

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *Pre-experiment* dan bukan merupakan eksperimen sesungguhnya, karena masih terdapat variabel luar yang ikut berpengaruh terhadap terbentuknya variabel dependen (terikat). Jadi hasil eksperimen yang merupakan variabel dependen itu bukan semata-mata dipengaruhi oleh variabel independen (Sugiyono, 2016).

2. Desain Penelitian

Desain penelitian ini menggunakan *Intact-Group Comparison*. Desain penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Desain Penelitian *Intact-Group Comparison*

Perlakuan	Post-test
X ₁	O ₁
X ₂	O ₂
X ₃	O ₃

Sumber: Sugiyono, 2016

Keterangan :

X₁ : Perlakuan penggunaan kondensat AC dalam pelarut media PDA

X₂ : Perlakuan penggunaan air minum kemasan dalam pelarut media PDA

X₃ : Perlakuan penggunaan akuades dalam pelarut media PDA

O₁ : Pengukuran diameter pertumbuhan *Trichophyton rubrum* pada

media PDA yang dilarutkan dengan kondensat AC

O₂ : Pengukuran diameter pertumbuhan *Trichophyton rubrum* pada media PDA yang dilarutkan dengan air minum kemasan

O₃ : Pengukuran diameter pertumbuhan *Trichophyton rubrum* pada media PDA yang dilarutkan dengan akuades

Hanafiah (2014) menyatakan bahwa untuk meningkatkan kepercayaan pada hasil penelitian, diperlukan beberapa kali pengulangan. Jumlah minimum pengulangan dalam penelitian ini dapat diestimasi dengan rumus Federer untuk menentukan pengulangan. Rumus Federer (dalam Hanafiah, 2014) yang akan digunakan adalah sebagai berikut:

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

Keterangan :

t : jumlah perlakuan

r : jumlah pengulangan

15 : derajat kebebasan umum

Perhitungan yang telah dilakukan dengan rumus Federer yang telah disampaikan sebelumnya, jumlah minimum pengulangan yang akan diaplikasikan dalam penelitian ini adalah:

