

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat deskriptif dengan variabel utama berupa jamur kontaminan dan ikan asin. Rancangan penelitian ini untuk menggambarkan keberadaan jamur kontaminan pada ikan asin yang diperdagangkan di Pasar Rakyat Way Halim, Kota Bandar Lampung.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel ikan asin dilakukan di Pasar Rakyat Way Halim, Kota Bandar Lampung. Pemeriksaan jamur kontaminan dalam penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, pada bulan Juni 2025.

C. Populasi Sampel

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini mencakup empat jenis ikan asin, yaitu ikan asin kapasan, ikan asin tanjan, ikan asin teri, dan ikan asin selar, yang diperoleh dari enam kios pedagang ikan asin di Pasar Rakyat Way Halim, Kota Bandar Lampung.

2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ikan asin yang diperoleh dari 6 kios pedagang dengan kriteria memiliki 4 jenis ikan asin yaitu ikan asin teri, ikan asin tanjan, ikan asin selar, dan ikan asin kapasan yang dijual di Pasar Rakyat Way Halim, Kota Bandar Lampung.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Variabel dan Definisi Oprasional

No	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Uku	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Ikan asin	Ikan asin yang dijual di Pasar Rakyat Way Halim Kota Bandar Lampung yaitu	Pengamatan	Observasi	a. Ikan asin teri b. Ikan asin tanjan c. Ikan asin selar d. Ikan asin kapasan	Nominal
2.	Jamur Kontaminan	Jamur yang tumbuh dan mengkontaminasi ikan asin yang di jual di Pasar Rakyat Way Halim Kota Bandar Lampung	Pemeriksaan Laboratorium pengamatan morfologi secara Makroskopis dan Mikroskopis	1. Media Sabouraud Dextrose Agar (SDA) 2. Pewarna Lactophenol Catton Blue (LCB)	Positif (+) jika ditemukan jamur kontaminan Negatif (-) jika Tidak ditemukan jamur kontaminan	Nominal

E. Pengumpulan Data

1. Prosedur Penelitian

- Peneliti melakukan observasi untuk menentukan jumlah pedagang yang menjual ikan asin di Pasar Rakyat Way Halim Kota Bandar Lampung, serta melakukan penelitian melalui pemeriksaan laboratorium terhadap sampel ikan asin.
- Diajukan surat izin penelitian diajukan kepada Direktur Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang melalui Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang untuk pelaksanaan penelitian di Laboratorium Parasitologi.
- Dilakukan observasi serta pengambilan sampel ikan asin dilakukan pada enam kios pedagang ikan asin di Pasar Rakyat Way Halim, dengan metode pengambilan sampel secara acak (random sampling).
- Sebanyak 24 sampel ikan asin dari 6 kios yang berbeda dengan jenis ikan asin teri, ikan asin tanjan, ikan asin selar dan ikan asin kapasan dimasukkan ke dalam plastik steril secara terpisah, kemudian diberi kode

identifikasi pada masing-masing wadah sampel.

- e. Sampel ikan asin yang telah dikemas dalam plastik steril dan diberi kode selanjutnya disimpan dalam wadah tertutup guna menjaga kualitas sampel selama proses transportasi.
- f. Sampel dikirim ke Laboratorium Parasitologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang untuk dianalisis lebih lanjut.
- g. Dilakukan pemeriksaan sampel secara makroskopis dan mikroskopis untuk mengidentifikasi keberadaan jamur kontaminan pada ikan asin yang diteliti.

2. Prosedur Kerja Pemeriksaan

a. Persiapan Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri, pipet ukur, erlenmeyer, inkubator, mortar, gelas beker, jarum ose, spatula, bunsen, mikroskop, label, object glass, deck glass, kotak penyimpanan, selotip, timbangan, kapas, aluminium foil, kertas koran, tisu, hotplate, petridisk, batang pengaduk, autoklaf, serta oven.

b. Persiapan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), *aquadest* steril, *Lactophenol Cotton Blue*, ikan asin teri, alkohol dengan konsentrasi 70%, serta antibiotik *Chloramphenicol*.

c. Sterilisasi Alat

- 1) Disiapkan alat yang akan disterilkan meliputi cawan petri, mortar, jarum ose, cawan arloji, object glass, deck glass, serta spatula.
- 2) Seluruh peralatan dibungkus menggunakan kertas kopi atau kertas koran untuk menjaga kebersihan selama proses sterilisasi.
- 3) Setelah di bungkus, peralatan kemudian disterilisasi dengan pemanasan dalam oven pada suhu 170°C selama 40 menit.

d. Pembuatan Media SDA

- 1) Ditimbang sebanyak 65 gram media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), kemudian dilarutkan dalam 1.000 ml *aquadest* dalam labu erlenmeyer

dan dipanaskan hingga larut sempurna. Larutan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

- 2) Setelah media mendingin, ditambahkan 10 ml larutan chloramphenicol, kemudian dihomogenkan. Larutan antibiotik diperoleh dengan melarutkan 500 mg chloramphenicol dalam 10 ml aquadest.
- 3) Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) yang telah homogen dituangkan ke dalam cawan petri dengan volume 20 ml per cawan, kemudian didiamkan hingga membeku (Oxoid, 2019).

