

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung selama bulan Mei tahun 2012.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan, autoclave, oven, kulkas, *laminar air flow cabinet*, inkubator, colony counter, erlenmeyer 100 ml, gelas ukur 100 ml dan 10 ml, batang pengaduk, tabung reaksi, cawan petri, mikro pipet, tip, lampu spritus, aluminium foil, kertas kopi, kapas, dan karet.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tempoyak, MRS Agar (De Man Rogosa Sharpe), PCA (Plate Count Agar), Potato Dextrose Agar (PDA), Nutrient Agar (NA), aquades, alkohol.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL). Suspensi tempoyak ditabur ke dalam cawan petri, kemudian media dimasukkan ke dalam cawan petri tersebut (Pour Plate Methode). Mikroba yang diperoleh ialah mikroba yang dapat tumbuh dan berkembang pada keadaan dan kondisi media tanam. Populasi mikroba akan ditentukan berdasarkan jumlah koloni (Plate Count), keanekaagaman mikroba berdasarkan morfologi koloni, morfologi sel, ada tidaknya spora, dan sifat gram.

D. Prosedur Kerja

Daging durian dipisahkan dari biji durian, diberi garam sebanyak 5% dari jumlah daging durian tersebut. Kemudian disimpan didalam wadah yang tertutup rapat pada suhu ruangan (tidak dalam kulkas) selama 3 hari. Setelah 3 hari, fermentasi daging durian (tempoyak) sudah dapat digunakan sebagai bahan penelitian.

Tempoyak ditimbang sebanyak 1 g, dan dibuat suspensi dalam erlenmeyer yang berisi aquades sebanyak 99 ml (pengenceran 10^{-2}). Kemudian suspensi diencerkan kembali dengan cara 1 ml suspensi 10^{-2} dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades 9 ml (pengenceran 10^{-3}). Pengenceran suspensi terus dilakukan sampai 10^{-5} .

