# BAB IV
# METODOLOGI PENELITIAN

## A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif adalah penelitian yang diadakan untuk memperoleh fakta-fakta dari gejala-gejala yang ada dan mencari keterangan-keterangan secara faktual dari suatu kelompok ataupun suatu daerah (Sugiyono, 2013).

## B. Tempat dan Waktu Penelitian

### 1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan di kecamatan di Denpasar Selatan, tahap analisis dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar.

### 2. Waktu penelitian

Penelitian ini mulai dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan bulan Juni 2018.

## C. Populasi dan Sampel Penelitian

### 1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh jamu kunyit yang dijual oleh pedagang di kecamatan Denpasar Selatan.

### 2. Besar sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamu kunyit yang dijual oleh pedagang di Denpasar selatan sejumlah 177 botol jamu, jumlah botol

jamu yang akan diambil sebagai sampel adalah 23 botol jamu kunyit, yang didapat dengan cara *cluster sampling*.

**3. Teknik Sampling**

Penelitian ini menggunakan teknik *cluster sampling* yaitu teknik pengambilan sampel penelitian yang diambil berdasarkan kelompok atau gugus (Notoatmodjo, 2012). Jumlah pedagang jamu kunyit yang tersebar di kecamatan Denpasar Selatan adalah 42 pedagang. Untuk mendapatkan sampel yang dapat mencerminkan hasil populasi dari seluruh pedagang tersebut maka dilakukan teknik *two stage cluster sampling.* Pada teknik *two stage cluster sampling* tidak semua unit elementer menjadi psu *(primary sampling unit)*dalam hal ini psu merupakan desa. Pada teknik ini akan ditarik kembali sampel dari tiap-tiap psu dengan menggunakan *random sampling* dan dilakukan dengan cara undian untuk mengetahui desa yang akan digunakan, kemudian dilakukan *sampling fraction* yang berimbang dengan jumlah anggota atau unit elementer dalam tiap psu. Sampling tahap pertama, yaitu memilih psu dari total psu. Kemudian tahap kedua memilih unit elementer dari unit elementer yang ada dalam psu yang terpilih pada sampling tahap pertama (Nazir, 2005).

Tabel 2
Jumlah Pedagang Jamu Kunyit di masing-masing Desa di Kecamatan Denpasar Selatan

| No | Desa/Kelurahan | Total Pedagang Jamu Kunyit | Jumlah Jamu Kunyit yang Dijual (botol) | Cluster Sampling (Jml Pedagang x Fraction 20%) | Total Sampel |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Desa Pamogan | 8 | 35 | 35 x 0,2 | 7 |
| 2 | Desa Sanur Kaja | 1 | 5 | 5 x 0,2 | 1 |
| 3 | Desa Sanur Kauh | 1 | 4 | | |
| 4 | Desa Sidakarya | 7 | 25 | | |
| 5 | Kelurahan Panjer | 4 | 27 | 27 x 0,2 | 5 |
| 6 | Kelurahan Pedungan | 6 | 22 | 22 x 0,2 | 4 |
| 7 | Kelurahan Renon | 8 | 32 | 32 x 0,2 | 6 |
| 8 | Kelurahan Sanur | 0 | | | |
| 9 | Kelurahan Serangan | 0 | | | |
| 10 | Kelurahan Sesetan | 7 | 27 | | |
| | Total | 42 | 177 | | 23 |

Dari 10 desa yang ada di kecamatan Denpasar Selatan dilakukan *sampling fraction* 50% untuk menentukan desa yang akan diambil untuk dijadikan unit elementer, kemudian dilakukan undian untuk memilih lima desa yang akan diambil. Jumlah psu pada sampling pertama adalah lima desa, yaitu Desa Pamogan, Desa Sanur Kaja, Kelurahan Panjer, Kelurahan Pedungan dan Kelurahan Renon dengan total 27 pedagang dengan jumlah botol jamu 121 botol jamu kunyit. Dalam psu yang telah terpilih tidak semua pedagang diambil jamu

kunyitnya sebagai sampel, akan tetapi ditarik kembali sampel pada tahap kedua secara *random* dan difraksi 20%. Jumlah jamu kunyit yang akan digunakan sebagai sampel adalah sebanyak 23 jamu kunyit. Seluruh sampel penelitian harus memenui kriteria sebagai berikut:

a. Kriteria inklusi

1) Jamu kunyit gendong yang dijual dengan kemasan tidak berlabel maupun jamu kunyit dari pedagang yang permanen yang kemasan jamu kunyitnya berlabel.

