

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat deskriptif, dengan menggunakan variabel penelitian yaitu jamur *Aspergillus sp* dan roti tawar sebelum dan sesudah masa kadaluarsa di pasar tradisional Kota Bandar Lampung.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel roti tawar dilakukan di pasar tradisional Pasar Tugu dan Pasar Koga Kota Bandar Lampung. Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Mikologi Jurusan Analisis Kesehatan Politeknik Kesehatan Tangjungkarang pada bulan April-Juni 2021.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh roti tawar yang dijual di pasar tradisional Kota Bandar Lampung yaitu Pasar Tugu dan Pasar Koga.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah roti tawar dari 5 merek berbeda yang diperoleh dari 4 toko. Jumlah sampel sebanyak 10 terdiri dari 5 sampel roti tawar sebelum kadaluarsa dan 5 sampel roti tawar sesudah kadaluarsa.

D. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian.

No	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Roti tawar	Roti tawar yang dijual di Pasar Tugu dan Pasar Koga Kota Bandar Lampung.	Observasi.	Checklist.	1) Roti tawar sebelum dan 2) Sesudah kadaluarsa.	Ordinal
2	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i> Jamur dengan ciri makroskopis koloni bulat seperti ragi, memiliki konidia dan membentuk spora. Warna koloni putih, kuning, coklat, hijau, sampai coklat hitam. Dengan ciri mikroskopis hifa bersekat dan bercabang, konidiofor.	Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis	1. Media Potato Dextrose Agar (PDA) 2. Pewarna Lactopenol Cotton Blue (LBC) 3. Mikroskop	1) <i>Aspergillus flavus</i> 2) <i>Aspergillus niger</i> 3) <i>Aspergillus fumigatus</i>	Nominal

E. Pengumpulan Data

Data dikumpulkan melalui survei terhadap roti tawar yang dijual di pasar tradisional Kota Bandar Lampung, proses pengambilan data sebagai berikut:

1. Cara kerja pengambilan sampel
 - a. Peneliti terlebih dahulu mengajukan surat izin penelitian ke Direktur Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.
 - b. Peneliti mengajukan surat izin peneliti ke Badan Kesatuan Bangsa dan Politik.
 - c. Peneliti melakukan pendekatan dengan penjual roti tawar di pasar tradisional Kota Bandar Lampung.
 - d. Peneliti melakukan maksud dan tujuan pengambilan sampel kepada penjual roti tawar di pasar tradisional pasar Tugu dan pasar Koga Kota Bandar Lampung dengan uji organoleptis seperti warna, bau, rasa, dan tekstur.
 - f. Peneliti melakukan pengambilan sampel sebanyak 10 sampel roti tawar yang terdiri 5 sampel roti tawar sebelum kadaluarsa dan 5 sesudah kadaluarsa. Pemeriksaan berupa roti dengan cara membeli roti

tawar yang diperoleh dari 4 penjual roti tawar yang berjualan di pasar Tugu dan pasar Koga Kota Bandar Lampung. Masing-masing sampel diberi nama atau kode sampel, tanggal, waktu pembelian, lalu dimasukkan kedalam box penyimpanan. Kemudian sampel dibawa ke Laboratorium Mikologi Jurusan Analis Kesehatan untuk segera dilakukan pemeriksaan.

- g. Sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan.
- h. Hasil pemeriksaan ditarik kesimpulan .
- i. Penelitian dilakukan selama 7 hari.

2. Persiapan Alat dan Bahan

- a. Pipet tetes, erlemeyer 250 ml, Cawan petri, Rak Tabung, alkohol Lampu bunsen, Kaca Objek, Penutup Kaca , Autoklaf, Inkubator, Oven, Pipet Tetes Steril, Mikroskop, Ose Cincin, Korek Api, Label, Selotip, kapas Alumunium foil.
- b. Semua alat - alat dan pinset digunakan dicuci bersih dan dikeringkan lalu Masing - masing dibungkus dengan kertas kopi, kemudian sterilkan dalam oven suhu 160 C selama 1 jam (Soemarno, 2000).
- c. Bahan: Media *Sabouraud Dextrose Agar*(SDA), *Lactopenol Cotoon Blue* (LCB), Alkohol 70%, Aquades.