e. Proses Isolasi

- 1) Dipersiapkan seluruh instrumen dan bahan penelitian yang akan digunakan.
- 2) Sampel ikan asin yang telah disediakan dihaluskan menggunakan mortar atau blender, kemudian ditimbang sebanyak 10 gram.
- 3) Dimasukkan sampel yang telah di timbang ke dalam labu Erlenmeyer yang berisi 90 ml *aquadest* steril, dicampur hingga homogen. Suspensi tersebut diambil 0,1 ml inokulasi secara sebaran pada media ke dalam cawan petri yang telah mengandung media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) (Aris et al, 2021).
- 4) Difiksasi cawan petridisk yang sudah berisi media yang telah di inokulasikan sampel dengan cara dilewatkan di atas nyala api bunsen pada bagian mulut cawan petri untuk mencegah kontaminasi, selanjutnya disegel menggunakan selotip dan diberi label identifikasi.
- 5) Diinkubasi pada suhu 37°C selama 6 hari untuk mengamati perkembangan mikroorganisme.
- 6) Dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis terhadap pertumbuhan jamur kontaminan.
- 7) Diamati secara makroskopis mencakup karakteristik koloni, meliputi warna, tekstur, serta pola pertumbuhan pada medium.
- 8) Diamati secara mikroskopis dengan mengidentifikasi struktur konidia, vesikel, dan konidiofor melalui teknik pewarnaan spesifik

menggunakan larutan *Lactophenol Cotton Blue*.

f. Cara Kerja Pemeriksaan Makroskopis

- a. Pemeriksaan secara makroskopis dilakukan dengan cara mengamati karakteristik pertumbuhan koloni jamur pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 6 hari.

- b. Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan mikroskopis dimana diambil koloni jamur berukuran ± 1 mm yang telah tumbuh pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), kemudian diberi pewarnaan menggunakan *Lactophenol Cotton Blue* untuk mengamati serta mengidentifikasi struktur morfologi jamur untuk melihat spesies jamur kontaminan yang berkembang.

- a) Proses pewarnaan koloni

1. Diambil koloni jamur dari media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) menggunakan ose bulat secara aseptik.
2. Diletakan koloni tadi secara merata pada *object glass*.
3. Ditetesi dengan reagen *Lactophenol Cotton Blue* pada koloni tersebut.
4. Ditutup dengan *cover glass* secara perlahan, jangan sampai ada gelembung udara.
5. Diamati koloni dan identifikasi spesies jamur di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x.

g. Interpretasi Hasil

- 1) Positif (+) = Bila ditemukan koloni jamur kontaminan pada ikan asin
- 2) Negatif (-) = Bila tidak ditemukan koloni jamur kontaminan pada ikan asin

- a) *Aspergillus flavus*: Koloni berwarna hijau kekuningan dengan pinggiran berwarna putih. Sifat pertumbuhannya lambat serta berserabut. Konidia berbentuk bulat dan agak bulat, Konidiofor dengan panjang bervariasi, kasar, berlubang dan berduri.

- b) *Aspergillus niger*: Koloni berwarna coklat tua sampai hitam. Konidiofor berdinding halus. Fialid terbentuk pada metula, dan juga sering bersepta. Konidia berbentuk bulat sampai agak bulat berwarna coklat tua sampai hitam dan berdinding kasar.
- c) *Aspergillus fumigatus*: Koloni berwarna hijau gelap. Hifa hialin, bersepta, konidiofor: pendek, halus, berwarna hijau kebiruan, vesikel bulat hingga oval, sebagian permukaannya mengandung fialid (bukan seluruhnya).
- d) *Rhizopus oryzae* : Koloni awal berwarna putih, kemudian berubah menjadi abu abu sampai coklat kehitaman. Hifa lebar tidak bersekat (aseptate) hialin , kolumela struktur bulat seperti bantal di dalam sporangium, rhizoid seperti akar semu yang tumbuh dari stolon, berfungsi menempel pada substrat.

F. Pengolahan dan Analisa Data

Analisis data dalam penelitian ini adalah menghitung jumlah total jamur kontaminan pada masing-masing plate yang tumbuh. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan perhitungan persentase ikan asin yang tercemar jamur kontaminan, persentase ikan asin yang ditumbuhi jamur kontaminan berdasarkan jenis ikan, persentase ikan asin yang di tumbuhi masing- masing spesies jamur kontaminan, dan persentase spesies jamur kontaminan berdasarkan jenis ikan asin di hitung menggunakan rumus berikut :

1. Perhitungan persentase ikan asin yang tercemar jamur kontaminan

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

Keterangan :

N= Persentase ikan asin yang tercemar jamur kontaminan

X= Jumlah ikan asin yang tercemar jamur kontaminan

Y= Jumlah seluruh sampel ikan asin yang diperiksa

2. Perhitungan persentase Ikan asin yang ditumbuhi jamur kontaminan berdasarkan jenis ikan.

$$\text{Jenis Ikan asin} = \frac{\text{Jumlah ikan asin yang terkontaminasi}}{\text{Jumlah sampel ikan asin berdasarkan jenis}} \times 100\%$$

3. Perhitungan persentase Ikan Asin yang di tumbuhi masing- masing spesies Jamur kontaminan.

$$\text{Spesies Jamur Kontaminan} = \frac{\text{Jumlah jamur yang tumbuh}}{\text{Jumlah sampel ikan asin}} \times 100\%$$

4. Persentase spesies jamur kontaminan berdasarkan jenis Ikan asin

$$Z = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan

Z= Persentase spesies jamur berdasarkan jenis ikan

A= Jumlah ikan asin yang ditumbuhi jamur berdasarkan jenis ikan

B= Jumlah total ikan asin berdasarkan jenis ikan