapat pengulangan sebanyak 16 kali pengulangan hal ini berdasarkan rumus jumlah sampel :

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

$$(r-1) (2-1) \geq 15$$

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

$$r-1 \geq 15/1$$

$$r-1 \geq 15$$

$$r \geq 15 + 1$$

$$r \geq 16 \quad (\text{Alimul, 2011})$$

Keterangan :

r = Replikasi atau pengulangan

t = Perlakuan

Berdasarkan rumus diatas dimana untuk menentukan jumlah replikasi dari banyaknya perlakuan, maka jumlah sampel keseluruhan yang dipergunakan dalam penelitian adalah 32 sampel dari 2 perlakuan dengan setiap perlakuan mendapat 16 kali pengulangan.

3.3 Lokasi dan Waktu penelitian

3.3.1 Lokasi penelitian

Pengambilan sampel bumbu pecel dilakukan di pasar Karang Menjangan daerah Surabaya. Sedangkan untuk pemeriksaan sampel dilakukan di

Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.3.2 Waktu pemeriksaan

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan bulan Juli 2014, sedangkan Waktu pemeriksaan dilaksanakan pada bulan Mei 2014.

3.4. Variabel dan Definisi operasional

3.4.1 Variabel penelitian

Variabel bebas	: Suhu ruang dan suhu lemari es.
Variabel terikat	: Pertumbuhan <i>Aspergillus sp.</i>
Variabel kontrol	: Lama inkubasi, suhu, tempat penyimpanan, lama penyimpanan, sterilisasi.

3.4.2 Definisi operasional

1. Suhu ruang adalah suhu pada ruangan kerja atau kamar yang berkisar antara 25-30° C. Suhu lemari es adalah suhu yang tidak lebih dari 8° C.
2. Pertumbuhan *Aspergillus sp.* yang dimaksud dalam penelitian ini adalah jamur *Aspergillus* yang ditetapkan berdasarkan hasil pemeriksaan dengan cara menkulturkan dengan media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) yang dikategorikan :
Positif, (+) : terkontaminasi jamur apabila hasil laboratorium ditemukan pertumbuhan jamur.
Negatif, (-) : tidak terkontaminasi apabila hasil laboratorium tidak ditemukan pertumbuhan jamur.

3.5. Metode Pengumpulan Data

Data pertumbuhan jamur *Aspergillus sp.* diperoleh dengan cara observasi tidak langsung, yaitu dengan melalui uji Laboratorium. Langkah- langkah pengujian sebagai berikut :

3.5.1 Prinsip Pemeriksaan

Bumbu pecel diencerkan dengan aquadest, kemudian ditanamkan pada media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) untuk memeriksa ada tidaknya jamur pada sampel. Dan dilanjutkan dengan melihat jamur dibawah mikroskop dengan pembesaran lensa obyektif 10x, dan dilanjutkan dengan pembesaran lensa obyektif 40x.

3.5.2 Persiapan Pemeriksaan

3.5.2.1 Cara Sterilisasi alat dan bahan

1. Mengisi bagian dasar Autoklaf dengan aquadest (ingat jangan air biasa), hingga batas tertentu.
2. Menutup sekat yang berlubang-lubang antara bagian dasar dan bagian atas Autoklaf.
3. Memasukkan alat dan bahan-bahan yang akan disterilkan.
4. Menutup Autoklaf dengan seksama dan serapih mungkin, dengan cara berlawanan.
5. Membuka katup udara agar uap air dapat mengusir udara yang ada dalam Autoklaf pada saat pemanasan.
6. Apabila suhu telah mencapai 10°C tutuplah katup udara untuk meningkatkan tekanan uap di dalam Autoklaf.

7. Perhatikan kenaikan suhu atau tekanan uap apabila telah mencapai 121°C atau tekanan 1,1 kg/ cm². Sterilisasi dipertahankan 15 menit setelah suhu atau tekanan uap mencapai batas tertentu.
8. Membuka katup Autoklaf dengan cara buka tutup hingga tekanan uap turun.
9. Membuka tutup Autoklaf dengan hati-hati.
10. Mengeluarkan alat dan bahan-bahan yang telah disterilisasi (Novel dkk, 2010).

