

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasional yang dilakukan dalam kondisi yang terkontrol.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu

Pelaksanaan isolasi dan identifikasi jamur xerofilik pada jamur serbuk anak dilaksanakan pada bulan Maret 2019.

2. Tempat

Pelaksanaan isolasi dan identifikasi jamur xerofilik pada jamur serbuk anak dilaksanakan di Laboratorium Mikologi Universitas Setia Budi Surakarta.

C. Populasi dan Sampel

A. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah jamur serbuk anak yang diambil di Mojosongo.

B. Sampel

Sampel jamur serbuk anak merk A, B dan C dari penjual jamur keliling di Mojosongo.

D. Variabel Penelitian

1. Definisi Operasional

- a. Jamu serbuk adalah sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan tingkat kehalusan yang sesuai, bahan bakunya berupa simplisia sediaan galenik atau campurannya (Anonim, 1994).
- b. Jamur xerofilik mampu tumbuh pada kondisi kering biasanya pada sereal dan rempah-rempah (Pitt dan Hocking, 2009).

E. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat:

- a. Enkas
- b. Cawan Petri Steril
- c. Lampu Spirtus
- d. Erlenmeyer 250 ml
- e. Timbangan Elektrik
- f. Tabung Reaksi
- g. Syringe
- h. Pipet volum
- i. Beaker Glass

- j. Batang Pengaduk
- k. Autoklaf
- l. kompor gas
- m. Penangas air
- n. Mikroskop.
- o. Jarum ent
- p. Obyek glass
- q. Deck glass

2. Bahan:

- a. Sampel jamu serbuk A, B dan C
- b. Medium DG-18 (Dichloran Gliserol 18%).
- c. Lactophenol cotton blue.
- d. Aquadest steril.

F. Prosedur Penelitian

1. Pengumpulan Sampel

Pada penelitian ini menggunakan sampel jamu serbuk anak yang dijual pedagang jamu keliling di daerah Mojosongo, Surakarta.

2. Desinfeksi kemasan

Kemasan jamu dilap menggunakan alkohol kemudian digunting menggunakan gunting yang sudah dilap alkohol 70% untuk menghindari terjadinya kontaminasi.

3. Pembuatan Medium Dikloran Gliserol 18%

- a. Ditimbang sebanyak 3,792 gram media DG-18.
- b. Ditambahkan aquadest sebanyak 99 ml direbus sampai mendidih.
- c. Ditambah gliserol sebanyak 21 ml.

- d. Direbus kembali sampai mendidih.
- e. Dituang kedalam tabung masing-masing 10 ml.
- f. Tabung reaksi ditutup dengan kapas.
- g. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C 1 atm selama 15 menit.

4. Pembuatan Aquadest Steril

- a. Dimasukkan aquadest kedalam 9 tabung reaksi 9 ml tiap-tiap tabung.
- b. Ditutup dengan kapas.
- c. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

5. Inokulasi Jamur Xerofilik dengan Metode Taburan

- a. Disiapkan 3 sampel jamur serbuk anak A berat 5 gram, B berat 6 gram, C berat 7 gram.
- b. Disiapkan 3 erlenmeyer steril yang masing-masing berisi 45 ml aquadest steril, 54 ml aquadest steril, dan 63 ml aquadest steril.
- c. Dituangkan sampel A dimasukkan kedalam 45 ml aquadest steril, sampel B dimasukkan kedalam 54 ml aquadest steril dan sampel C dimasukkan kedalam 63 ml aquadest steril, lalu homogenkan.
- d. Disiapkan 3 cawan petri steril dilakukan secara duplo dan pengenceran sampai dengan 10^{-3}
- e. Dipipet 1 ml suspensi dari pengenceran, kemudian dilakukan inokulasi secara taburan kedalam cawan petri steril secara aseptis.

- f. Dituangkan medium DG-18 pada cawan petri steril secara aseptis, homogenkan.
- g. Diinkubasi pada suhu kamar selama 5 – 7 hari.
- h. Koloni jamur yang tumbuh pada medium DG-18 diamati secara makroskopis dan mikroskopis.

