

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimen dengan desain penelitian yaitu *non-equivalent control group design*, peneliti melakukan kegiatan pengumpulan data berdasarkan hasil pengamatan dan dokumentasi dari setiap proses penelitian yang dilakukan. Terdapat dua variabel yaitu variabel bebas berupa media alternatif Umbi Talas (*Colocasia esculenta*) dengan konsentrasi 3%, 5%, 7%, 9%, dan 11% dan variabel terikat berupa pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus*. Sebagai kontrol adalah media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*). Pemeriksaan menggunakan metode *single dot* dan dilihat diameter koloni pada media. Pengulangan dilakukan sebanyak 5 kali yang didapatkan dari perhitungan menggunakan rumus Federer, yaitu $(t-1)(r-1) \geq 15$.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikologi dan Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tangkarang pada bulan Mei – Juni 2022.

C. Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah media pertumbuhan jamur. Media yang digunakan yaitu media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) dan media alternatif dari Umbi Talas (*Colocasia esculenta*).

Media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) instan dengan nomor katalog. Sedangkan media alternatif yang digunakan adalah media yang berasal dari umbi talas. Umbi talas dijadikan tepung lalu dibuat media dengan konsentrasi 3%, 5%, 7%, 9%, dan 11%. Jamur *Aspergillus flavus* didapatkan dari Fakultas Parasitologi di Universitas Indonesia.

D. Variabel dan Defenisi Operasional Penelitian

Tabel 3.1 Defenisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Variabel bebas :					
	a. Media SDA	Media yang digunakan untuk perkembangbiakan.	Neraca timbangan	Observasi	Diameter <i>Aspergillus flavus</i> pada media SDA	Nominal Ordinal
	b. Media alternatif dari umbi talas	Media yang digunakan sebagai media alternatif untuk membandingkan dan menumbuhkan jamur.	Neraca timbangan	Observasi	Diameter <i>Aspergillus flavus</i> pada media umbi talas dengan konsentrasi 3%, 5%, 7%, 9%, dan 11%	
2.	Variabel terikat :					
	Pertumbuhan <i>Aspergillus flavus</i>	Jamur yang berwarna hijau kekuningan atau coklat, bentuk berserabut secara mikroskopis terdapat konidia, sterigmata, vesikel dan konidiofor.	Jangka sorong	Diukur diameter pertumbuhan koloni <i>Aspergillus flavus</i> pada plate.	Diameter koloni <i>Aspergillus flavus</i> : mm	Rasio

E. Pegumpulan Data

1. Pendahuluan

- a. Pembuatan surat izin penelitian dan pemesanan strain jamur *Aspergillus flavus* ke Fakultas Parasitologi di Universitas Indonesia.
- b. Melakukan persiapan peralatan dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian
- c. Menentukan jumlah sampel penelitian.

Pengulangan dilakukan sebanyak 5 kali. Untuk menentukan jumlah pengulangan digunakan rumus Federer, yaitu:

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

Keterangan:

t : treatment (Perlakuan)

r : replikasi (Pengulangan)

2. Prosedur Pemeriksaan

a. Alat:

Autoklaf, Alumunium foil, Batang pengaduk, Cawan petri, Corong gelas, Erlenmeyer 250 ml, Gelas kimia 250 ml, Gelas ukur 100 ml, Blenderau Mortar, Hot plate, Indikator universal, Inkubator, Jangka sorong, Kaca Objek, Kaca penutup, Kain kasa, Kapas, Kertas kopi, Lakban, Lampu spirtus, Mikroskop, Neraca elektrik, Oven, Ose jarum, Ose loop, Spidol.

b. Bahan:

Koloni *Aspergillus flavus*, Media SDA, Tepung Umbi Talas, Dextrose, Agar-agar, Antibiotik Chloramphenicol 500 mg, LPCB (*Lactophenol Cotton Blue*).

3. Metode Pemeriksaan

Metode *single dot*

4. Prinsip Penelitian

Ditanam jamur menggunakan ose jarum dan ditusukkan pada bagian tengah permukaan agar.