3.5.2.2 Pembuatan Media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA)

1. Alat yang digunakan adalah Gelas Arloji, Erlenmeyer 500 ml, Batang pengaduk, Pipet ukur 1ml, Neraca analitik, Hot plate, Petri disk, Gelas ukur 500ml, PH media, Pipet tetes.
2. Bahan yang digunakan adalah Media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) yang terdiri dari :
 - a. Pepton 10 gram
 - b. Glukosa 40 gram
 - c. Bacto Agar 18 gram
 - d. Aquadest 1000ml (Soewarsono, 1996)
3. Prosedur :
 1. Menimbang semua bahan dan masukkan ke dalam erlenmeyer.
 2. Melarutkan bahan-bahan tersebut dengan 1000 ml aquadest ke dalam erlenmeyer.

3. Memanaskan sampai larut sempurna (mendidihkan kira-kira 1 sampai 3 menit).
4. Menutup erlenmeyer dengan kapas berlemak yang diselimuti dengan kain kasa, dan bungkus mulut erlenmeyer dengan kertas koran dan ikat dengan tali.
5. Mensterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
6. Setelah selesai disterilisasi tambahkan dengan larutan chlorampenicol 2 ml secara steril ke dalam media larutan tadi (larutan Chlorampenicol steril : 250mg chlorampenicol ditambah 10 ml PZ steril). Melakukan penambahan larutan chlorampenicol ke dalam media sebelum media memadat.
7. Setelah itu menuangkan media pada cawan petri steril. Melakukan semua tahapan di atas secara steril.

3.5.3 Alat atau Instrumen Pemeriksaan

1. Pisau
2. Pengait
3. Pinset
4. Object Glass
5. Cover Glass
6. Api Spirtus
7. Mikroskop

3.5.4 Bahan Pemeriksaan

1. Media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA)
2. Bumbu Pecel

3. Aquadest

3.5.5 Reagen Pemeriksaan

- *Lactophenol Cotton Blue* (LCB)

3.5.6 Prosedur Pengambilan Sampel

1. Diambil sampel yang disimpan di dalam lemari es dan diambil sampel yang disimpan pada suhu ruang, dilakukan 7 hari dari pertama kali penyimpanan.
2. Kemudian diencerkan masing-masing sampel bumbu pecel \pm 10 gram dalam 20 ml aquadest steril, lalu homogenkan.
3. Ditanam pada media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) menggunakan pipet, kemudian diratakan pada permukaan media dengan menggunakan ose.
4. Kemudian inkubasi dalam suhu 37° C selama 3x24 jam.

3.5.7 Prosedur Pemeriksaan Sampel

1. Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
2. Dinyalakan api spirtus.
3. Ambil reagen *Lactophenol Cotton Blue* (LCB) 1 tetes letakkan diatas object glass.
4. Koloni jamur pada media SDA diambil dengan pisau dan pengait.
5. Letakkan jamur di object glass dan campur dengan LCB sampai jamur tergenangi reagen semua, lalu tutup dengan cover glass.
6. Panaskan object glass di atas api perlahan sampai muncul gelembung sedikit (jangan sampai kering), gunakan pinset sebagai penjepit.
7. Tunggu agak dingin atau bisa juga langsung diamati dibawah mikroskop pembesaran lensa obyektif 10x dan dilanjutkan dengan pembesaran obyektif 40x.

3.6 Tabulasi Data

Data hasil pengujian Laboratorium ditabulasikan kedalam tabel yang tersaji seperti berikut ini :

Tabel 3.1 Data hasil pemeriksaan dan pertumbuhan jamur *Aspergillus sp.* pada Bumbu pecel yang disimpan pada suhu ruang dan suhu lemari es

No sampel	Pertumbuhan jamur <i>Aspergillus sp.</i>	
	Suhu Ruang	Suhu Lemari Es
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
Dst		
16		
Jumlah		

3.7 Metode Analisis Data

Data yang diperoleh diuji menggunakan uji chi – square dengan tingkat kesalahan 5% (0,05).