

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini jenis deskriptif, dengan rancangan *cross sectional*.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Tempat pengambilan sampel penelitian di jalan Ade Irma Suryani Kota Bandar Lampung. Identifikasi jamur *Aspergillus* dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung. Waktu penelitian pada bulan April – Juni 2022.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah seluruh saus cabai dan saus tomat para pedagang jajanan di Jalan Ade Irma Suryani Kota Bandar Lampung yang berjumlah 18 pedagang dengan sampel 9 saus cabai dan 9 saus tomat secara keseluruhan.

2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah semua populasi yang berjumlah 18 sampel 9 saus cabai dan 9 saus tomat.

Tabel 3.1 Total Saus cabai yang digunakan pedagang di Jalan Ade Irma Suryani Bandar Lampung

No	Pedagang Makanan	Saus yang digunakan	Jumlah
		Cabai	
1.	MT	1	1
2.	C	1	1
3.	D	1	1
4.	CG	1	1
5.	M	1	1
6.	PB	1	1
7.	MA	1	1
8.	MB	1	1
9.	S1	1	1
	Jumlah Total	9	9

Tabel 3.2 Total Saus tomat yang digunakan pedagang di Jalan Ade Irma Suryani Bandar Lampung

No	Pedagang Makanan	Saus yang digunakan	Jumlah
		Tomat	
1.	S1	1	1
2.	S2	1	1
3.	TG	1	1
4.	BT	1	1
5.	SO	1	1
6.	H	1	1
7.	T	1	1
8.	DK	1	1
9.	KU	1	1
	Jumlah Total	9	9

D. Variabel dan Definisi Operasional

3.3 Tabel Variabel dan Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Saus cabai dan saus tomat para pedagang jajanan	Saus cabai dan saus tomat yang digunakan pedagang jajanan di Jalan Ade Irma Suryani Bandar Lampung	Observasi	Pengamatan Secara visual	Saus cabai dan tomat	Nominal
2	<i>Aspergillus sp</i>	Spesies <i>Aspergillus</i> pada saus cabai dan saus tomat pedagang jajanan di Jalan Ade Irma Suryani	Mengidentifikasi 1. Makroskopis 2. Mikroskopis	1. PDA 2. Lactophen ol Cotton Blue (LCB)	<i>A. niger</i> <i>A. terreus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. fumigatus</i>	Nominal

E. Pengumpulan Data

Data yang diperoleh seluruh pedagang Jajanan yang menggunakan saus cabai dan saus tomat dengan 18 sampel 9 saus cabai dan 9 saus tomat . adapun kode pedagang saus yang dijadikan sampel yaitu : Martabak Telur (MT), Cilok (C), Dimsum (D), Cilung (CG), Makaroni (M), Pempek Bakar (PB), Mie Ayam (MA), Makaroni Basah (MB), Sempol 1 (S1), Sempol 2 (S2), Telur Gulung (TG) Bakso

Tusuk (BT), Sate obong (SO), Hotangs (H), Takoyaki (T), Dimsum Kuning (DK), Kentang Ulir (KU). Pengumpulan data dilakukan dengan tiga tahap yaitu :

1. Prosedur Penelitian

- a. Mengajukan usulan pembuatan surat izin penelitian ke Direktur Poltekkes Tanjungkarang, untuk mengambil sampel saus cabai dan saus tomat, yang digunakan pedagang makanan jajanan di jalan Ade Irma Suryani Kec. Tanjungkarang Pusat Kota Bandar Lampung.
- b. Mengajukan permohonan izin penelitian ke UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung untuk melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi.

2. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara membeli jajanan dengan saus yang terpisah yaitu saus cabai dan saus tomat yang digunakan pedagang jajanan di sepanjang Jalan Ade Irma Suryani Kota Bandar Lampung. Pengambilan sampel dilakukan secara bertahap sebanyak 2 kali dimana pada minggu pertama dalam sehari mulai dari sampel 1 sampai sampel 9 yaitu saus cabai, minggu ke dua dalam sehari melakukan pengambilan sampel 10 sampai 18 yaitu saus tomat, kemudian sampel diberi label dengan mencantumkan nama saus, tanggal dan waktu pengambilan, lalu dimasukkan kedalam wadah plastik pedagang dan wadah tersebut telah di tulis kodenya dan disimpan kedalam box (*coolbox*) penyimpanan agar mudah membawanya, sampel dibawa ke UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung untuk dilakukan pemeriksaan identifikasi jamur *Aspergillus* secara makroskopis dan mikroskopis.