6. Pembuatan Blanko

a. Blanko udara

Medium DG-18 dituang dalam cawan petri steril, kemudian cawan petri dibuka dan diletakkan dalam enkas selama bekerja. Setelah pekerjaan selesai cawan petri ditutup dan diinkubasi pada suhu kamar selama 5-7 hari kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis.

b. Blanko Pengencer

Dipipet 1 ml aquadest steril, masukkan dalam cawan petri, dituangkan 10 ml medium DG-18 kedalam cawan petri, dibiarkan hingga padat kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 5 -7 hari, kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis.

c. Blanko Media

Masukkan 10 ml media DG-18 kedalam cawan petri steril dibiarkan memadat kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 5 - 7 hari, kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis.

7. Pengamatan Jamur

a. Makroskopis

Diamati koloni jamur yang tumbuh pada medium DG-18 dengan melihat bentuk koloni, warna koloni pada permukaan atas cawan petri dan permukaan bawah cawan petri.

b. Mikroskopis

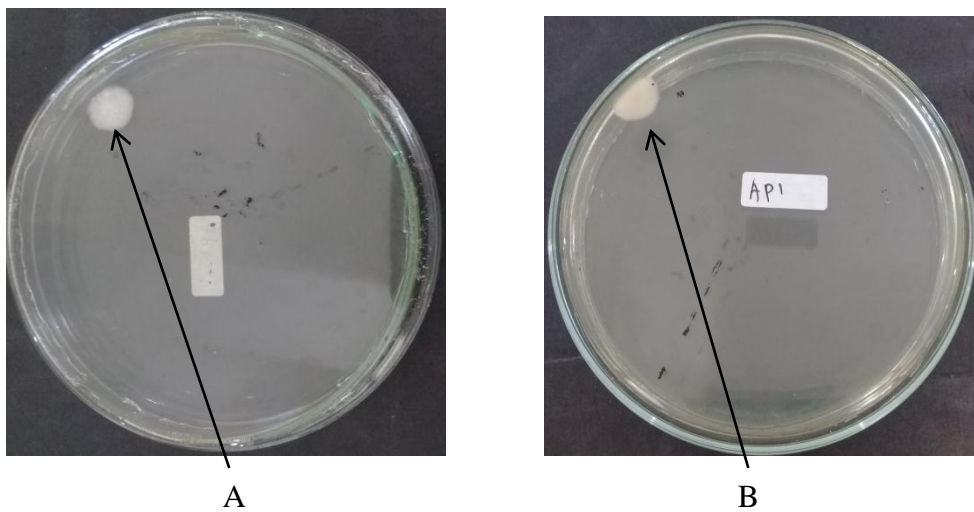
- 1) Obyek glass dibersihkan agar bebas lemak.
- 2) Diteteskan 1 tetes cat lactophenol cotton blue pada obyek glass.
- 3) Diambil isolat koloni jamur yang tumbuh dengan jarum Ent secara aseptis.
- 4) Diletakkan pada cat, diregangkan hifa dengan jarum Ent.
- 5) Ditutup dengan deck glass, dihindari terbentuknya gelembung udara.
- 6) Diamati dengan makroskopik, pembesaran 100x dan 400x.

G. Determinasi Jamur Xerofilik

Morfologi makroskopis dan mikroskopis jamur xerofilik yang ditemukan dari sampel jamu serbuk anak di Mojosoongo, Surakarta dicocokkan dengan buku “Pengenalan Kapang Tropik Umum” untuk menentukan jenis jamur (Gandjar *et al*, 2000).

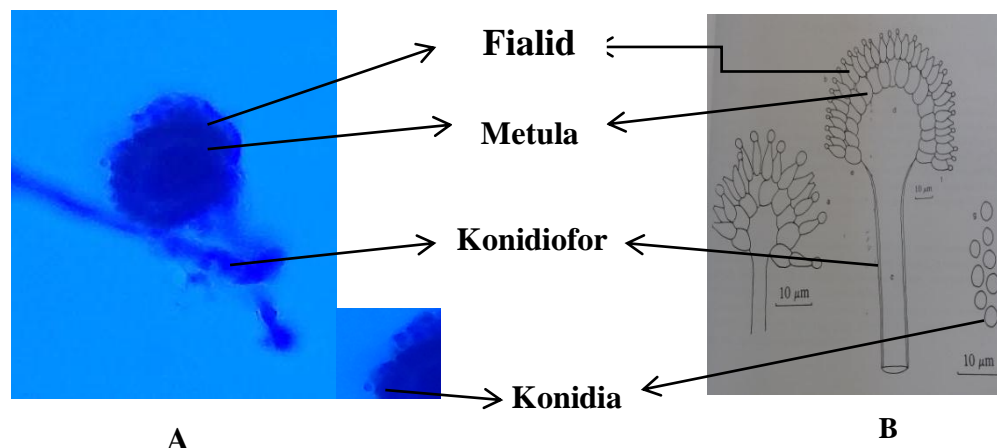
BAB IV**HASIL DAN PEMBAHASAN****A. Hasil Penelitian****Tabel 1. Hasil Pengamatan Jamur Xerofilik Pada Jamu Serbuk Anak**

