

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan lima jenis sampel kombucha teh stevia yang difermentasi dengan konsentrasi sama, namun dalam waktu yang berbeda. Kemudian, dilakukan pengukuran zona hambatnya maka pada penelitian ini menggunakan *Posttest-Only* Group Design.

	Grup	Variabel Terikat	Post Test
R1	Eksperimen	X	O1
R2	Kontrol	-	O2

Keterangan :

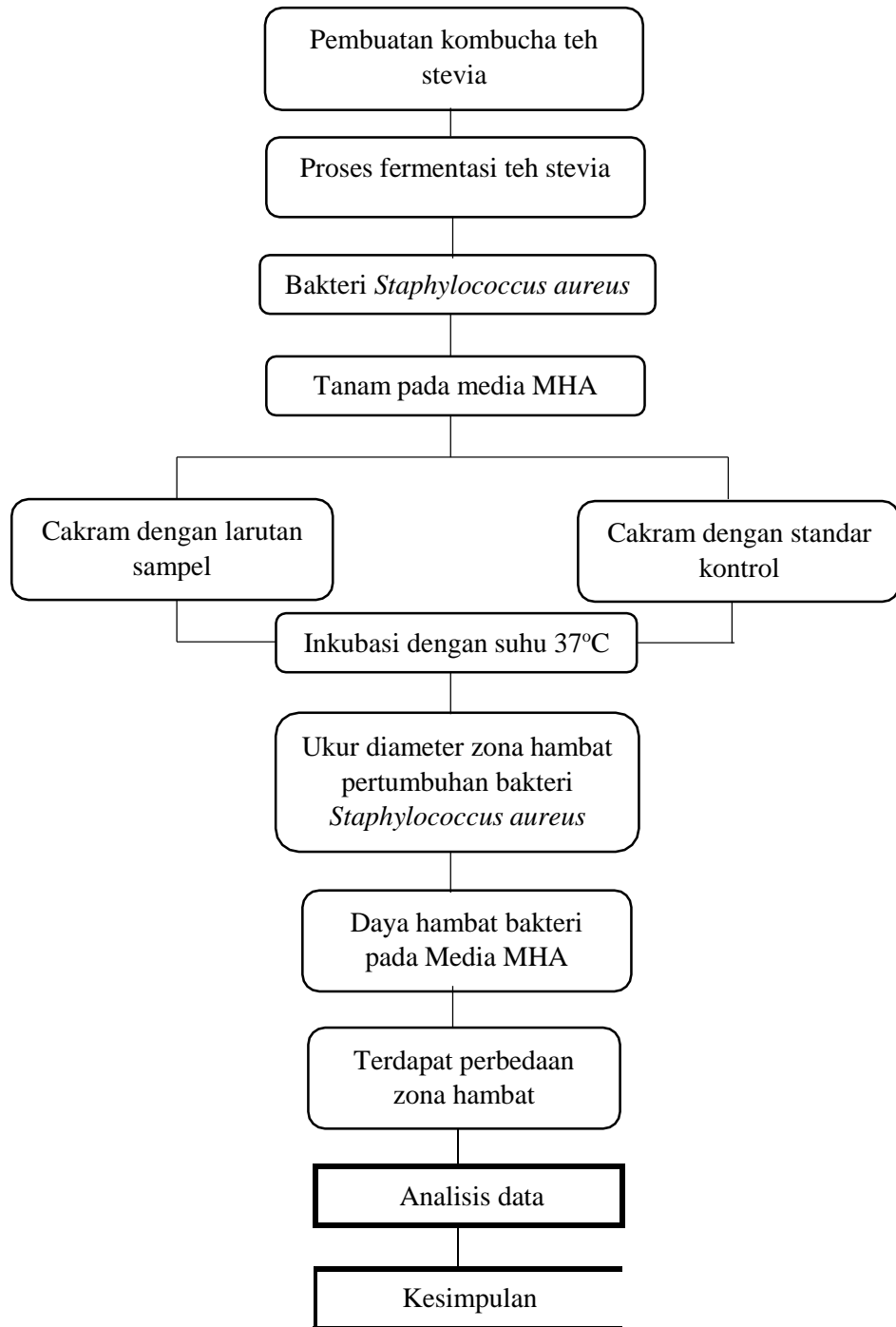
R1 : Kelompok eksperimen yaitu kombucha teh stevia dengan konsentrasi 100% dengan perbandingan waktu fermentasi yaitu, pada hari ke-6, ke-8, ke-10, ke-12, ke-14