3. Identifikasi jamur *Aspergillus sp*

Prosedur identifikasi jamur *Aspergillus sp* dilakukan untuk melihat cemaran jamur *Aspergillus sp* pada saus cabai dan saus tomat yang digunakan pedagang jajanan di Jalan Ade Irma Suryani Kota Bandar Lampung. Pemeriksaan dilakukan dengan dua tahap yaitu, secara makroskopis untuk melihat ciri-ciri koloni jamur *Aspergillus*, dan mikroskopis untuk melihat morfologi jamur *Aspergillus*.

- a. Persiapan Alat dan bahan

Cawan petri diameter 15 cm, tabung reaksi, rak tabung, pipet ukur, lampu

spiritus dan pinset dicuci bersih dan dikeringkan, lalu dibungkus dengan kertas kopi, kemudian disterilkan di oven suhu 160°C selama 1 jam. Disiapkan objek glass, deck glass, autoclave, inkubator, , timbangan, kertas kopi, vortex, beaker glass, erlenmayer, mikroskop, ose cincin, kapas, korek api, label, tissue, selotip, dan aluminium foil (Soemarno,2000) serta, Bio safety Cabinet dan *coolbox*. Disiapkan bahan *Media Potato Dextrose Agar* (PDA), *Lacthophenol Cotton Blue* (LCB), Air Pepton 0,1%, alkohol 70% dan Aquadest, kloramfenikol.

b. Cara Kerja

1) Pembuatan Kloramfenikol

Pembuatan Kloramfenikol, sebanyak 1 gram Kloramfenikol dilarutkan sebanyak 100 ml dalam aquades steril. (Thearesti, 2015)

2) Pembuatan *Media Potato Dextrose Agar* (PDA)

- a) *Media Potato Dextrose Agar* (PDA) ditimbang sebanyak 78 gram, Setelah itu dimasukkan ke dalam erlenmayer yang berisi 2 liter aquadest kemudian dipanaskan hingga larut. Kemudian ditambahkan larutan kloramfenikol sebanyak 20 ml aduk merata, setelah itu disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah dingin tuangkan larutan *Potato Dextrose Agar* pada cawan petri steril sebanyak 20 ml.

3) Pembuatan Air Pepton 0,1%

- a) Pepton ditimbang sebanyak 2 gram dan 2 liter aquades keduanya dimasukkan kedalam labu erlenmayer, kemudian dipanaskan di atas hotplate sampai larut sempurna hingga menjadi bening, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 9 ml, setiap tabung ditutup dengan kapas yang telah dilapisi aluminium foil, kemudian disterilisasi menggunakan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm.

4) Pembuatan *Lacthophenol Cotton Blue* (LCB)

- a) Memipet Lactic Acid 10 ml, Glycerin 20 ml, dan Phenol 10 ml. Semua bahan dicampurkan dan ditambah Aquadest 10 ml lalu dihomogenkan. Lalu Tambahkan Methylen Blue 0,05 gram ke dalam larutan tersebut sampai homogen. (Surya, 2020)

5) Pengukuran pH

- a) Sampel ditimbang sebanyak 5 gr dan dimasukkan ke dalam *beaker glass*, kemudian ditambahkan aquades sebanyak 100 ml. Setelah itu, dimasukkan pH meter ke dalam *beaker glass* dan di catat angka yang tertera pada pH meter (Thalib, 2019)
- 6) Pemeriksaan makroskopis
 - a) Bersihkan meja kerja dengan disinfektan
 - b) Menimbang saus cabai dan tomat masing masing sebanyak 10 gram
 - c) Masing-masing saus cabai dan saus tomat dimasukan ke labu erlenmayer yang berbeda yang telah terisi 90 ml air pepton 0,1%. (sehingga diperoleh suspensi dengan tingkat pengenceran 10^{-1})
 - d) Dipipet pengenceran 10^{-1} sebanyak 1 ml dimasukan kedalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml air pepton didapat pengenceran 10^{-2} .
 - e) Dilanjutkan sampai mendapatkan suspensi dengan tingkat pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} .
 - f) Memipet hasil pengenceran saus sebanyak 0,1 ml lalu dituangkan ke dalam media PDA
 - g) Lalu mensolatip petridisk dan diberi label isi dengan kode saus dan tanggal pengambilan. Kemudian inkubasi pada suhu 30°C atau suhu ruang selama 5-7 hari. Namun setiap hari harus selalu diamati dan dicatat (Surya, 2020)
- 7) Pemeriksaan Mikroskopis
 - a) Bersihkan objek glass dan cover glass menggunakan alkohol 70% dan tissue untuk menghilangkan noda dan lemak yang menempel.
 - b) Teteskan sedikit (1-2 tetes) LCB di tengah permukaan objek glass.
 - c) Ambil sedikit koloni jamur yang berada di bagian tepi, taruh di permukaan objek glass yang telah ditetesi LCB.
 - d) Uraikan koloni secara hati-hati menggunakan jarum ose steril
 - e) Tutup menggunakan cover glass secara hati-hati dan usahakan tidak ada gelembung udara dalam preparat.
 - f) Amati menggunakan mikroskop pada perbesaran 40x10 morfologi kapang yang terlihat serta bagian-bagiannya. (Putri et al, 2017)
- c. Interpretasi Hasil :
 1. Makroskopis