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

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

$$(3 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$2(r - 1) \geq 15$$

$$r - 1 \geq \frac{15}{2}$$

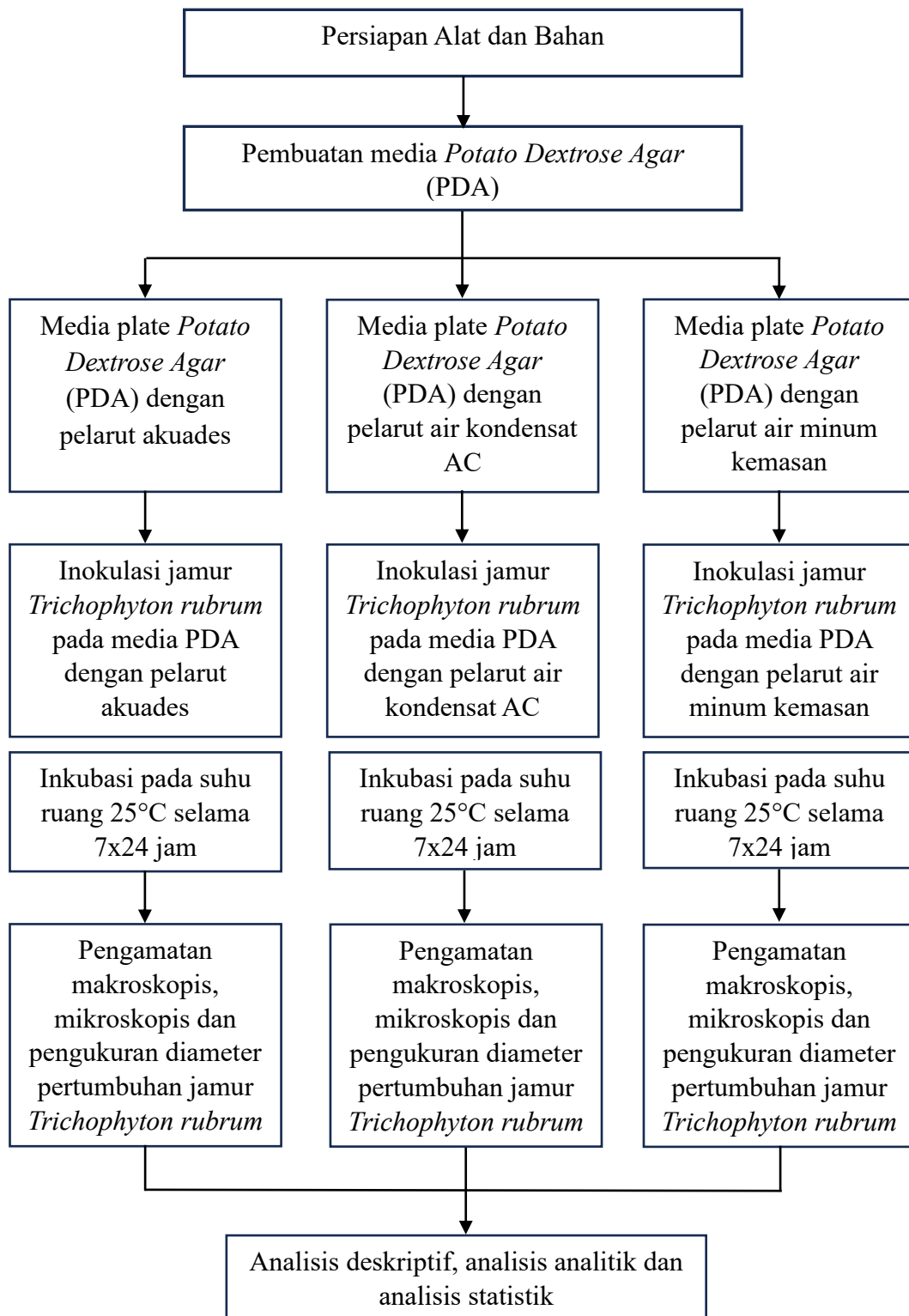
$$r - 1 \geq 7,5$$

$$r \geq 8,5 \approx 9$$

Berdasarkan hasil perhitungan di atas, jumlah minimal pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah 9 kali. Dengan demikian, akan diperoleh 27 data dari kelompok eksperimen dan kelompok kontrol.

B. Alur Penelitian

Alur penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Alur Penelitian

A. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah jamur *Trichophyton rubrum* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

2. Objek Penelitian

Objek pada penelitian ini adalah media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang digunakan untuk menumbuhkan jamur serta kondensat AC dan air minum kemasan yang digunakan sebagai pelarut media PDA untuk pertumbuhan jamur *Trichophyton rubrum*.

B. Waktu dan Tempat

1. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 26 Februari – 24 Maret 2025.

2. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang dilarutkan menggunakan akuades, kondensat AC dan air minum kemasan.

2. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter pertumbuhan jamur

Trichophyton rubrum.

3. Variabel pengganggu

Variabel pengganggu pada penelitian ini adalah kelembaban, suhu dan pH.

D. Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Skala Ukur
Diameter pertumbuhan jamur	Diameter koloni jamur <i>Trichophyton rubrum</i> yang tumbuh pada media PDA setelah diinkubasi diukur dalam satuan panjang (mm)	Diameter koloni (mm) diukur menggunakan jangka sorong	Rasio
Media PDA	Media pertumbuhan untuk jamur yang terbuat dari kentang, <i>dextrosa</i> , agar dan dilengkapi dengan pelarut	Media dibuat menggunakan standar prosedur laboratorium	Nominal
Pelarut akuades	Air murni yang tidak memiliki kandungan kation atau anion serta memiliki pH yang netral	Akuades digunakan untuk melarutkan media PDA	Nominal
Pelarut kondensat AC	Cairan hasil kondensasi dari AC yang tidak memiliki kandungan kation atau anion serta memiliki pH yang netral	Mengumpulkan kondensat AC dan menyimpannya dalam wadah steril lalu digunakan untuk melarutkan media PDA	Nominal
Pelarut air minum kemasan	Air baku yang telah diproses dan dikemas dengan aman untuk dikonsumsi	Menggunakan air minum kemasan yang sudah terverifikasi lalu digunakan untuk melarutkan media PDA	Nominal