Jamu	Jenis jamur
A	<i>Aspergillus candidus</i>
B	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>
C	Tidak ditemukan

a. Hasil identifikasi jamur xerofilik secara makroskopis pada sampel A**Gambar 1.** Koloni *Aspergillus candidus* pada permukaan atas (Gambar A),Koloni *Aspergillus candidus* pada permukaan bawah (Gambar B).

Koloni *Aspergillus candidus* dengan ciri koloni seperti pasir halus, pada permukaan atas berwarna abu-abu keputihan, pada permukaan bawah berwarna abu-abu hijau keputihan.

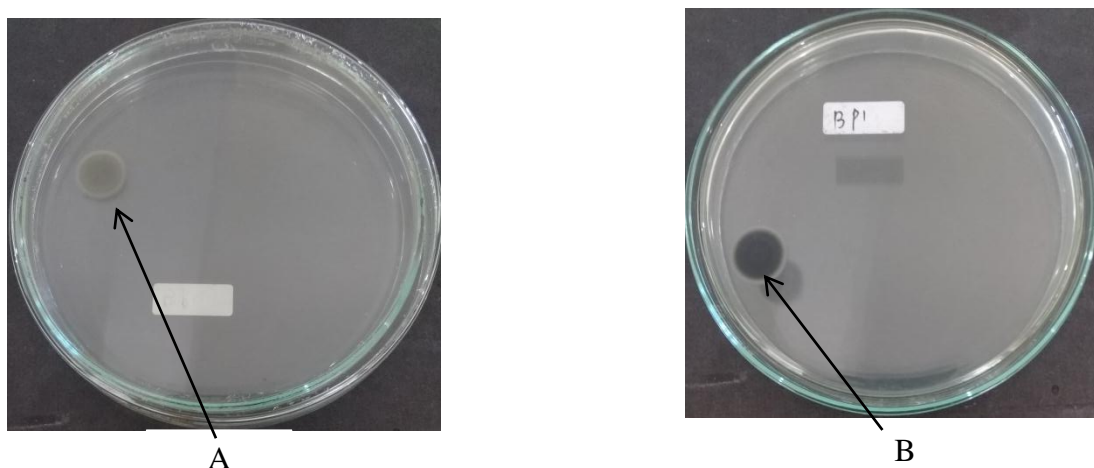
b. Hasil identifikasi jamur xerofilik secara mikroskopis pada sampel A



Gambar 2. *Aspergillus candidus* hasil isolasi dari jamur serbuk anak pada sampel A dengan perbesaran 400X (Gambar A) dan gambar *Aspergillus candidus* di buku pengenalan kapang tropik umum (Gambar B).

(Sumber : Gandjar *et al*, 2000: 19 (Gambar B))

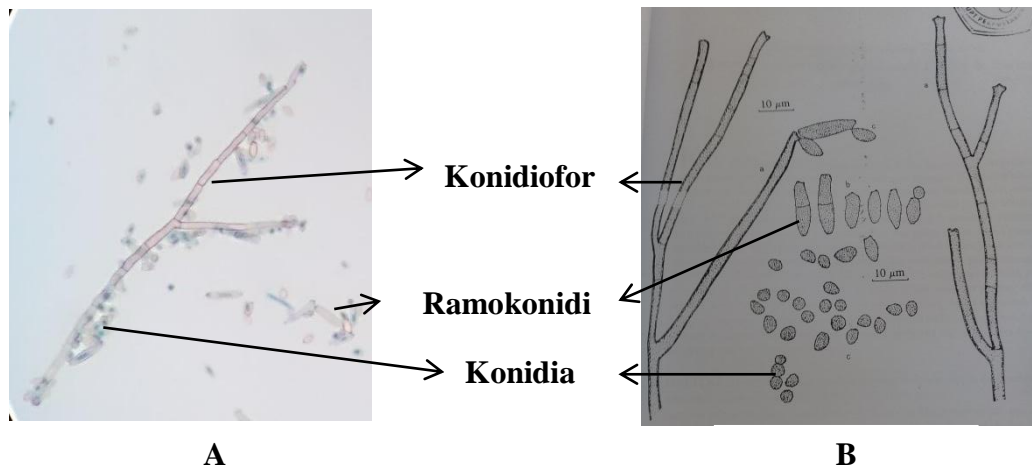
c. Hasil identifikasi jamur xerofilik secara makroskopis pada sampel B



Gambar 3. Koloni *Cladosporium sphaerospermum* pada permukaan atas (Gambar A), Koloni *Cladosporium sphaerospermum* pada permukaan bawah (Gambar B).