R2 : Kelompok kontrol yaitu antibiotik *Ciprofloxacin* sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif

X : Treatment atau Perlakuan

O1 : Pengukuran pertama diameter zona hambat pada kelompok treatment atau perlakuan

A. Alur Penelitian



Gambar 5 Alur Penelitian

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga Mei 2023.

C. Populasi dan Sampel

1. Sampel penelitian

Pada penelitian ini sampel yang digunakan merupakan daun stevia kering yang dijadikan teh sebanyak 250 gram yang didapatkan dari petani daerah Surabaya, Jawa Timur. Sedangkan, kombucha yang digunakan merupakan SCOBY dari pedagang bibit kombucha Inidhya Kombucha di daerah Denpasar Selatan.

2. Besar penelitian

Penelitian ini merupakan suatu penelitian yang bersifat eksperimental yakni, perlakuan yang digunakan merupakan hasil dari fermentasi kombucha teh stevia dengan perlakuan hari fermentasi sampel yaitu, hari ke-6, ke-8, ke-10, ke-12, ke-14 dengan konsentrasi yang sama.

3. Teknik pengambilan sampel

Penelitian ini menggunakan teknik pengambilan sampel berjenis *purposive sampling*. Berdasarkan proses yang dilakukan bertujuan mendapatkan hasil yang maksimal.

4. Unit analisa

Unit analisa pada penelitian ini yakni, terjadinya pembentukan daya hambat hasil dari kombucha teh stevia yang dianalisa yaitu, kombucha teh stevia dengan

waktu fermentasi hari ke-6, ke-8, ke-10, ke-12, dan ke-14 terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik *Ciprofloxacin*.

D. Instrumen Penelitian

Dalam penelitian ini instrument penelitian yang digunakan adalah kamera untuk dokumentasi hasil, alat tulis, serta alat instrumen laboratorium. Adapun alat dan bahan serta prosedur kerja dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Alat

Toples kaca, lap atau serbet untuk penutup toples, neraca, wadah, termometer, lampu spiritus, *Mc Farland* densitometer, *Bio Safety Cabinet*, batang pengaduk, ose, kompor gas, inkubator, gelas beaker, jangka sorong, petri disk, botol kaca, gelas ukur, pipet ukur, ball pipet, rak tabung, tabung reaksi, rak tabung, autoklaf, erlenmeyer, tip, mikropipet

2. Bahan

Larutan starter kombucha, teh stevia, gula, air mineral, buffer asam basa, cakram disk, antibiotik *Ciprofloxacin*, bakteri *Staphylococcus aureus*, standar *Mc farland* 0,5%, aquadest, lidi kapas steril, Media MHA, larutan NaCl fisiologis 0,85%, alkohol 70%, aluminium foil.

3. Prosedur kerja

Sebelum melaksanakan prosedur kerja serta preparasi sampel, terlebih dahulu gunakan Alat Pelindung Diri (APD) seperti, jas laboratorium, masker, handsoon, serta haircap. Setelah selesai menggunakan APD lengkap, maka lakukan desinfeksi pada sekitar meja kerja. Beberapa tahap prosedur preparasi sampel sebagai berikut :