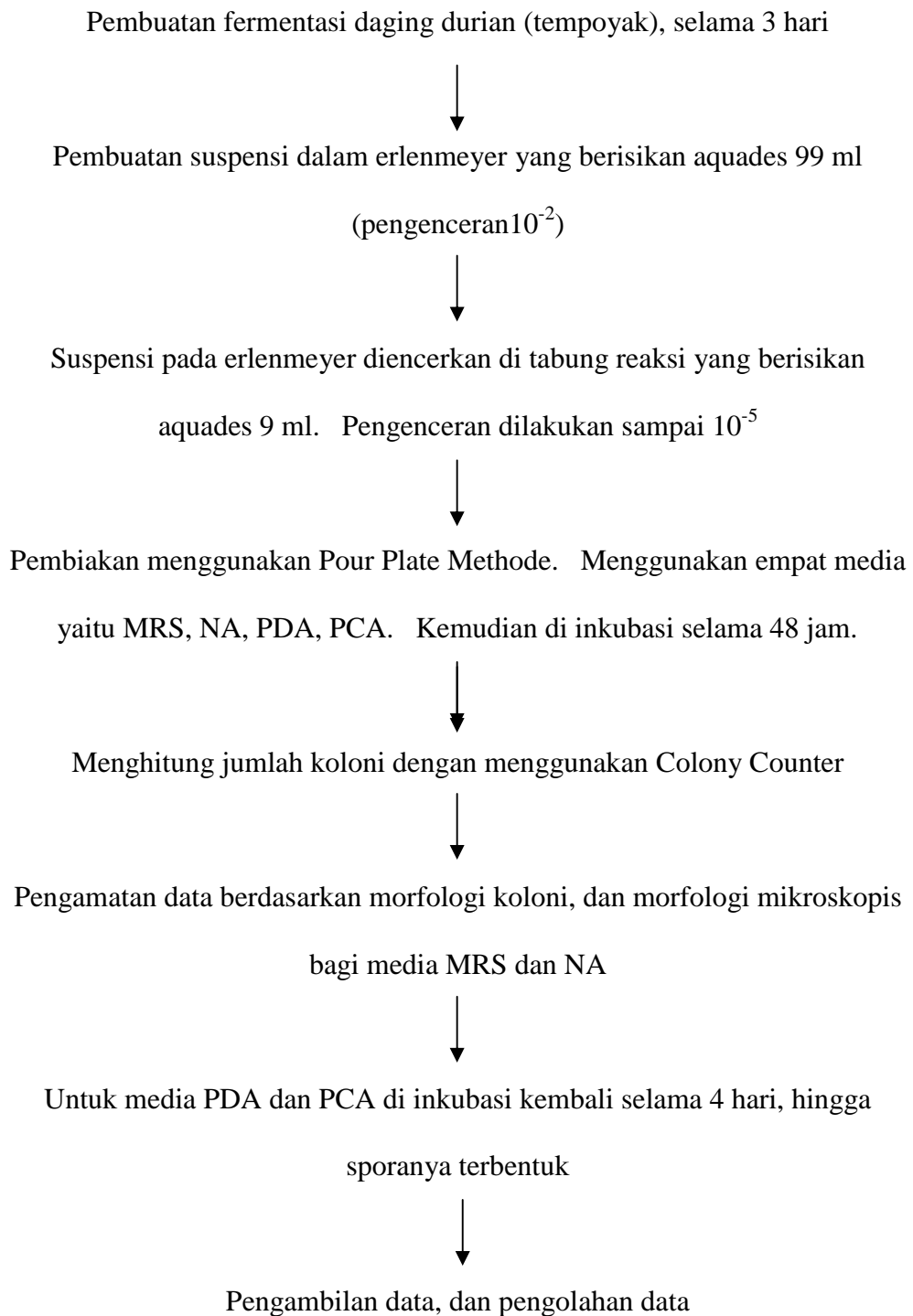
Suspensi dari tiap tabung reaksi diambil sebanyak 1 ml dan ditabur (pour) di dalam cawan petri. Di buat 3 cawan petri untuk tiap media, ada 4 jenis media

yang digunakan. Kemudian masing-masing cawan dituangi media. Media tersebut yaitu MRS Agar sebagai media tumbuh bakteri asam laktat (BAL), NA untuk media tumbuh bakteri, PDA untuk media tumbuh fungi, dan PCA sebagai media tumbuh mikroba. Kemudian kultur diinkubasi selama 2 hari dalam inkubator pada suhu 37 °C. Penelitian ini dilakukan dengan 3 kali pengulangan.

