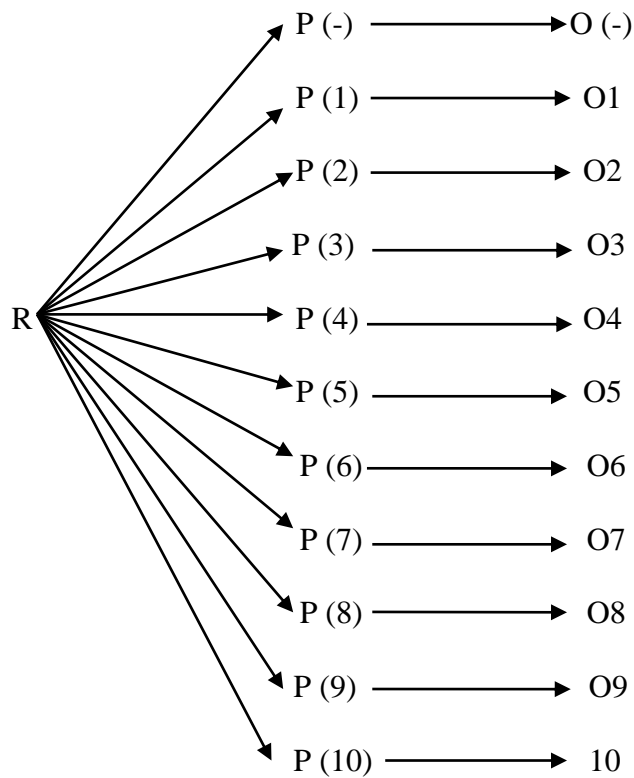


BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi perasan jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) terhadap pertumbuhan jamur *Trichopyton rubrum*. Maka rancangan penelitian sebagai berikut:



Gambar 3.1 Rancangan penelitian (Zainuddin, 2006)

Keterangan :

R : Random

P (-) : Perlakuan tanpa diberi perasan jahe

- P (1) : Perlakuan untuk konsentrasi perasan jahe 100%
- P (2) : Perlakuan untuk konsentrasi perasan jahe 90%
- P (3) : Perlakuan untuk konsentrasi perasan jahe 80%
- P (4) : Perlakuan untuk konsentrasi perasan jahe 70%
- P (5) : Perlakuan untuk konsentrasi perasan jahe 60%
- P (6) : Perlakuan untuk konsentrasi perasan jahe 50%
- P (7) : Perlakuan untuk konsentrasi perasan jahe 40%
- P (8) : Perlakuan untuk konsentrasi perasan jahe 30%
- P (9) : Perlakuan untuk konsentrasi perasan jahe 20%
- P (10) : Perlakuan untuk konsentrasi perasan jahe 10%
- O (-) : Observasi setelah perlakuan kontrol
- O (1) : Observasi setelah perlakuan konsentrasi perasan jahe 100%
- O (2) : Observasi setelah perlakuan konsentrasi perasan jahe 90%
- O (3) : Observasi setelah perlakuan konsentrasi perasan jahe 80%
- O (4) : Observasi setelah perlakuan perasan konsentrasi jahe 70%
- O (5) : Observasi setelah perlakuan perasan konsentrasi jahe 60%
- O (6) : Observasi setelah perlakuan perasan konsentrasi jahe 50%
- O (7) : Observasi setelah perlakuan perasan konsentrasi jahe 40%
- O (8) : Observasi setelah perlakuan perasan konsentrasi jahe 30%
- O (9) : Observasi setelah perlakuan perasan konsentrasi jahe 20%
- O (10) : Observasi setelah perlakuan perasan konsentrasi jahe 10%

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah dari biakan murni *Trichopyton rubrum* yang telah tumbuh pada media *Potato Dextrose Agar (PDA)*.

3.2.2. Sampel Penelitian

Sampel untuk penelitian adalah biakan murni dari *Trichopyton rubrum* yang telah diisolasi di media *Potato Dextrose Agar (PDA)*. Berdasarkan rumus Hidayat, (2010) sampel yang dibuat bermacam – macam konsentrasi, kemudian ditentukan sebagai berikut :

$$(n-1) (K-1) \geq 15$$

$$(n-1) (11-1) \geq 15$$

$$(n-1) (10) \geq 15$$

$$6n - 10 \geq 15$$

$$6n \geq 15 + 10$$

$$6n \geq 25$$

$$6n \geq 25 / 10 = 2,5$$

$$n \sim 3$$

Keterangan :

n : Jumlah ulangan atau jumlah sampel

k : Jumlah kelompok sehingga seluruhnya terdapat 33 unit percobaan.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1 Tempat Penelitian

Sampel diperoleh dengan cara membeli biakan murni *Trichopyton rubrum* di RSPTI (Research Hospital Of Tropical Infection Diseases) Jl. Mulyorejo Campus C Unair, Surabaya 60115.

Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Terpadu Mikrobiologi Balai Riset dan Standarisasi Industri Surabaya (BARISTAN) Jl Ketintang Baru Gg 17 No.14 Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai dengan bulan Juli 2013.

3.3.3 Waktu Pemeriksaan

Waktu pemeriksaan dilaksanakan pada bulan Mei 2013.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini adalah :

1. Variabel Bebas : Konsentrasi Perasan Jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*)
2. Variabel Terikat : Pertumbuhan jamur *Trichopyton rubrum*
3. Variabel Kontrol : Suhu, waktu inkubasi.

3.4.2 Definisi operasional variabel

1. Konsentrasi Perasan Jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) adalah berat konsentrasi perasan Jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) per volume aquadest (dalam %), dimana konsentrasinya 100% 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%.
2. Pertumbuhan jamur *Trichopyton rubrum* adalah jumlah koloni *Trichopyton rubrum* yang tumbuh setelah 1 – 2 hari setelah diberi perlakuan dan tumbuh pada media *Potato Dextrtose Agar (PDA)*.

3.5 Metode Pengumpulan Data

Data diperoleh dengan cara uji Laboratorium pertumbuhan koloni jamur *Trichopyton rubrum* terhadap pemberian konsentrasi perasan jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) dengan konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%. Adapun langkah-langkah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.5.1 Bahan Penelitian

Bahan – bahan penelitian adalah sebagai berikut:

1. Spesimen yang digunakan adalah perasan jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) yang memenuhi syarat (tidak busuk, dan segar,). Media *Potato Dextrose Agar (PDA)*.
2. Larutan standart Mac Farland 0,5.
3. Biakan murni jamur *Trichopyton rubrum*.
4. PZ atau Nacl 0,85% steril.
5. Aquades steril.

3.5.2 Alat yang di gunakan adalah:

Pertridish, Tabung reaksi, Pipet ukur, Rak tabung, Ose bulat, Inkubator, Filler, Autoclave, Kapas berlemak, Bunsen, Kaki tiga dan kawat kasa, Alat perhitungan koloni (Colony conuter)

3.5.3 Prosedur Penelitian

- 1) Sterilisasi alat yang digunakan, sejumlah alat dan media yang akan digunakan dalam penelitian sebelumnya disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

2) Penyiapan suspensi jamur

Prosedur :

1) Cara pembuatan standart Mac Farland :

1. Disediakan tabung reaksi yang bersih dan baru.
2. Pipet dan masukkan 0,5 ml Barium Klorida (BaCl_2) 1% kedalam tabung reaksi tersebut.
3. Tambahkan 99,5 ml Asam Sulfat (H_2SO_4) 1% kedalam tabung yang telah berisi 0,5 ml Barium Klorida (BaCl_2) 1%
4. Dicampur kedua larutan dalam tabung tersebut sehingga didapatkan standart Mac Farland 0,5 dan sama dengan jumlah spora $1,5 \times 10^8$ /ml

- 2) Cara pembuatan suspensi jamur *Trichopyton rubrum* menggunakan satandard Mac Farland 0,5 = jumlah spora $1,5 \times 10^8$ /ml: Dalam biakan murni jamur *Trichopyton rubrum* diambil dengan satu mata ase bulat, kemudian pindahkan kedalam tabung reaksi 10 ml PZ atau (NaCl 0,85 – 0,9%) yang steril, homogenkan dan bandingkan dengan standart Mac Farland 0,5. Bila didapatkan kekeruhan suspensi jamur *Trichopyton rubrum* yang melebihi standart Mac Farland 0,5 maka tambahkan PZ atau NaCl 0,85 – 0,9% steril, dan apabila kekeruhan yang diperoleh masih kurang dari standart Mac Farland 0,5 maka tambahkan denga kultur murni jamur *Trichopyton rubrum*. Lakukan hal tersebut sampai didapatkan suspensi jamur *Trichopyton rubrum* yang sesuai dengan standart Mac Farland 0,5.