3. Pembuatan Media

1) Pembuatan Media *Sabouraud Dextrose Agar*

- a. Menimbang media SDA Dehidrate sebanyak 26 gram.
- b. Melarutkan SDA Dehidrate dalam 400 ml aquades.
- c. Memanaskan diatas hotplate sampai larut sempurna.
- d. Menyeterilkan di autoclave 121°C 1 atm selama 15 menit.
- e. Biarkan dingin sampai suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$, disiapkan antibiotik *kloramphenikol* 250 mg lalu ditambahkan.
- f. Dihomogenkan larutan yang telah ditambahkan antibiotik *kloramphenikol* (dapat dibantu pemanasan, suhu $\leq 70^{\circ}\text{C}$).
- g. Membagikan larutan ke petridisk steril 25 ml secara aseptis.
- h. Biarkan pada suhu sampai menjadi agar (Tim Bakteriologi, 2014).

2) Pembuatan *Lactopenol Cotton Blue* (LCB)

- a) Menyiapkan alat dan bahan.

- b) Menimbang crystal phenol sebanyak 20 gr.
- c) Memipet asam laktat sebanyak 20 ml.
- d) Memipet gliserol sebanyak 40 ml.
- e) Memipet aquades sebanyak 20 ml.
- f) Mencampurkan semua bahan diatas uap panas dengan hati-hati *Lacthopenol* akan berwarna jernih.
- g) Menambahkan bubuk *cotton blue* secukupnya sampai larutan berwrna biru (Tim Bakteriologi 2014).

c. Pemeriksaan Secara Makroskopis

- 1) Mempersiapkan alat dan bahan.
- 2) Mengambil 1 mm roti tawar.
- 3) Meletakkan potongan roti tawar di tengah media SDA.
- 4) Menyelotip petridisk dan memberi label.
- 5) Menginkubasi pada suhu 37°C, selama 48 jam.

d. Pemeriksaan secara Mikroskopis

- 1) Mengamati pertumbuhan jamur selama 7 hari.
- 2) Mengambil atau memotong 1 mm koloni yang tumbuh pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dengan ose.
- 3) Koloni jamur diambil dan diletakan pada bagian tengah objek glass.
- 4) Beri 1-2 tetes *Lacthopenol Cotton Blue* (LCB), lalu menutup dengan cover glass dan hindari adanya gelembung udara.
- 5) Mengamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x (Tim Bakteriologi, 2014).

F. Pengolahan dan Analisa Data

Data hasil pemeriksaan akan disajikan dalam bentuk tabel yang menunjukkan adanya cemaran jamur *Aspergillus sp.* Pada Roti tawar sebelum dan sesudah kadaluarsa.

Analisa data univariat dengan menghitung persentase roti tawar sebelum dan sesudah masa kadaluarsa yang tercemar *Aspergillus sp* yaitu :

$$N = \frac{X}{Y} \times 100\%$$

Keterangan:

N : Persentase roti tawar yang tercemar *Aspergillus sp.*

X : Jumlah roti tawar sebelum dan sesudah kadaluarsa yang tercemar *Aspergillus sp.*

Y : Jumlah roti tawar yang diperiksa (Pratiwi, 2019).

Rumus persentase spesies *Aspergillus sp* dari sampel positif :

$$A = \frac{Y}{X} \times 100\%$$

Keterangan:

A : Persentase spesies *Aspergillus sp.*

Y : Jumlah sampel yang positif tercemar per spesies *Aspergillus sp.*

X : Jumlah sampel yang positif tercemar *Aspergillus sp.*

G. Alur Penelitian