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Pengumpulan Data

Jenis pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer. Data primer adalah data yang diperoleh atau dikumpulkan oleh peneliti secara langsung dari sumber datanya (Siyoto, 2015). Adapun cara pengumpulan data ini melalui pengamatan oleh peneliti di Laboratorium Mikologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

2. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data adalah cara-cara yang dapat digunakan oleh peneliti untuk mengumpulkan data (Arikunto, 2016). Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengukuran diameter pertumbuhan, pengamatan makroskopis dan mikroskopis jamur *Trichophyton rubrum* pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang dilarutkan dengan kondensat AC, air minum kemasan dan akuades.

F. Instrumen dan Bahan Penelitian

1. Instrumen

- a. Autoklaf
- b. Neraca
- c. Kompor Listrik
- d. Oven
- e. Jangka sorong
- f. Cawan petri *disposable*

- g. Gelas ukur
 - h. Labu erlenmeyer
 - i. Gelas kimia
 - j. Ose jarum
 - k. *Object glass*
 - l. *Cover glass*
 - m. Tabung reaksi
 - n. Bunsen
 - o. Kapas
 - p. Kertas
 - q. pH strip
2. Bahan
- a. *Potato Dextrose Agar* (PDA)
 - b. Kultur jamur *Trichophyton rubrum*
 - c. Larutan NaCl 0,85%
 - d. Larutan pewarna *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB) 1%
 - e. Akuades
 - f. Kondensat AC
 - g. Air minum kemasan
 - h. Standar kekeruhan 0,5 Mc Farland (0,05 ml BaCl₂ 1% dan 9,95 ml H₂SO₄ 1%)

G. Prosedur

Prosedur penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Tahap Persiapan

a. Kaji Etik

Pengajuan kaji etik untuk mendapatkan surat layak etik dari Komisi Etik Penelitian Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta.

b. Perizinan

Peneliti melakukan pengajuan perizinan kepada pengelola untuk menggunakan Laboratorium Mikologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

c. Sterilisasi Alat (Azizah, Lingga dan Rikmasari, 2020)

Peralatan yang akan digunakan dicuci bersih terlebih dahulu dan dibungkus seluruh permukaannya dengan kertas kemudian alat disterilkan dengan cara dimasukkan ke dalam oven pada suhu 180°C selama 1 jam.

a. Penampungan Air Kondensat AC

Air kondensat AC ditampung ke dalam botol kaca dari beberapa titik AC yang ada di Kampus Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

b. Pembuatan NaCl 0,85% (Safitri dan Qurrohman, 2022)

- 1) NaCl ditimbang sebanyak 0,85 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer
- 2) NaCl dilarutkan dengan akuades sampai mencapai volume 100 ml
- 3) Larutan NaCl 0,85% disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

c. Pembuatan standar kekeruhan Mc Farland 0,5 unit (Safitri dan Qurrohman, 2022)

1) Larutan BaCl_2 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 gram BaCl_2 ke dalam 100 ml akuades

2) Larutan H_2SO_4 1% dibuat dengan cara 1,03 ml H_2SO_4 97% dilarutkan ke dalam 98,97 ml akuades

3) Larutan BaCl_2 1% sebanyak 0,05 ml dicampurkan dengan larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 ml ke dalam tabung reaksi hingga homogen.