- 3) Pembuatan spesimen (perasan jahe putih). Teknik pengolahan jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:
 1. Sebelum melakukan pembuatan perasan jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*), semua peralatan yang akan digunakan dalam pembuatan harus disterilkan dahulu.
 2. Kemudian Jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) ditimbang sebanyak 100 gram Setelah itu jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) dicuci dengan air bersih terlebih dahulu 3 kali dengan tujuan untuk membersihkan kotoran yang melekat, yang berupa sisa tanah.
 3. Setelah melakukan pencucian selanjutnya adalah perajangan dengan menggunakan pisau yang tajam.
 4. Kemudian jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) dimasukkan kedalam blender tanpa di tambah aquades kemudian diblender (Untuk mendapatkan konsentrasi jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) 100% kemudian di saring, Kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer steril melalui saringan maka didapat sari perasan jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*).
- 4) Melakukan uji sterilisasi specimen. Hasil perasan jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) dilakukan uji sterilisasi dengan mengkulturkan pada media *Potato Dextrose Agar (PDA)* plate dan di inkubasi 37⁰C selama 2 x 24 jam. Apabila tidak terdapat pertumbuhan jamur maka

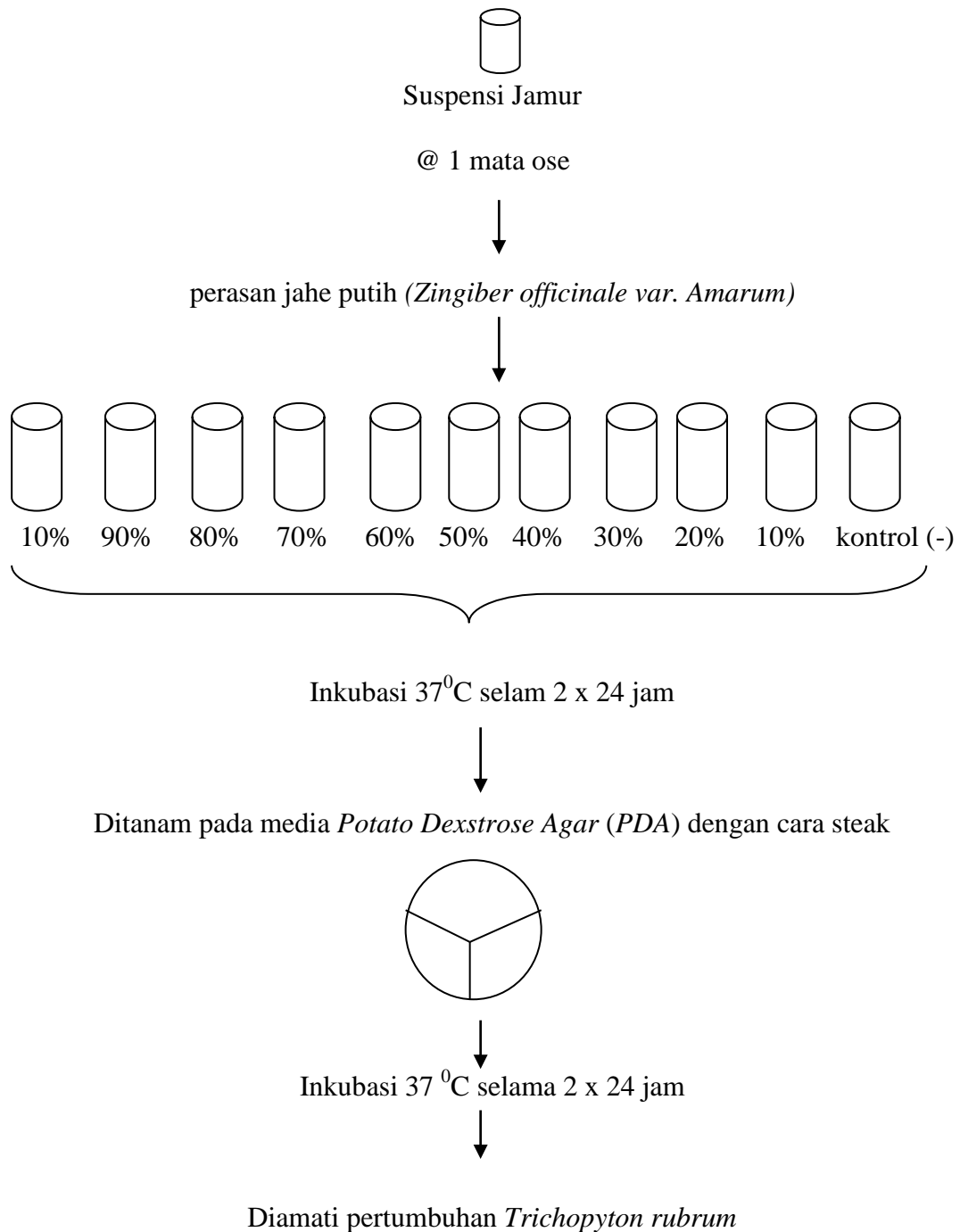
sampel perasan jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) dinyatakan steril.