5. Cara Kerja

a. Sterilisasi alat

Alat-alat gelas yang akan digunakan dalam penelitian ini dibersihkan terlebih dahulu hingga bersih dan dikeringkan, kemudian dibungkus dengan kertas kopi, lalu disterilisasikan dalam oven pada suhu 160°C selama 60 (Soemarno, 2000).

b. Pembuatan larutan kloramfenikol

Setiap 1000 ml SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) memerlukan 400 mg kloramfenikol, setiap 250 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 10 ml NaCl 0,85%.

Maka untuk 400 mg diperlukan NaCl 0,85% sebanyak $[400 \text{ mg} / 250 \text{ mg}] \times 10 \text{ ml} = 16 \text{ ml}$ (Soemarno, 2000).

c. Pembuatan modifikasi media talas

- 1) Dipilih umbi talas yang bagus dan tua, akan tetapi tidak ada kerusakan seperti kebusukan atau memar-memar pada umbi.
- 2) Digunakan jenis talas bogor, lalu umbi talas dicuci agar kotoran yang menempel pada kulit bagian luar hilang.
- 3) Umbi talas yang sudah dicuci bersih, kemudian dikupas kulitnya secara manual dengan menggunakan *peeler* atau alat penupas.
- 4) Diiris umbi talas menggunakan *slicer* atau alat pengiris untuk mendapatkan irisan setipis.
- 5) Umbi yang telah diiris kemudian direndam dalam campuran air dan garam \pm selama 3 hari 3 malam setiap pagi air rendaman diganti dengan air baru, tujuannya untuk menghilangkan getah atau lendir pada umbi talas.
- 6) Irisan umbi talas yang sudah direndam, kemudian di jemur dibawah terik matahari sampai benar-benar kering (hingga irisan dapat dipatahkan).
- 7) Jika irisan umbi talas sudah kering, dilanjutkan dengan proses penepungan.
- 8) Dihaluskan irisan umbi talas dengan menggunakan blender.
- 9) Setelah dilakukan penepungan selanjutnya tepung umbi talas diayak untuk menyeragamkan ukuran partikel tepung.

- 10) Tepung umbi talas yang telah diayak kemudian ditimbang sebanyak :

Konsentrasi	3%	5%	7%	9%	11%
Umbi Talas	0,49 g	0,81 g	1,14 g	1,47 g	1,8 g

masing-masing dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml.

- 11) Kemudian masing-masing ditambahkan agar-agar dan dextrose sebanyak :

Konsentrasi	3%	5%	7%	9%	11%
Agar	4,54 g	4,42 g	4,29 g	4,17 g	4,05 g
Dextrose	11,22 g	11,02 g	10,82g	10,61 g	10,4 g

masing-masing dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml.

- 12) Ditambahkan aquades sebanyak 250 ml, lalu direbus di atas hot plate hingga mendidih.
- 13) Kemudian diukur pH nya menggunakan indikator universal, bila pH terlalu basa dapat ditambahkan HCl 0,01 N beberapa tetes dan bila pH terlalu asam

dapat ditambahkan NaOH 0,01 N beberapa tetes, lalu diukur kembali pH hingga pH \pm 5,5.

- 14) Dipanaskan kembali hingga homogen, lalu diangkat dan Erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kapas yang telah dibungkus aluminium foil.
- 15) Media sterilisasi basah dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 16) Didiamkan hingga suhu turun lalu ditambahkan antibiotik chloramphenicol sebanyak 2 ml, kemudian dihomogenkan.
- 17) Media umbi talas dituangkan ke dalam cawan petri steril masing-masing 15 – 20 ml secara aseptis, didiamkan hingga beku.

d. Pembuatan media SDA

- 1) Ditimbang bubuk media SDA sebanyak 16,25 gram, lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml.
- 2) Kemudian ditambahkan 250 ml aquades, lalu dipanaskan diatas hot plate, sambil sesekali dihomogenkan sampai larut sempurna agar media larut sempurna.
- 3) Dicek pH larutan sampai pHnya \pm 5,5.
- 4) Disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 5) Larutan didiamkan hingga suhu turun, lalu ditambahkan antibiotik chloramphenicol 2 ml, kemudian dihomogenkan.
- 6) Media SDA dituang ke dalam cawan petri steril masing-masing 15 – 20 ml secara aseptis, didiamkan hingga beku.