Koloni *Cladosporium sphaerospermum* dengan ciri koloni seperti tepung berwarna hijau tua, pada permukaan bawah berwarna hijau kehitaman.

4.1.4 Hasil identifikasi jamur xerofilik secara makroskopis ada sampel B



Gambar 4. *Cladosporium sphaerospermum* hasil isolasi dari jamu serbuk anak pada sampel B dengan perbesaran 400 x (Gambar A) dan gambar *Cladosporium sphaerospermum* di buku pengenalan kapang tropik umum (Gambar B).

(Sumber : Gandjar *et al*, 2000: 19 (Gambar B))

B. Pembahasan

Identifikasi jamur serbuk anak dilakukan untuk mengetahui apakah produk terkontaminasi oleh jamur xerofilik dan spesies jamur xerofilik apa saja yang ada pada jamu serbuk anak. Sampel jamu serbuk anak yang diidentifikasi sebanyak 3 sampel, yaitu A, B, C yang dibeli dipenjual keliling Mojosongo, Surakarta.

Sampel jamu serbuk yang sudah diencerkan, pipet 1ml kedalam medium DG-18 kemudian diinkubasi selama 5 sampai 7 hari. Ambil koloni jamur

letakkan ke objek glas kemudian diwarnai menggunakan cat Lactophenol Cotton Blue yang memberi warna biru pada jamur, sehingga jamur mudah diamati dengan mikroskop. Komposisi dari cat Lactophenol Cotton Blue terdiri dari: kristal cotton blue yang memiliki fungsi memberikan warna pada sel kapang, asam laktat berfungsi memberi gambaran struktur kapang agar lebih jelas, gliserol berfungsi menjaga fisiologi sel dan menjaga sel agar tidak mudah kering, kristal fenol berfungsi dapat membunuh jamur (Ghofur, 2006).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 3 sampel jamu serbuk anak yang diidentifikasi terkontaminasi jamur xerofilik yaitu sampel A dan sampel B sedangkan sampel C tidak terkontaminasi. Spesies jamur xerofilik yang ditemukan pada sampel A adalah *Aspergillus candidus* dan sampel B adalah *Cladosporium sphaerospermum*.

Jamu serbuk anak adalah minuman tradisional berupa butiran halus hasil gilingan dari simplisia yang diayak dan diramu khusus dari tumbuh - tumbuhan tertentu dengan fungsi dan manfaat tertentu cara penyajian diseduh dengan air. Manfaat jamu anak untuk meningkatkan kesehatan, terutama meningkatkan nafsu makan (Sari, 2012).

Sampel jamur serbuk anak terkontaminasi mungkin karena pada proses produksi bahan yang disimpan dalam kondisi kurang kering yang mempengaruhi masa simpan bahan baku, faktor lain yang memungkinkan hasil ini adalah kebersihan bahan, perbedaan jenis spesies yang ditemukan pada sampel dapat disebabkan oleh kadar air jamu serbuk, warna dapat terjadi karena bahan

campuran dari masing-masing berbeda jumlah setiap bahan dan jenisnya, komposisi berbeda pada sampel `dapat mempengaruhi kontaminasi jamur. Keberadaan jamur xerofilik berpotensi menghasilkan mikotoksin pada jamu serbuk anak perlu diperhatikan (Rukmini, 2009).

Pengemasan merupakan salah satu cara untuk melindungi produk dari pengaruh oksidasi dan mencegah terjadinya kontaminasi dengan udara luar, selain itu pengemasan merupakan penunjang bagi kelancaran transportasi dan distribusi yang merupakan bagian terpenting dari suatu usaha untuk mengatasi persaingan dalam pemasaran produk. Tanggal *expired date* pada sampel A, B dan C berbeda dapat mempengaruhi terjadi kontaminasi dan dari sampel C tidak ditemukan jenis jamur xerofilik karena masa *experied date* yang paling lama diantara yang lain dan tetap terjaga kualitasnya setelah melalui *Quality control* (Armando, 2015).