5) Uji Daya Hambat

1. Menyiapkan 33 tabung reaksi.
2. Membuat deret konsentrasi perasan jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) dan kontrol :
3. Konsentrasi 100 % = Diperoleh murni dari perasan jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*)
4. Konsentrasi 90 % = 90 ml perasan jahe 100% + 10 ml aquades steril
5. Konsentrasi 80 % = 80 ml perasan jahe 100% + 20 ml aquades steril
6. Konsentrasi 70 % = 70 ml perasan jahe 100% + 30 ml aquades steril
7. Konsentrasi 60 % = 60 ml perasan jahe 100% + 40 ml aquades steril
8. Konsentrasi 50 % = 50 % perasan jahe 100% + 50 ml aquades steril
9. Konsentrasi 40 % = 40 % perasan jahe 100% + 60 ml aquades steril
10. Konsentrasi 30 % = 30 % perasan jahe 100% + 70 ml aquades steril
11. Konsentrasi 20 % = 20 % perasan jahe 100% + 80 ml aquades steril
12. Konsentrasi 10 % = 10 % perasan jahe 100% + 90 ml aquades steril
13. Mencampur masing – masing konsentrasi perasan jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) tersebut dengan 1 mata ose suspensi jamur *Trichopyton rubrum* setara Mc Farland 0,5 pada masing – masing konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dengan cara yang sama.

14. Tabung kontrol negatif (-) diisi dengan PZ steril sebanyak 1 ml dan ditambahkan 1 mata ose suspensi jamur *Trichopyton rubrum* setara Mc Farland 0,5.
15. Inkubasi semua tabung reaksi pada suhu 37⁰C selama 2 x 24 jam dalam inkubator.
16. Penilaian biakan jamur dilakukan bila kontrol negatif (-) menjadi keruh.
17. Pertumbuhannya dilanjutkan dengan menanam kembali 1 mata ose pada media *Potato Dextrose Agar (PDA)* dan inkubasi pada suhu 37⁰C selama 2 x 24 jam dalam inkubator. Hal ini diperlakukan sama pada semua konsentrasi.
18. Catat pertumbuhan koloni jamur pada setiap cawan petri.
19. Hitung pertumbuhan koloni jamur.

Skema Kerja dalam penelitian ini di sajikan dalam gambar 3.1 sebagai berikut :



Gambar 3.1 Skema Kerja Pertumbuhan Jamur

3.5.4 Interpretasi Hasil

Konsentrasi terendah pada biakan yang ditanam pada media *Potato Dextrose Agar (PDA)* dan masih dapat menghambat pertumbuhan jamur *Trichopyton rubrum* merupakan Kadar Hambat Minimal konsentrasi perasan jahe terhadap pertumbuhan jamur *Trichopyton rubrum*

3.6 Metode Analisa Data

Data diperoleh dari jumlah koloni jamur *Trichopyton rubrum* yang tumbuh pada media *Potato Dextrose Agar (PDA)* yang telah diinkubasi selama 2 sampai 3 hari setelah diberi perlakuan dengan Perasan Jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*), yang kemudian hasil data ditabulasikan kedalam tabel sebagai berikut :

Tabel 3.1 Contoh Tabel Hasil Penelitian Pengaruh Konsentrasi Perasan Jahe putih (*Zingiber officinale var. amarum*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Trichopyton rubrum*

Pengulangan	Jumlah koloni <i>Trichopyton rubrum</i> yang tumbuh pada media <i>Potato Dextrose Agar (PDA)</i>										
	100 %	90 %	80 %	70 %	60 %	50 %	40 %	30 %	20 %	10 %	Kontrol (-)
1											
2											
3											

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh konsentrasi perasan jahe terhadap pertumbuhan jamur *Trichopyton rubrum*, maka digunakan uji Analisis Varians (Anova) dengan taraf signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$).