

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimen dengan desain penelitian yaitu *Statistic Grup Comparison*, peneliti melakukan kegiatan pengumpulan data berdasarkan hasil pengamatan, kepustakaan, dan dokumentasi dari setiap proses penelitian yang dilakukan. Terdapat dua variabel yaitu variabel bebas berupa media jagung manis (*Zea mays L.*) dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dan variabel terikat berupa pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus*. Sebagai kontrol adalah media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Pemeriksaan menggunakan metode *single dot* dengan melihat luasnya diameter koloni pada media. Pengulangan dilakukan sebanyak 5 kali yang di dapatkan dari perhitungan menggunakan rumus, yaitu  $(t-1)(r-1) \geq 15$ .

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

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

#### **C. Subyek Penelitian**

Subyek penelitian ini adalah media pertumbuhan jamur. Media yang digunakan yaitu media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan media dari jagung manis (*Zea mays L.*).

Media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang digunakan untuk penelitian ini adalah media PDA (*Potato Dextrose Agar*) instan MERCK dengan nomor katalog 1.10130.0500. Sedangkan media alternatif yang digunakan adalah media yang berasal dari jagung manis (*Zea mays L.*). Jagung manis (*Zea mays L.*) yang dipilih adalah jagung dengan kualitas yang baik, biji utuh dan tidak berulat (Nuryati, 2017). Jagung manis dijadikan tepung lalu dibuat media dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%. Jamur *Apergillus flavus* di dapatkan dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran di Universitas Indonesia.

## D. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No	Variable	Definisi	Cara ukur	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
1.	Variabel bebas					
	a. Media PDA	Media untuk pertumbuhan jamur <i>Aspergillus flavus</i> .	Penimbangan	Neraca	Media dalam %	Ratio
	b. Media alternatif dari Jagung manis	Media dibuat tepung ditambahkan dextrose dan agar dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%	Penimbangan	Neraca	Media dalam %	Ratio
2.	Variabel terikat					
	Pertumbuhan <i>Aspergillus flavus</i>	Luas diameter koloni jamur <i>Aspergillus flavus</i> yang tumbuh pada media jagung manis ( <i>Zea mays L.</i> )	Diukur diameter pertumbuhan koloni <i>Aspergillus flavus</i>	Jangka Sorong	Radius Koloni (mm)	Ratio

## E. Pengumpulan 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 menggunakan rumus rederer (1963) dalam (Irmawartini dan Nurhaedah, 2017).

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

Keterangan:  
 t : treatment (perlakuan)  
 r : replikasi (pengulangan)

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

$$(5-1) (r-1) \geq 15$$

$$(4) (r-1) \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$r \geq 19/4$$

$$r \geq 4,7$$

$$r \geq 5$$

d. Identifikasi strain jamur *Aspergillus flavus*

- 1) Strain jamur *Aspergillus flavus* diinokulasi pada media PDA secara aseptik dengan cara metode single dot kemudian inkubasi di inkubator 1 x 24 jam pada suhu 37°C.
- 2) Diambil 1 ose koloni dari media PDA
- 3) Dilakukan pewarnaan dengan meneteskan LPCB (*Lactophenol Cotton Blue*) pada koloni yang telah disiapkan kemudian ditutup dengan kaca penutup (hindari jangan sampai ada gelembung udara).
- 4) Kemudian di amati morfologi *Aspergillus flavus* dibawah mikroskop dimulai dari perbesaran rendah (10x10) sampaai perbesaran tinggi (10x100).

2. Prosedur Pemeriksaan

a. Alat

Autoklaf, Alumunium foil, Batang pengaduk, Cawan petri, Corong glass, Erlenmeyer 250ml, Beaker glass 250ml, Gelas ukur 100ml, pipet ukur, Blender, Hotplate, Indikator universal, Inkubator, Jangka sorong, Objek glass, Deck glass, Kain kasa, Kapas, Kertas kopi, Lakban, Lampu spritus, Mikroskop, Neraca elektrik, Oven, Ose jarum, Spidol, dan Label.

b. Bahan

Strain *Aspergillus flavus*, Media PDA (*Potato Dextrose Agar*) (MER 1.10130.0500), Tepung Jagung manis (*Zea mays L.*), dextrose, agar batang, LPCB (*Lactophenol Cotton Blue*), antibiotik chloramphenicol, Aquades.

3. Metode Pemeriksaan

Metode single dot.

4. Prinsip Pemeriksaan

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 keringkan, kemudian dibungkus dengan kertas kopi, lalu disterilisasikan dalam oven pada suhu 160°C selama 60 menit (Soemarno, 2000).