2) Jamu kunyit yang dijual dengan menggunakan botol.

b. Kriteria eklusi

Jamu kunyit serbuk dan jamu yang dijual dalam kemasan plastik.

## D. Jenis dan Cara Pengumpulan Data

### 1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data Primer

Data primer adalah data yang dikumpulkan oleh peneliti sendiri(Riyanto, 2010). Dalam penelitian ini yang merupakan data primer adalah nilai Angka Kapang Khamir dan hasil identifikasi *Aspergillus sp.*yang diperoleh dari pengujian di laboratorium dan hasil observasi.

b. Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang diambil dari suatu sumber dan data tersebut sudah dikompilasi terlebih dahulu oleh suatu instansi atau suatu wilayah, yang digunakan sebagai data pembantu pada suatu penelitian (Riyanto,

2010). Dalam penelitian ini yang merupakan data sekunder adalah peta wilayah Denpasar Selatan.

**2. Instrumen pengumpulan data**

a. Alat Tulis, untuk membantu proses pengisian data observasi

b. Kamera Digital, untuk dokumentasi

**3. Cara pengumpulan data**

Data dikumpulkan melalui observasi yaitu pengamatan langsung (observasi) ke lokasi penjualan jamu kunyit tradisional yaitu di pasar tradisional di kawasan Denpasar Selatan dan kemudian diuji di laboratorium Bakteriologi untuk menghitung jumlah Angka Kapang Khamir dan mengidentifikasi *Aspergillus sp*.

## E. Alat, Bahan, dan Prosedur Kerja

### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet tetes, pipet volume (*Iwaki-Pyrex*® volume 10 dan 5 mL, masing-masing 1 buah), tabung reaksi (*Iwaki-Pyrex*® volume 10 mL, 40 buah), *beaker glass* (*Iwaki-Pyrex*® volume 250 mL, 1 buah), erlenmeyer (*Iwaki-Pyrex*®, 1 buah), gelas ukur (*Iwaki-Pyrex*® volume 500 mL, 1 buah), lampu spiritus (1 buah), petridish (81 buah), spatula (1 buah), batang pengaduk (1 buah), ose (1 buah), kaca objek (20 buah), kaca penutup (20 buah), mikropipet (*SOCOREX*, 1 buah), neraca analitik (*Radwag*, oven (*Wagtech*, 1 buah), autoclave (SX-500, TOMY, 1 buah), *magnetik* dan *stirer* (Jisico, masing-masing 1 buah), mikroskop (*Olympus*, 1 buah), dan *Biosafety Cabinet* (*Biobase*, 1 buah), 1 buah).

**2. Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah cairan jamu kunyit yang diperoleh dari penjual jamu di kawasan Denpasar Selatan, *Lactophenol Cotton Blue*5% (Merck) dan NaCl 0,9%. Media yang digunakan untuk pengujian AKK adalah *Sabouraud Dextrose Agar* (OXOID), *chloramphenicol*, *aquadest*, alkohol 70%.

**3. Prosedur kerja**(Thearesti, 2015)

a. Persiapan sampel

Kemasan jamu kunyit dibuka secara aseptis di dekat api bunsen

b. Pengenceran sampel

1) Disiapakan 4 tabung reaksi.
2) Diberi label pada tabung $10^{-1}$, $10^{-2}$, $10^{-3}$, $10^{-4}$.
3) Diisi tabung rekasi dengan 9 mL pelarut NaCl 0,9%.
4) Sampel jamu kunyit dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi dengan label $10^{-1}$ yang telah berisi 9 mL pelarut NaCl 0,9%.
5) Dihomogenkan dengan cara dikocok beberapa kali hingga homogen.
6) Dari tabung pengenceran $10^{-1}$ diambil sebanyak 1 mL larutan dan dipindahkan ke tabung pengenceran $10^{-2}$ kemudian dikocok hingga homogen. Pengenceran dibuat hingga pengenceran $10^{-4}$.

c. Uji Angka Kapang Khamir

1) Disiapkan media SDA yang telah diisi dengan antibiotik.
2) Dipipet sebanyak 100µl suspensi sampel pada pengenceran $10^{-1}$ dan dimasukkan kedalam media SDA yang telah diberi label pengenceran $10^{-}$

[1].Dilakukan juga pada sampel pada pengenceran ke $10^{-2}$, $10^{-3}$, dan $10^{-4}$. Diratakan diatas media dengan bantuan spreader.