d. Peremajaan jamur *Trichophyton rubrum* (Yastanto, 2019)

Biakan jamur *Trichophyton rubrum* diinokulasikan pada media miring *Potato Dextrose Agar* (PDA) sebanyak 5 ml pada tabung reaksi dan diinkubasi selama 7 hari pada inkubator.

e. Pembuatan suspensi jamur *Trichophyton rubrum* (Safitri dan Qurrohman, 2022)

Jamur yang telah diremajakan dalam media miring disuspensikan ke dalam 5 ml NaCl 0,85% steril lalu dihomogenkan.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Pembuatan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) berdasarkan *technical data sheet* PDA Merck dengan pelarut akuades

1) *Potato Dextrose Agar* (PDA) ditimbang sebanyak 3,9 gram dan dimasukkan ke labu erlenmeyer

2) Akuades dimasukkan sebanyak 100 ml menggunakan gelas ukur

- 3) Larutan dipanaskan di atas kompor listrik sambil diaduk hingga homogen
 - 4) Larutan disterilkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit
 - 5) Larutan dituang ke dalam cawan petri sebanyak 10 ml secara aseptis
- b. Pembuatan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) berdasarkan *technical data sheet* PDA Merck dengan pelarut kondensat AC
- 1) *Potato Dextrose Agar* (PDA) ditimbang sebanyak 3,9 gram dan dimasukkan ke labu erlenmeyer
 - 2) Air kondensat AC yang sudah disaring dimasukkan sebanyak 100 ml menggunakan gelas ukur
 - 3) Larutan dipanaskan di atas kompor listrik sambil diaduk hingga homogen
 - 4) Larutan disterilkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit
 - 5) Larutan dituang ke dalam cawan petri sebanyak 10 ml secara aseptis
- c. Pembuatan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) berdasarkan *technical data sheet* PDA Merck dengan pelarut air minum kemasan
- 1) *Potato Dextrose Agar* (PDA) ditimbang sebanyak 3,9 gram dan dimasukkan ke labu erlenmeyer
 - 2) Air minum kemasan dimasukkan sebanyak 100 ml menggunakan gelas ukur

- 3) Larutan dipanaskan di atas kompor listrik sambil diaduk hingga homogen
 - 4) Larutan disterilkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit
 - 5) Larutan dituang ke dalam cawan petri sebanyak 10 ml secara aseptis
- d. Jamur *Trichophyton rubrum* diinokulasi pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang dilarutkan dengan akuades, kondensat AC dan air minum kemasan (Hartini dkk., 2023)
- 1) Koloni *Trichophyton rubrum* diambil dari suspensi yang telah dibuat menggunakan ose jarum yang telah dipijarkan pada api bunsen
 - 2) Suspensi jamur diinokulasikan menggunakan ose jarum dengan metode *single dot* yaitu ditusuk pada bagian tengah media dengan diameter 1 cm
 - 3) Media diinkubasi pada suhu ruang 25°C selama 7x24 jam
- e. Pengamatan makroskopis dan pengukuran diameter koloni jamur *Trichophyton rubrum*
- 1) Koloni jamur *Trichophyton rubrum* yang tumbuh diamati warna, bentuk, permukaan dan tekstur serta diukur diameternya menggunakan jangka sorong
 - 2) Data diameter yang didapat dimasukkan ke tabel pengamatan
- f. Pengamatan mikroskopis koloni jamur *Trichophyton rubrum* (IKAPI, 2015)

- 1) Pewarna *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB) 1% ditetaskan pada *object glass*
- 2) Koloni jamur *Trichophyton rubrum* dari media diambil menggunakan ose yang telah dipijarkan pada api bunsen
- 3) Koloni jamur dicampur pada *object glass* lalu ditutup dengan *cover glass*
- 4) *Object glass* diamati menggunakan mikroskop perbesaran objektif 40x. Diamati bentuk hifa, spora (makrokonidia dan mikrokonidia) serta formasinya.