### b. Pembuatan media alternatif Jagung Manis (*Zea mays L.*)

- 1) Disiapkan 1 buah gelas ukur 250 ml dan 1 buah Erlenmeyer 250 ml
- 2) Dicuci Jagung manis sebanyak 200 gram, lalu dikeringkan diatas sinar matahari sampai benar-benar kering.
- 3) Kemudian jagung manis digiling sampai halus menggunakan blender, lalu di ayak.
- 4) Jagung manis yang telah di ayak ditimbang sebanyak konsentrasi 5% (0,48 gram), konsentrasi 10% (0,97 gram), konsentrasi 15% (1,46 gram), konsentrasi 20% ( 1,95 gram), konsentrasi 25% (2,43 gram), masing-masing dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml.
- 5) Kemudian masing-masing ditambahkan agar agar dan dextrose konsentrasi 5% (agar(4,85 gram), dextrose (4,42 gram)), konsentrasi 10% (agar (4,42 gram), dextrose (4,36 gram)), konsentrasi 15% (agar (3,99 gram), dextrose (4,3 gram)), konsentrasi 20% (agar (3,57 gram), dextrose (4,23 gram)), konsentrasi 25% (agar (3,15 gram), dextrose (4,17 gram)).
- 6) Ditambahkan aquades sebanyak 250 ml, lalu direbus di atas hotplate hingga mendidih.
- 7) 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  $pH \pm 5,5$ .
- 8) Dipanaskan kembali hingga homogen, lalu diangkat dan Erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kapas yang telah dibungkus alumunium foil.
- 9) Media sterilisasi basah dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 10) Didiamkan hingga suhu turun lalu ditambahkan antibiotik kloramfenikol sebanyak 2 ml, kemudian di homogenkan.

11) Media Jagung manis dituangkan ke dalam cawan petri steril masing-masing 15-20 ml secara aseptis, didiamkan hingga beku.

c. Pembuatan media PDA

- 1) Ditimbang sebanyak 9,75 gram bubuk media PDA masukkan ke dalam erlenmeyer.
- 2) Kemudian ditambahkan 250 ml aquades.
- 3) Media dipanaskan sampai mendidih agar tercampur dengan sempurna selama 1 menit.
- 4) Disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C, tekanan 1-2 atm.
- 5) Larutan didiamkan hingga suhu turun, lalu ditambahkan antibiotik chloramphenicol 2 ml, kemudian dihomogenkan.
- 6) Dituangkan 10-20 ml media PDA ke dalam cawan petri steril secara aseptis dan homogenkan.

(Sumber: Safitri dan Novel, 2010)