3) Disimpan media yang telah diinokulasikan suspensi sampel pada suhu 20-25$^0$C selama 3-5 hari.

d. Pembacaan Hasil dan Pelaporan

1) Pembacaan Hasil

a) Dihitung jumlah koloni yang ada pada masing-masing cawan petri.

b) Koloni-koloni yang bergabung menjadi satu dihitung sebagai satu koloni

c) Dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol.

2) Pelaporan

Pelaporan hanya dilakukan untuk cawan petri yang menghasilkan jumlah koloni antara 10-150 koloni. Jumlah koloni dari kedua cawan petri dalam satu pengenceran dihitung kemudian dikalikan faktor pengencerannya. Jika pada cawan petri dari 2 tingkat pengenceran yang berurutan menunjukkan jumlah antara 10-150 koloni, maka dihitung jumlah koloni dan dikalikan faktor pengenceran, kemudian diambil rata-rata. Untuk kemungkinan lain:

1. Bila hanya salah satu dari kedua cawan petri dari pengenceran yang sama menunjukkan jumlah koloni antara 10-150koloni maka dihitung jumlah koloni dari kedua cawan dan dikalikan faktor pengenceran (Apabila pengerjaan dilakukan secara duplo).
2. Bila pada tingkat pengenceran yang lebih rendah didapat koloni yang lebih besar dari dua kali jumlah koloni pada pengenceran diatasnya, maka dipilih tingkat pengenceran terendah (misal pada pengenceran $10^{-2}$ didapatkan koloni 60 koloni dan pada pengenceran $10^{-3}$ diperoleh 30 koloni maka dipilih jumlah

koloni pada tingkat pengenceran yang lebih rendah yaitu $10^{-2}$ 60 koloni). Bila pada pengenceran yang lebih tinggi didapatkan jumlah koloni kurang dari dua kali jumlah koloni dibawahnya, maka diambil angka rata-rata dari jumlah koloni dari kedua pengenceran tersebut. Hasil dinyatakan sebagai Angka Kapang Khamir dalam tiap gram sampel (misal pada pengenceran $10^{-2}$ didapatkan koloni 6 dan pengenceran $10^{-3}$ didapatkan koloni 10, maka Angka Kapang Khamir adalah:

$$\frac{6+10}{2} x 10^{-3} = 8 x 10^{3}$$

3. Bila dari seluruh cawan petri tidak ada satupun yang menunjukkan jumlah antara 10-150 koloni, maka dicatat angka sebenarnya dari tingkat pengenceran terendah dan dihitung sebagai Angka Kapang Khamir perkiraan.
4. Bila tidak ada pertumbuhan pada semua cawan dan bukan disebabkan karena faktor inhibitor, maka Angka Kapang Khamir dilaporkan sebagai kurang dari satu dikalikan faktor pengenceran terendah.

e. Identifikasi *Aspergillus sp.* (Rahmi and Asterina, 2013)

Identifikasi kapang yang dilakukan pengamatan karakter morfologi kapang. Pengamatan morfologi kapang menggunakan biakan kapang endofit umur lima hari dari hasil pemurnian. Pengamatan meliputi warna dan permukaan koloni, garis-garis radial dari pusat koloni ke arah tepi koloni, dan lingkaran-lingkaran konsentris. Pengamatan mikroskopis preparat meliputi bentuk hifa, ada atau tidaknya rhizoid, bentuk sel reproduksi seksual dan aseksualnya.

Untuk mengamatan morfologi mikroskopis kapang sebelumnya membuat preparat untuk pengamatan yang menggunakan mikroskop adalah sebagai berikut:

1. Disiapkan alat bahan yang diperlukan.
2. Inokulum kapang pada media agar diambil dari cawan petri dengan menggunakan jarum ose.
3. Inokulum kapang tersebut diletakkan di atas objek glass steril.
4. Ditutup dengan menggunakan cover glass.
5. Mengamati morfologi jamur (bentuk hifa, konidia, dan spora) yang terbentuk
6. Diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x.

## F. Pengolahan dan Analisis Data

### 1. Pengolahan data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian akan dikumpulkan dan diolah kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan uraian kalimat.

### 2. Analisis data

Analisis data deskriptif dengan mendeskripsikan data yang diperoleh dari data hasil pengujian AKK dan identifikasi *Aspergillus sp.* pada jamu kunyit dan kemudian hasil AKK dibandingkan dengan persyaratan jamu menurut BPOM RI No. 12 tahun 2014 tentang persyaratan obat tradisional dinyatakan sudah memenuhi syarat apabila pada jamu tidak ditemukan kapang khamir melebihi $10^3$ koloni/ml.