a. Pembuatan kombucha teh stevia

- 1) Siapkan teh stevia sebanyak 250 gram dan 5 buah wadah.
- 2) Setiap wadah diberi label. Masing-masing sesuai hari fermentasi yaitu hari ke-6, ke-8, ke-10, ke-12 dan ke-14.
- 3) Lalu, dimasukkan ke dalam 2500 ml air kemudian direbus hingga menjadi kecokelatan.
- 4) Dimasukkan 10 % gula dari volume total kedalam larutan teh stevia. Aduk hingga larutan homogen lalu di tunggu hingga larutan dingin.
- 5) Larutan teh stevia yang sudah dingin dibagi sebanyak 500ml dalam 5 wadah yang berbeda.
- 6) Ditambahkan 10% starter dari volume total per wadah dan mikroorganisme SCOBY dari volume total per wadah lalu tutup wadah tersebut dengan serbet atau kasa.
- 7) Kemudian, larutan teh stevia tersebut difermentasi dengan variasi waktu pada hari ke 6, 8, 10, 12, 14.

b. Pembuatan suspensi bakteri

- 1) Ambil satu hingga tiga ose koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dari biakan murni.
- 2) Masukkan koloni bakteri kedalam tabung yang telah berisi larutan NaCl fisiologis 0,85% sebanyak 5mL.
- 3) Bandingkan suspensi dengan kekeruhan standar *Mc Farland* 0,5% serta diukur menggunakan alat *Mc Farland* densitometer.

c. Pembuatan media *Mueller Hinton Agar*

- 1) Timbang media *Mueller Hinton Agar* sebanyak 3,8 gram
- 2) Tambahkan 100 ml aquadest. Suspensi media di homogenkan dan dipanaskan diatas hotplate hingga mendidih. Kemudian sterilkan media menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang sudah disterilkan disimpan pada lemari pendingin untuk digunakan selanjutnya.

d. Uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

- 1) Jenuhkan cakram disk kosong dengan teh kombucha menyesuaikan hari fermentasi, lalu letakkan pada plate kosong.
- 2) Siapkan lidi kapas steril selanjutnya celupkan kedalam suspensi bakteri yang telah disiapkan. Kemudian angkat dan peras dengan menempelkan lidi kapas pada dinding tabung.
- 3) Bakteri diinokulasi pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) hingga merata secara menyeluruh pada permukaan media dan tutup kembali.
- 4) Media yang telah diinokulasikan oleh suspensi didiamkan selama 15 menit agar suspensi bakteri meresap kedalam media.
- 5) Cakram disk yang telah dijenuhkan dari masing-masing teh kombucha sesuai waktu fermentasi tempelkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasi dengan pinset.
- 6) Kontrol negatif dan positif ditempel pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasikan berbeda dengan media teh kombucha.
- 7) Media yang telah berisi cakram disk diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik.

E. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data yang diperoleh pada penelitian ini diambil secara langsung melalui analisa terbentuknya diameter zona hambat yang diambil dari pengukuran daya hambat kombucha teh stevia terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* serta diuji perbandingan dan perbedaan hasil aktivitas antibakterinya yang dilakukan di laboratorium. Kemudian data yang didapat diolah dengan teknik pengolahan data secara deskriptif. Lalu, data tersebut disajikan dalam bentuk tabel.

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini merupakan analisis kuantitatif. Analisis data dalam penelitian kuantitatif meliputi pengolahan data, penyajian data, melakukan perhitungan guna mendeskripsikan data, serta melakukan analisis untuk pengujian hipotesis.

Analisis kuantitatif dilakukan dengan menggunakan uji statistic menggunakan bantuan perangkat lunak komputer (*software*). Adapun tahap dari analisis data kuantitatif tersebut adalah sebagai berikut :

a. Uji normalitas

Untuk menilai normalitas atau tidak sebaran data kelompok atau variabel, maka digunakan uji normalitas *Saphiro-Wilk*.

b. Uji *Kruskall Wallis*

Untuk menguji rancangan acak rangkap apabila data yang diperoleh berdistribusi tidak normal dan tidak homogen.

c. Uji One Way Anova

Untuk mengetahui apabila terdapat perbedaan data dari berbagai sebaran data berdistribusi normal.

d. Uji Least Significant Difference

Untuk mengetahui perbedaan yang signifikan pada data terhadap sebaran sebuah kelompok.