

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Bidang keilmuan penelitian ini adalah Mikologi. Jenis penelitian ini bersifat eksperimen atau percobaan (*experimental researce*) dengan desain penelitian yaitu *posttest-only control design* adalah suatu metode penelitian yang digunakan untuk membandingkan variabel eksperimen dengan variabel kontrol. Dalam pengelompokan metode *posttest-only control design* kelompok eksperimen dan kelompok control tidak dipilih secara acak akan tetapi telah ditentukan berdasarkan kriteria perlakuan peneliti. Metode *posttest-only control design* bertujuan untuk dapat membandingkan perbedaan keadaan awal suatu eksperimen dengan keadaan akhir eksperimen melalui beberapa tahap pengulangan. Variabel independen/bebas dalam penelitian ini adalah media SDA dan PDA, sedangkan variabel dependen/terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan *Malessezia furfur* ditandai dengan meluasnya pertumbuhan jamur pada plate. Pada penelitian ini akan menggunakan metode *single dot*. Subjek penelitian adalah media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dan media *Potato Dextrose Agar* (PDA).

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Tanjungkarang pada bulan Juli 2022.

C. Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah pertumbuhan jamur *Malessezia furfur* pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dengan variasi suhu 30⁰C, 31⁰C, 32⁰C, 33⁰C, 34⁰C, 35⁰C, 36⁰C, dan 37⁰C.

D. Variabel dan Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel dan Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Variabel Bebas Media Pertumbuhan	Media <i>sabouraud dextrose agar</i> (SDA) dan <i>potato dextrose agar</i> (PDA) merupakan media pertumbuhan yang digunakan untuk identifikasi strain jamur <i>Malessezia furfur</i>	Observasi	Pengamatan Observer	Media SDA dan PDA	Interval
2	Variabel Bebas Suhu	Suhu yang digunakan untuk masa inkubasi pertumbuhan jamur selama 24 jam	Observasi	Termometer	Suhu 30 ⁰ C, 31 ⁰ C, 32 ⁰ C, 33 ⁰ C, 34 ⁰ C, 35 ⁰ C, 36 ⁰ C, dan 37 ⁰ C	Interval
3	Variabel Terikat Pertumbuhan <i>Malessezia furfur</i>	Pertumbuhan yang ditandai dengan permukaan dan morfologi jamur <i>Malessezia furfur</i> yang melebar	Mengukur diameter pertumbuhan jamur	Jangka Sorong	Diameter Koloni (mm)	Rasio

E. Pengumpulan Data

1. Prosedur Penelitian

- a. Pembuatan surat izin penelitian dan pemesanan strain jamur
- b. Pengumpulan alat dan bahan pemeriksaan
- c. Menentukan jumlah sampel penelitian

Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Untuk menentukan jumlah pengulangan digunakan rumus Federer, yaitu:

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

Keterangan:

t : *treatment* (perlakuan)

r : replikasi (pengulangan)

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

$$(8-1)(r-1) \geq 15$$

$$7r \geq 15 + 7$$

$$r \geq 22/7$$

$$r \geq 3,14$$

$$r \geq 3$$

3 kali pengulangan

d. Identifikasi strain jamur *Malessezia furfur*

- 1). Strain jamur *Malessezia furfur* diinokulasi pada media SDA dan PDA dengan menggunakan metode *single dot* kemudian inkubasi di incubator selama 1x24 jam pada suhu 37⁰ Celcius.
- 2). Ambil satu koloni dari masing-masing media
- 3). Dilakukan pewarnaan dengan meneteskan *Lactophenol Cootton Blue* (LPCB) pada koloni yang telah disiapkan kemudian ditutup dengan kaca penutup (hindari jangan sampai ada gelembung).
- 4). Kemudian diamati morfologi *malessezia furfur* dibawah mikroskop dimulai dari perbesaran rendah yaitu 100 X, sampai perbesaran kuat yaitu 400 X.

2. Prosedur Pemeriksaan

a. Alat

Alat yang digunakan adalah neraca analitik elektrik, *autoclave*, *beaker glass* 100 ml, pipet ukur, plate, kertas kopi, oven, corong gelas, *hot plate*, erlenmeyer 250 ml, lampu spiritus, korek api, jangka sorong, *handscoon*, dan inkubator.

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah aquades steril, kloramfenikol, media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), media *potato sabouraud agar* (PDA), dan strain murni *Malassezia furfur*.