H. Manajemen Data

1. Analisis Deskriptif

Analisis deskriptif yang dilakukan meliputi hasil pengamatan makroskopis, mikroskopis dan perhitungan rerata diameter pertumbuhan jamur *Trichophyton rubrum* dengan pengulangan 9 kali masing-masing pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang dilarutkan dengan kondensat AC dan akuades sehingga didapatkan 27 data.

2. Analisis Analitik

Analisis analitik yang dilakukan dalam penelitian ini tujuannya untuk mengukur dan membandingkan diameter pertumbuhan jamur *Trichophyton rubrum* yang ditumbuhkan pada media PDA yang dilarutkan menggunakan dua jenis pelarut yaitu kondensat AC dan air minum kemasan dibandingkan dengan media PDA yang dilarutkan dengan akuades.

Perhitungan untuk membandingkan diameter pertumbuhan jamur *Trichophyton rubrum* yang dilarutkan dengan pelarut yang berbeda ini dilakukan menggunakan rumus selisih. Berikut adalah rumusnya:

Selisih diameter	=	$\Delta_{XY} = D_X - D_Y$ $\Delta_{XZ} = D_X - D_Z$ $\Delta_{YZ} = D_Y - D_Z$ $\text{Rata-rata selisih diameter} = \frac{\Delta_{XY} + \Delta_{XZ} + \Delta_{YZ}}{3}$
------------------	---	---

Keterangan:

D_X : Diameter pertumbuhan jamur dengan pelarut kondensat AC

D_Y : Diameter pertumbuhan jamur dengan pelarut air minum kemasan

D_Z : Diameter pertumbuhan jamur dengan pelarut akuades

Δ_{XY} : Selisih antara diameter pertumbuhan jamur dengan pelarut kondensat AC dan pelarut air minum kemasan

Δ_{XZ} : Selisih antara diameter pertumbuhan jamur dengan pelarut kondensat AC dan pelarut akuades

Δ_{YZ} : Selisih antara diameter pertumbuhan jamur dengan pelarut air minum kemasan dan akuades

3. Analisis Statistik

Data yang diperoleh pada penelitian ini, yaitu hasil pengukuran diameter pertumbuhan jamur *Trichophyton rubrum* pada media PDA menggunakan pelarut kondensat AC, air minum kemasan dan akuades.

Sebelum dilakukan analisis data untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil pengukuran diameter pertumbuhan jamur tersebut, maka terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data menggunakan *SPSS 16.0 for windows* untuk mengetahui jenis uji yang digunakan, apakah parametrik atau non parametrik. Uji normalitas yang digunakan adalah *Shapiro-wilk* (Siyoto, 2015).

Data yang diperoleh dari uji normalitas data untuk mengetahui berdistribusi normal atau tidak berdistribusi normal. Data berdistribusi normal (H_0 diterima) apabila nilai $Sig \geq 0,05$. Data tidak berdistribusi normal apabila nilai $Sig \leq 0,05$. Setelah itu dilakukan juga uji homogenitas (*Homogeneity of Variance*) untuk memeriksa kesamaan varians antara kedua kelompok atau lebih.

Data yang berdistribusi normal dan homogen kemudian akan dilanjutkan dengan uji statistik *One Way Anova*. Sedangkan jika data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, maka akan dilanjutkan dengan uji statistik *Kruskal-Wallis H Test*. Uji statistik ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rerata diameter koloni jamur *Trichophyton rubrum* pada masing-masing *plate* media PDA yang dilarutkan dengan kondensat AC, air minum kemasan dan akuades.

I. Etika Penelitian

Penelitian ini telah memperoleh Surat Persetujuan Etik (*Extemped*) pada tanggal 25 Februari 2025 dengan Nomor DP.04.03/E-KEPK.1/307/2025 dari Komisi Etik Penelitian Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.