Sifat morfologi yang ditemukan pada sampel jamu A ciri-ciri makroskopis koloni seperti pasir halus, pada permukaan atas berwarna abu-abu keputihan, pada permukaan bawah berwarna abu-abu hijau keputihan. Mikroskopis dilihat metula, konidiofor dan konidia kemudian dibandingkan dengan buku pengenalan kapang tropik umum ciri-ciri koloni tipis dengan sedikit miselia aerial yang tercampur dengan konidiofor yang muncul dari miselia yang ada dipermukaan agar. Kepala konidia putih, kemudian menjadi krem, dan agak basah pada koloni yang masih segar. Fialid kadang-kadang terbentuk langsung pada vesikula tetapi umumnya terbentuk pada metula. Konidia berukuran bulat hingga semi bulat, berwarna hialin dan berdinding tipis dan halus. Memiliki kesamaan disimpulkan bahwa sampel A ditemukan jamur *Aspergillus candidus*. Spesies *Aspergillus candidus*

merupakan kapang gudang karena ditemukan pada serelia yang kering yang disimpan dalam jumlah besar digudang. Spora jamur yang tumbuh dalam jumlah besar di butiran debu dan udara yang terkontaminasi berbahaya bagi pernapasan (Gandjar *et al*, 2000).

Sifat morfologi yang ditemukan pada sampel B ciri-ciri makroskopis koloni seperti tepung berwarna hijau tua, permukaan bawah berwarna hijau kehitaman. Mikroskopis dilihat konidiofor, ramokonidiofor dan konidia kemudian dibandingkan dengan buku pengenalan kapang tropik umum ciri-ciri koloni seperti beludru atau seperti tepung yang berwarna hijau tua redup hingga hijau agak abu-abu kecoklatan dan tidak memiliki lingkaran konsentris, koloni dibaliknya berwarna hijau tua kehitaman. Konidiofor terbentuk lateral atau terminal pada hifa dan panjangnya dapat mencapai 300 μ m dan lebar 2-5 μ m. Ramokonidia terdapat pada basis percabangan bersepta 0 hingga 3, berbentuk memanjang, berdinding halus atau agak kasar. Konidia umumnya bersel satu, berbentuk semi bulat, berwarna coklat atau coklat kehijauan dan agak kasar. Memiliki kesamaan disimpulkan bahwa sampel B ditemukan jamur *Cladosporium sphaerospermum*. Spesies ini menyebar luas diseluruh dunia dan berperan sebagai penyerang sekunder pada aneka macam tanaman. Spesies ini telah diisolasi dari tanah, udara, bahan pangan, biji-bijian, lukisan, tekstil, pernah juga dari manusia dan hewan (Gandjar *et al*, 2000).

Cladosporium sphaerospermum dapat menyebabkan luka pada kulit dan infeksi pada kuku. Selain itu, spora dari kapang ini dapat menyebabkan alergi

pada saluran pernapasan apabila sistem kekebalan tubuh menurun (Manisha dan Panwar, 2012).

Penelitian sebelumnya ditemukan jamur xerofilik pada serbuk obat herbal, simplisia rimpang bahan jamu dan jamu serbuk pegal linu. Jamu serbuk anak ada kemungkinan terkontaminasi jamur xerofilik dari faktor panen bisa terkontaminasi jamur xerofilik dari sisa tanah dan kebersihan tanaman, faktor penyimpanan simplisia pada kondisi yang tidak terkontrol dengan baik akan menyebabkan hadirnya berbagai jenis mikroorganisme, faktor produksi jamu serbuk anak yang masih dilakukan dengan cara yang kurang higienis, risiko produk terkontaminasi oleh jamur selama proses pengolahan masih sangat besar dan faktor pengemasan. Beberapa jamur xerofilik dapat menghasilkan mikotoksin yang dapat menyebabkan berbagai macam penyakit yang berbahaya bagi kesehatan, bahkan hingga kematian (Rukmi, 2009)

Spesies jamur yang mengontaminasi jamu serbuk anak di Mojosoongo, Surakarta yaitu jamur *Aspergillus candidus* dan *Cladosporium sphaerospermum* , dapat tumbuh di butiran debu dan udara yang terkontaminasi karena tempat penyimpanannya tidak steril (Gandjar, 2000).