3. Metode Pemeriksaan

Metode *single dot* dengan cara ditanam jamur *Malassezia furfur* menggunakan ose jarum dan ditusukkan dibagian tengah permukaan agar

4. Prinsip Pemeriksaan

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

5. Cara Kerja

a. Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas yang digunakan dalam penelitian ini dibersihkan dan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dibungkus dengan kertas pembungkus. Disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 160° selama 60 menit (Soemarno, 2000).

b. Pembuatan larutan kloramfenikol

Pembuatan larutan pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dan *Potato Dextrose Agar* (PDA) dengan melarutkan 1 gram kloramfenikol dalam 100 ml aquades (Farmasi, 2019).

c. Pembuatan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Sebanyak 16,25 gram *Sabouraud Dextrose Agar* bubuk ditambahkan dengan 250 ml aquades, diaduk kemudian dipanaskan. Setelah larut sempurna ditambahkan larutan kloramfenikol (untuk mencegah tumbuhnya kuman kontaminan), lalu media disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Larutan didiamkan hingga suhu turun, lalu tambahkan antibiotic kloramfenikol 2ml, kemudian dihomogenkan dan media dituang ke dalam plate yang telah disterilkan dan dibiarkan dingin. Media yang sudah selesai dibuat, diambil beberapa plate kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C . Apabila ada pertumbuhan 2 koloni saja per plate itu dianggap tidak steril (Soemarno, 2000).

d. Pembuatan media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Sebanyak 24 gram *Potato Dextrose Agar* ditimbang lalu dilarutkan dalam 600 ml aquades, larutkan hingga larut sempurna, disterilkan dalam autoklaf suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Media *Potato Dextrose Agar* yang telah disterilkan didinginkan sampai suhu -56°C , lalu ditambahkan larutan kloramfenikol 100 mg/l media untuk menghindari kontaminasi bakteri. Setelah

tercampur tuang media ke cawan petri sebanyak \pm 20 ml/petri. Pembuatan larutan 1 gram kloramfenikol dalam 100 ml aquades (Farmasi, 2019).