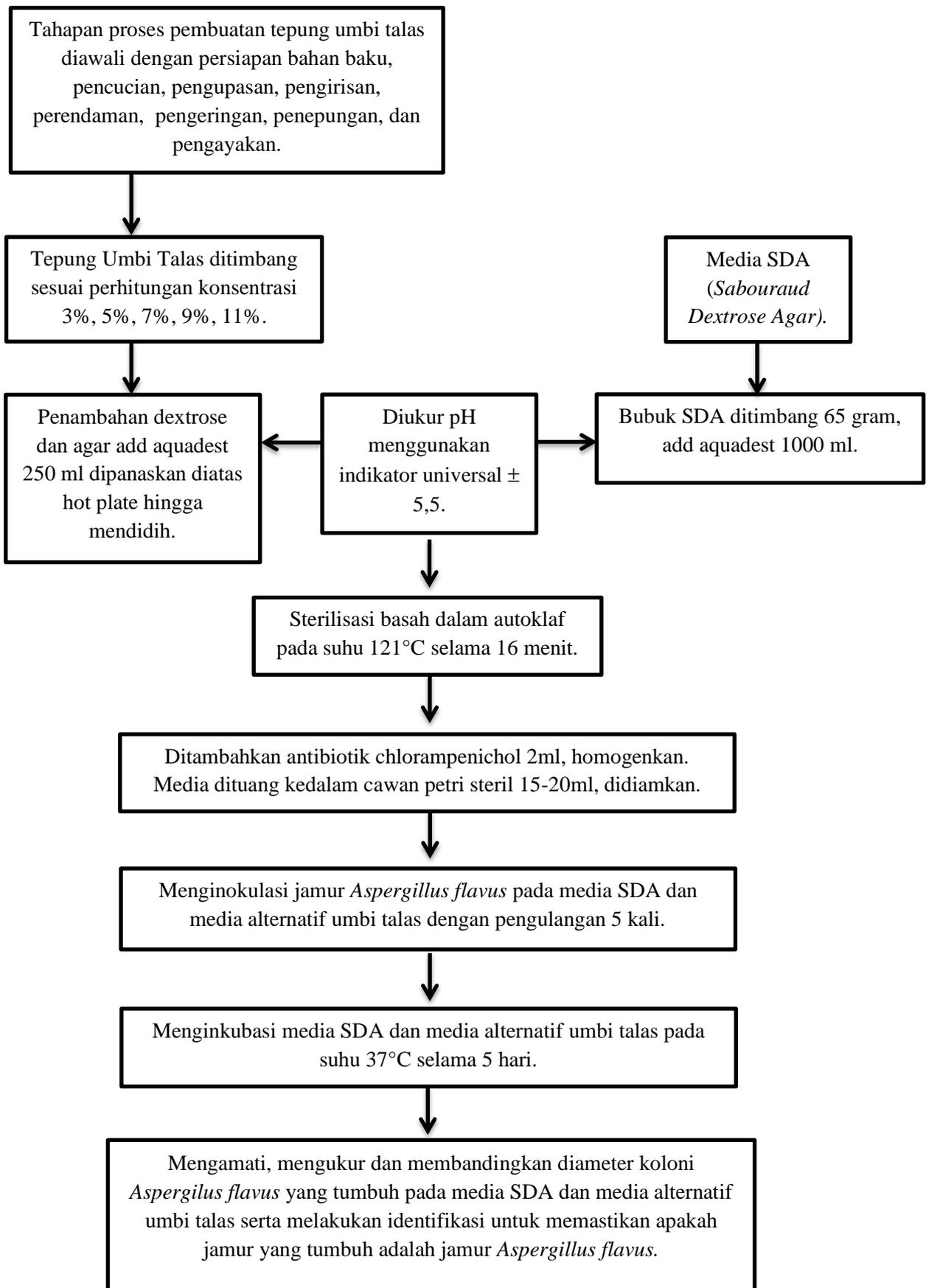
e. Uji Penelitian

- 1) Jamur *Aspergillus flavus* diinokulasi pada modifikasi media umbi talas dan media SDA secara aseptik dengan cara metode *single dot* kemudian inkubasi di inkubator pada suhu 37°C.
- 2) Besarnya diameter koloni jamur *Aspergillus flavus* pada media SDA dan modifikasi media umbi talas dengan konsentrasi 3%, 5%, 7,9%, 9%, dan 11% diukur menggunakan jangka sorong setiap 24 jam selama 5 hari.