- a) *Aspergillus niger*
 Warna : Hitam
 Sifat Pertumbuhan : Lambat
 Bentuk : Berserabut
- b) *Aspergillus terreus*
 Warna : Coklat Kekuningan
 Sifat Pertumbuhan : Cepat
- c) *Aspergillus flavus*
 Warna : Hijau Kekuningan
 Sifat Pertumbuhan : Lambat
 Bentuk : Berserabut
- d) *Aspergillus fumigatus*
 Warna : Hijau tua
 Sifat Pertumbuhan : Lambat
 Bentuk : Berserabut

2. Mikroskopis:

a. *Aspergillus niger*

Jamur *Aspergillus niger* ditandai dengan konidia atas berwarna hitam, kecoklatan atau coklat violet. Bagian atas membesar dan berbentuk globusa. Konidiofor halus, tak berwarna atau sedikit berwarna coklat-kuning. Vesikel berbentuk globusa dengan bagian atas membesar, ujung seperti batang kecil. Konidia kasar, menunjukkan lembaran atau pita bahan berwarna hitam coklat (Makfoeld, 1993).

b. *Aspergillus terreus*

Jamur *Aspergillus terreus* ditandai dengan bagian atas kolumnar, kelabu pucat atau berbayang agak cerah. Konidiofor halus, tak berwarna. Vesikel agak bulat dengan bagian atas tertutup sterigmata. Konidia kecil, halus, berbentuk globusa sampai agak elip (Makfoeld, 1993).

b) *Aspergillus flavus*

Jamur *Aspergillus flavus* ditandai menggunakan konidiofor tidak berwarna dan kasar. permukaan relatif bulat. Vesikel relatif bulat hingga bentuk batang di kepala yang kecil dan pada kepala yang besar berbentuk globosa.

Konidia kasar terdapat beragam warna. (Makfoeld, 1993)

c) *Aspergillus fumigatus*

Jamur *Aspergillus fumigatus* ditandai dengan konidia atas berbentuk kolumnar (memanjang), berwarna hijau sampai hijau kot Vesikel berbentuk piala. Konidiofor berdinding halus, umumnya berwarna hijau. Konidia globusa, ekinulat warna hijau.(Makfoeld, 1993).

F. Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan hasil pemeriksaan disajikan dalam bentuk tabel yang menunjukkan adanya cemaran jamur *Aspergillus sp* pada saus cabai dan saus para pedagang kaki lima di Jalan Ade Irma Suryani Kota Bandar Lampung. Analisa data dilakukan dengan univariat, menghitung persentase nilai saus yang digunakan pedagang makanan yang tercemar jamur *Aspergillus sp*. Dengan perhitungan persentase yaitu:

1. Perhitungan persentase saus tercemar dan saus yang tidak tercemar jamur *Aspergillus sp*.

$$N \frac{x}{y} \times 100\%$$

Keterangan:

N = Nilai Persentase saus pedagang yang tercemar *Aspergillus sp*

x = Jumlah sampel yang tercemar jamur *Aspergillus sp*

y = Jumlah seluruh saus pedagang yang di periksa.

2. Perhitungan persentase saus yang tercemar dari spesies jamur *Aspergillus sp*.

$\text{spesies } Aspergillus = \frac{\text{Saus yang tercemar}}{\text{Jumlah total saus tercemar}} \times 100\%$
--

G. Alur Penelitian