d. Uji penelitian

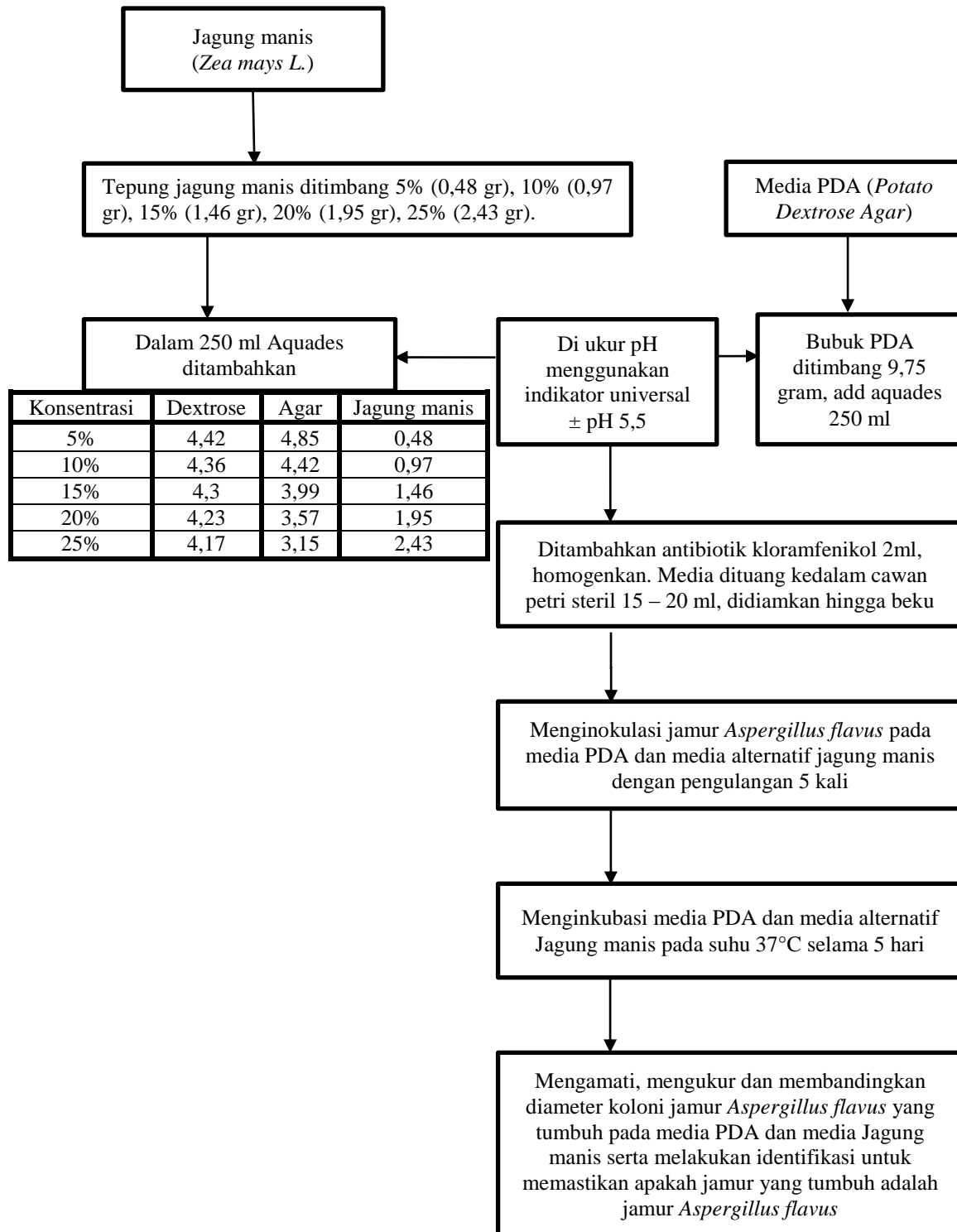
- 1) Jamur *Aspergillus flavus* diinokulasi pada media alternatif jagung manis dan media PDA secara aseptik dengan cara metode single dot kemudian inkubasi di inkubator pada suhu 37°C.
- 2) Besarnya diameter koloni jamur *Aspergillus flavus* pada media PDA dan media alternatif jagung manis dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, diukur menggunakan jangka sorong setiap 24 jam selama 5 hari.

e. Uji penegasan

- 1) Disiapkan 2 objek glass.
- 2) Diambil 1 ose koloni dari media jagung manis 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 diamati morfologi *Aspergillus flavus* dibawah mikroskop dimulai dari perbesaran rendah (10x10) sampai perbesaran tinggi (10x100).

(Sumber : Tim Bakteriologi Balai Veteran Lampung, 2014)

## f. Skema kerja



## F. Pengolahan dan Analisis Data

## 1. Pengolahan Data

Data diperoleh dengan cara :

- a. Diameter koloni dihitung dalam satuan mm.
- b. Diameter koloni ditentukan selama lima hari dari pertumbuhan 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 di cawan petri masing – masing dengan menggunakan jangka sorong.
- d. Dihitung rata – rata diameter koloni per cawan petri pada pengulangan 1 – 5.

## 2. Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah analisis data univariat dan bivariat.

- a. Analisis data univariat data yang berupa diameter koloni pertumbuhan *Aspergillus flavus* terhadap variasi konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dan PDA (*Potato Dextrose Agar*) dengan pengulangan sebanyak 5 kali kemudian di akumulasikan dan dihitung rata – ratanya.
- b. Analisis data bivariat data yang berupa hasil rata – rata diameter koloni yang di analisis dengan uji *One Way Anova*. Apabila ada perbedaan yang signifikan rata-rata diameter koloni, maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan taraf kesalahan 5%.

### **G. Ethical Clearance**

Penelitian yang dilakukan atas izin komisi etik pada tanggal 12 Mei 2022 sampai dengan tanggal 12 Mei 2023, sehingga perlu dilakukan proses telaah 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 PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan Jagung manis (*Zea mays L.*) maupun sisa dari perebusan pembuatan media tersebut ditangani dengan cara langsung di buang pada saluran pembuangan, dikarenakan limbah larutan tidak membahayakan lingkungan. Limbah media plate PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan media Jagung manis (*Zea mays L.*) setelah dilakukan pengamatan selama 5 hari serta limbah suspense jamur *Aspergillus flavus* pada tabung dimusnahkan dengan cara perebusan pada suhu 100°C selama 30 menit, air bekas rebusan limbah media plate dan suspense jamur *Aspergillus flavus* dibuang pada saluran pembuangan, lalu plate dan tabung sehabis penelitian dicuci menggunakan detergen pada air mengalir