f. Uji Penegasan

- 1) Disiapkan 2 kaca objek.
- 2) Diambil 1 ose koloni dari media alternatif umbi talas dan 1 ose koloni dari media SDA .
- 3) Dilakukan pewarnaan dengan meneteskan LPCB pada koloni yang telah disiapkan kemudian ditutup dengan kaca penutup (hindari jangan sampai ada gelembung udara).
- 4) Kemudian diamati morfologi *Aspergillus flavus* dibawah mikroskop dimulai dari perbesaran rendah 100x sampai perbesaran kuat 400x.

6. Skema Kerja



Tabel 3.2 Komposisi Media Alternatif Perkonstrasi

Konsentrasi	3%	5%	7%	9%	11%
Umbi talas	0,49 g	0,81 g	1,14 g	1,47 g	1,8 g
Agar	4,54 g	4,42 g	4,29 g	4,17 g	4,05 g
Dexstrose	11,22 g	11,02 g	10,82 g	10,61 g	10,4 g
Total	16,25 g	16,25vg	16,25 g	16,25 g	16,25 g

Tabel 3.2 di atas adalah tabel komposisi media alternatif umbi talas setiap konsentrasi media alternatif dari umbi talas.

A. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Data diperoleh dengan cara:

- a. Diameter koloni dihitung dalam satuan mm.
- b. Diameter koloni ditentukan pada hari ke-lima hari dengan menandai dua diagonal tegak lurus satu sama lain dengan titik awal pengukuran adalah titik dimana tusukan jamur ditempatkan.
- c. Diukur diameter jamur yang tumbuh dicawan petri masing-masing dengan menggunakan jangka sorong.
- d. Dihitung rata-rata diameter koloni per cawan petri pada pengulangan 1-5.
- e. Mengolah dan menyajikan data yang diperoleh.

2. Analisis Data

Data yang digunakan berupa analisis univariat dan bivariat.

- a. Analisis univariat adalah data yang berupa diameter koloni pertumbuhan *Aspergillus flavus* terhadap variasi konsentrasi umbi talas 3%, 5%, 7%, 9%, 11% dan SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) dengan pengulangan sebanyak 5 kali kemudian diakumulasikan dan dihitung rata-ratanya.
- b. Analisis bivariat adalah data yang berupa hasil rata-rata diameter koloni pada media SDA dan media umbi talas kemudian dianalisis dengan uji *One Way Anova*. Apabila ada perbedaan yang signifikan rata-rata diameter koloni *Aspergillus flavus*, maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan taraf kesalahan 5%.

B. Ethical Clearence

Penelitian yang dilakukan atas izin komisi etik, sehingga perlu dilakukan proses secara etik dan menyerahkan naskah skripsi ke Komite Etik Poltekkes Tanjungkarang untuk dinilai kelayakannya.

Penelitian ini tidak akan menimbulkan bahaya bagi lingkungan, limbah yang dihasilkan dari proses penelitian ini akan dikumpulkan dan dimusnahkan dalam penanganan limbah. Limbah larutan yang dihasilkan dari pembuatan media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) dan umbi talas (*Colocasia esculenta*) maupun sisa dari air perebusan pembuatan media tersebut ditangani dengan cara langsung di buang pada saluran pembuangan, dikarenakan limbah larutan tidak membahayakan lingkungan.

Limbah media plate SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) dan media umbi talas (*Colocasia esculenta*) setelah dilakukan pengamatan selama 5 hari dimusnahkan dengan cara perebusan pada suhu 100°C selama 30 menit, air perebusan dibuang pada saluran pembuangan, lalu plate dicuci menggunakan detergen pada air mengalir