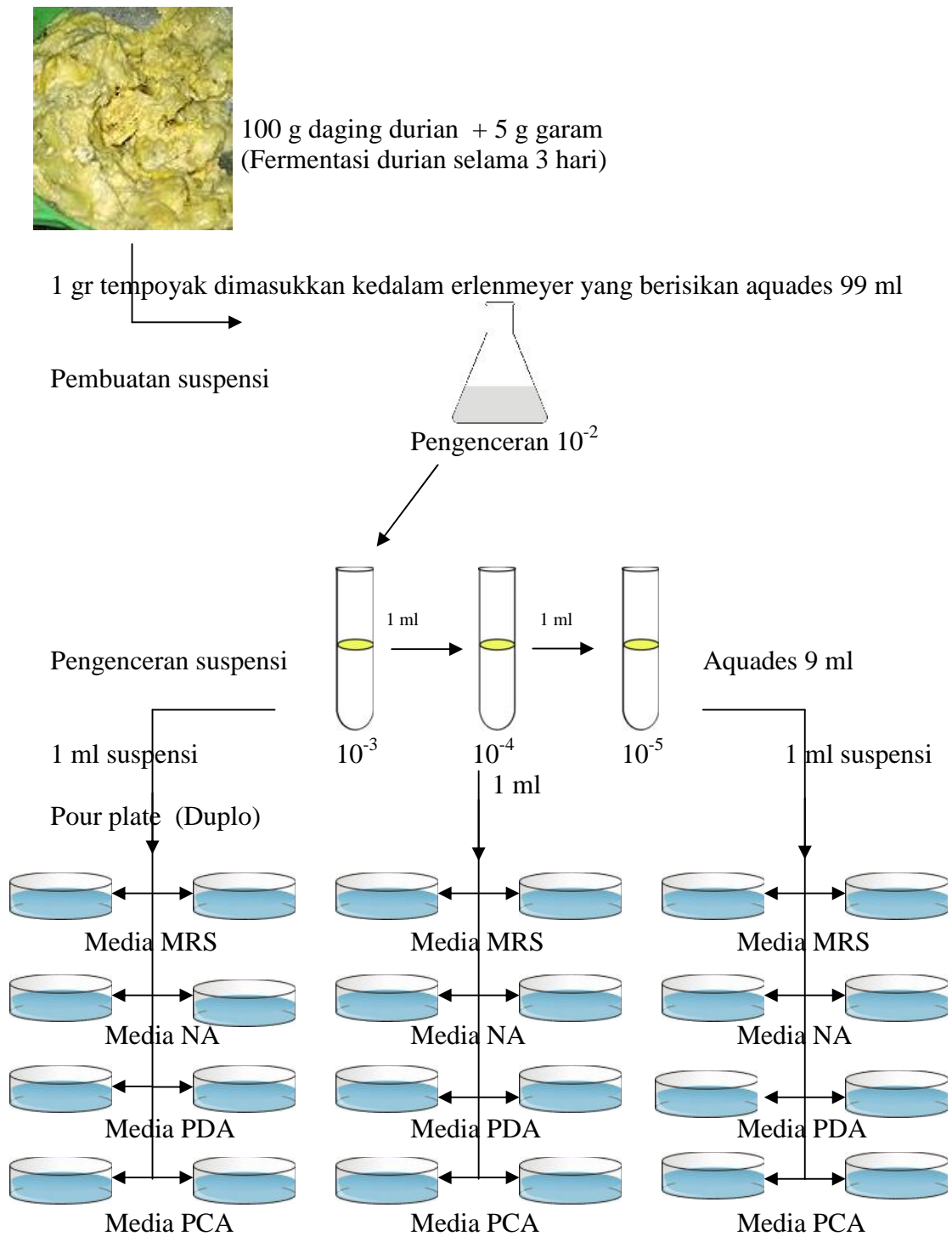
Mikroba yang tumbuh diamati morfologi koloni meliputi bentuk, warna, bentuk tepi, dan elevasi. Serta diamati morfologi sel, ada tidaknya spora, motilitas, dan sifat gram. Koloni yang tumbuh dari masing-masing pengenceran dihitung dengan colony counter. Berdasarkan jumlah koloni yang diperoleh, populasi mikroba atau jumlah sel mikroba tiap gram tempoyak ditentukan dengan perhitungan Plate Count (Alfred. E.Brown, 2007).

Untuk media MRS dan NA, setelah dilakukan perhitungan jumlah koloni, langsung melakukan pengamatan morfologi koloni dan morfologi mikroskopis. Sedangkan untuk media PDA dan PCA, setelah dilakukan perhitungan jumlah koloni, cawan petri dimasukkan kembali ke dalam inkubator selama 4 hari sampai fungi yang tumbuh membentuk spora. Setelah spora terbentuk dapat dilakukan pengamatan morfologi secara koloni.

E. Diagram Alir



E. Diagram gambar



Ket : Masing-masing media dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali

Lanjutan



Inkubasi selama 48 jam, di dalam inkubator pada suhu 37 °C



Populasi mikroba dihitung menggunakan *Colony counter*



Mikroba pada media MRS dan NA langsung diamati morfologi koloni dan selnya



Media PDA dan PCA di inkubasi kembali selama 4 hari, hingga sporanya terbentuk, kemudian diamati morfologi koloni