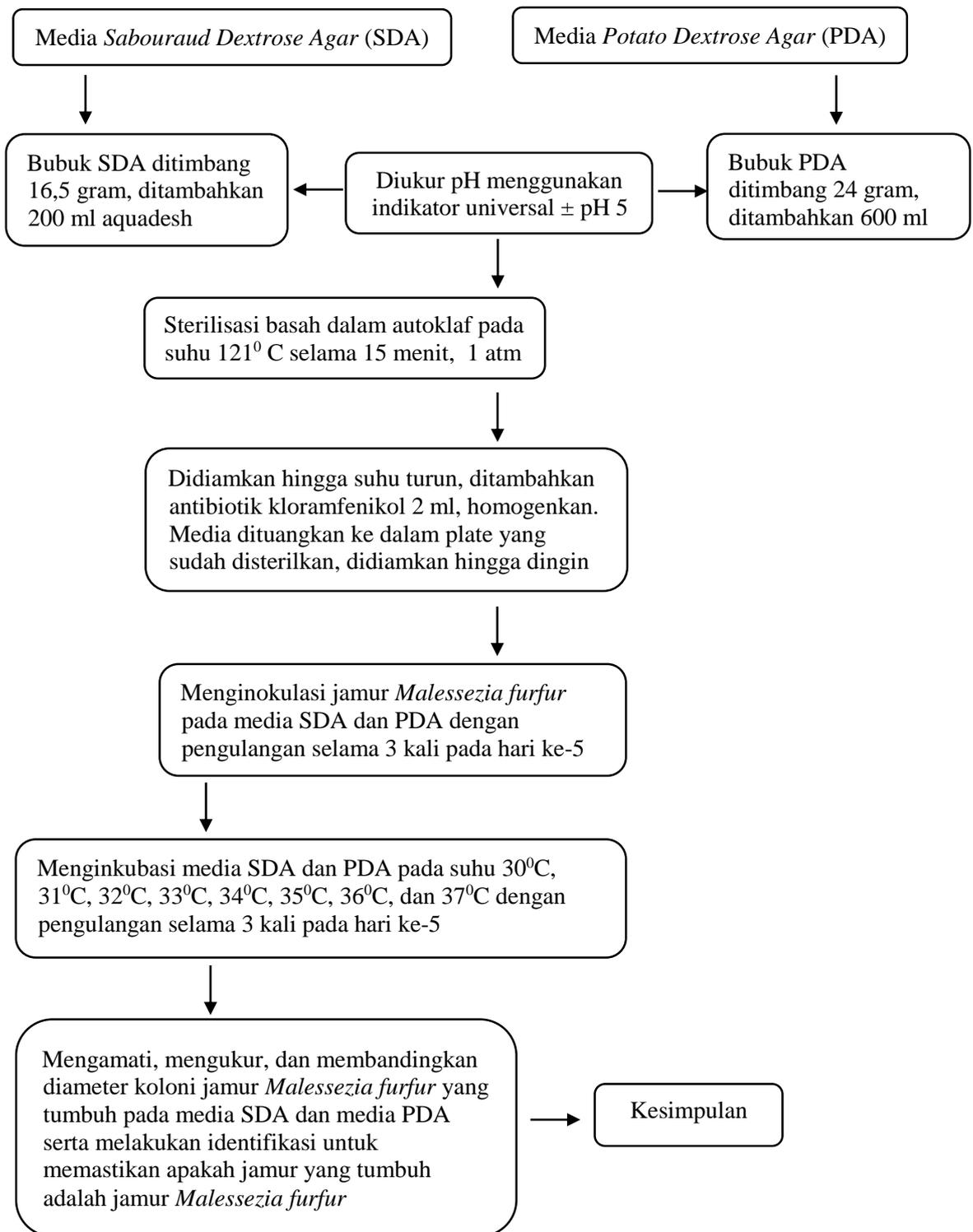
e. Uji penelitian

- 1). Jamur *Malassezia furfur* diinokulasi pada media *sabouraud dextrose agar* (SDA) dan *potato dextrose agar* (PDA) secara aseptik dengan cara metode *single dot* kemudian diinkubasi pada incubator dengan variasi suhu 30⁰C, 31⁰C, 32⁰C, 33⁰C, 34⁰C, 35⁰C, 36⁰C, dan 37⁰C. Kemudian percobaan tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pada minggu yang berbeda.
- 2). Besarnya diameter jamur *Malassezia furfur* pada media *sabouraud dextrose agar* (SDA) dan *potato dextrose agar* (PDA) diukur menggunakan jangka sorong setelah 5 hari dan diinkubasi pada suhu 30⁰C-37⁰C.

f. Uji penegasan

- 1). Disiapkan 2 kaca objek dan
- 2). Diambil 1 ose koloni dari media SDA dan 1 ose koloni dari media PDA
- 3). Dilakukan pewarnaan dengan meneteskan LPCB pada koloni yang telah disiapkan kemudian ditutup dengan kaca penutup (hindari jangan sampai ada gelembung udara).
- 4). Kemudian di amati morfologi *Malassezia furfur* di bawah mikroskop dimulai dari perbesaran rendah 100x sampai perbesaran kuat 400x.

6. Skema Kerja Pemeriksaan



Sumber: (Soemarno, 2000), (Widyawinata, 2018), (Gandjar, 2006)

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Data diperoleh dengan cara:

- a. Dilakukan pengujian pertumbuhan jamur dengan menggunakan dua media yang berbeda yaitu media SDA dan media PDA pada variasi suhu 30⁰C, 31⁰C, 32⁰C, 33⁰C, 34⁰C, 35⁰C, 36⁰C, dan 37⁰C terhadap pertumbuhan *Malassezia furfur*.
- b. Dilakukan pengukuran pertumbuhan dari masing-masing diameter koloni variasi suhu setelah lima hari pada tiap pengulangan menggunakan alat ukur jangka sorong dalam satuan mm.
- c. Data hasil pengukuran diameter koloni disajikan ke dalam tabel pengamatan.
- d. Dilakukan uji penegasan dari masing-masing media dengan memperhatikan langkah-langkah di bawah ini:
 - 1). Disiapkan 2 kaca objek dan
 - 2). Diambil 1 ose koloni dari media SDA dan 1 ose koloni dari media PDA
 - 3). Dilakukan pewarnaan dengan meneteskan LPCB pada koloni yang telah disiapkan kemudian ditutup dengan kaca penutup (hindari jangan sampai ada gelembung udara).
 - 4). Kemudian di amati morfologi *Malassezia Furfur* dibawah mikroskop dimulai dari perbesaran rendah 100x sampai perbesaran kuat 400x.

2. Analisis Data

Analisa data yang digunakan adalah analisis data bivariante.

Analisa data bivariante dilakukan dengan cara membandingkan luas diameter koloni yang telah didapatkan rata-ratanya untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan signifikan antara media SDA dengan media PDA dalam pertumbuhan *Malassezia Furfur* dengan membandingkan nilai F table dan hitung menggunakan uji ANOVA. Jika F hitung > F tabel maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan taraf kesalahan 5%.

Tabel 3.2 Pengamatan Pengulangan Setelah 5 Hari

Media	Suhu	Diameter Koloni (mm)		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
SDA	30 ⁰ C			
	31 ⁰ C			
	32 ⁰ C			
	33 ⁰ C			
	34 ⁰ C			
	35 ⁰ C			
	36 ⁰ C			
	37 ⁰ C			
Rata-Rata				
PDA	30 ⁰ C			
	31 ⁰ C			
	32 ⁰ C			
	33 ⁰ C			
	34 ⁰ C			
	35 ⁰ C			
	36 ⁰ C			
	37 ⁰ C			
Rata-Rata				

G. *Ethical Clearance*

Penelitian yang dilakukan atas izin komisi etik, penelitian ini tidak akan menimbulkan bahaya bagi lingkungan, limbah yang dihasilkan dari proses penelitian ini akan dikumpulkan dan dimusnahkan dalam penanganan limbah dikarenakan limbah larutan tidak membahayakan lingkungan. Limbah media plate serta limbah suspensi jamur *Malassezia furfur* pada tabung dimusnahkan dengan cara perebusan pada suhu 100⁰C selama 30 menit, limbah suspensi jamur *Malassezia furfur* yang telah direbus dibuang pada saluran pembuangan, lalu plate dan tabung direbus kembali dengan penambahan detergen, media cawan petri dan tabung dibuang pada saluran pembuangan, plate dan tabung dicuci menggunakan detergen pada air mengalir.