BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat analitik yang dilakukan di dalam laboratorium (laboratorium research), dimana jenis penelitian yang digunakan adalah True Experimental dengan menggunakan rancangan penelitian yaitu Posttest Only Control Gramoup Design yang bertujuan untuk mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Noor, 2012), dimana pembuatan media alternatif dengan berbagai berat ubi jalar merupakan kelompok eksperimen sedangkan kelompok yang tidak diberi perlakuan disebut dengan kelompok kontrol.

	Perlakuan	Posttest
R1	X	02
R2		02

Gambar 5. Rancangan Penelitian Posttest Only Control Gramoup Design

Keterangan :

R1 : kelompok eksperimen, dalam penelitian ini yaitu media tumbuh berbahan ubi jalar kuning dengan variasi konsentrasi, yaitu pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%

R2 : kelompok kontrol, dalam penelitian ini berupa media buatan berbahan aquades, gula dan agar.

X : perlakuan (intervensi)

02 : jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada media

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Pengujian sampel penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar.

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dan pengambilan data dilakukan pada bulan Januari sampai Maret 2019.

C. Sampel Penelitian dan Unit Analisis

1. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah ubi jalar kuning dengan berbagai konsentrasi, yaitu pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% yang diambil di Banjar Cekik, Desa Berembeng, Kecamatan Selemadeg, Kabupaten Tabanan-Bali

2. Besar sampel penelitian

Ubi jalar kuning diuji dengan 6 perlakuan yaitu menjadi variasi konsentrasi 0% (kontrol), 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% (b/v) yang dibuat dengan melarutkan stok sampel dengan pelarut akuadest. Konsentrasi 50% digunakan sebagai stok sampel yang didapat dengan cara merebus 500gram ubi jalar kuning yang telah diblender kedalam 1000ml larutan kemudian disaring untuk mendapatkan filtratnya. Untuk konsentrasi 40% volume filtrat konsentrasi 50% yang diperlukan yaitu 40ml, konsentrasi 30% volume filtrat konsentrasi 50% yang diperlukan yaitu 30ml konsentrasi 20% volume filtrat konsentrasi 50% yang diperlukan yaitu 20ml, konsentrasi 10% volume filtrat konsentrasi 50% yang

diperlukan yaitu 10 ml Sebagai kelompok kontrol, digunakan gula dan agar yang dilarutkan dengan pelarut akuadest.

Menurut Hanafiah, (2016) dalam penentuan pengulangan dapat dihitung berdasarkan jumlah konsentrasi yang digunakan dan jumlah kelompok kontrol. Dalam penelitian ini digunakan 5 perlakuan konsentrasi dan 1 perlakuan kontrol. Sehingga total perlakuan dalam penelitian ini adalah 6 perlakuan. Dalam penelitian ini masing-masing perlakuan diulang dengan jumlah yang dapat ditentukan dari persamaan berikut:

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

Keterangan:

r = jumlah ulangan

t = jumlah perlakuan

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

$(6 - 1)\ (r - 1) \geq 15$

$5(r - 1) \geq 15$

$5r - 5 \geq 15$

$5r \geq 20$

$r \geq 4$

Berdasarkan perhitungan tersebut, pengulangan yang dapat dilakukan dalam penelitian ini adalah lebih dari atau sama dengan empat kali. Menurut Hanafiah (2016) jumlah ulangan suatu perlakuan tergantung pada derajat ketelitian yang diinginkan oleh peneliti terhadap kesimpulan hasil percobaan. Semakin banyak jumlah pengulangan yang dilakukan, maka derajat ketelitian juga akan semakin tinggi.

Oleh karena itu, pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah 4 kali pengulangan, sehingga diperoleh jumlah pemeriksaan sebesar 24 sampel. Syarat minimal jumlah pengulangan yang bisa dilakukan untuk percobaan laboratorium adalah cukup tiga kali pengulangan, maka pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini sudah memenuhi syarat (Hanafiah, 2016).

3. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah *simple random sampling* karena pengambilan anggota sampel dari populasi dilakukan secara acak tanpa memperhatikan strata yang ada dalam populasi (Sugiyono, 2012), dimana sampel ubi jalar kuning diambil dari pekebunan secara acak pada 9 titik pengambilan dan akan dicampur menjadi satu.

4. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah jumlah koloni jamur *Candida albicans* pada berbagai konsentrasi ubi jalar kuning dalam pembuatan media pertumbuhan dengan lima jenis perlakuan konsentrasi yaitu 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%. Variasi konsentrasi ini dipilih untuk mengetahui konsentrasi ubi jalar kuning yang paling efektif dalam menumbuhkan jamur *Candida albicans.* Kontrol dalam penelitian ini menggunakan media buatan berbahan akuades, gula dan agar.

D. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1 buah kompor (Maspion S300), 1 buah pisau, 28 buah *petridisk*, 2 buah tabung reaksi (*Pyrex*), 1 buah *hot plate* (Jisico), 1 buah *magnetic stirer*, 1 buah saringan, 1 buah densitometer Mc Farland (Biosan), 1 set standar Mc Farland (Prolab), 7 buah erlenmayer (*Pyrex*), 3

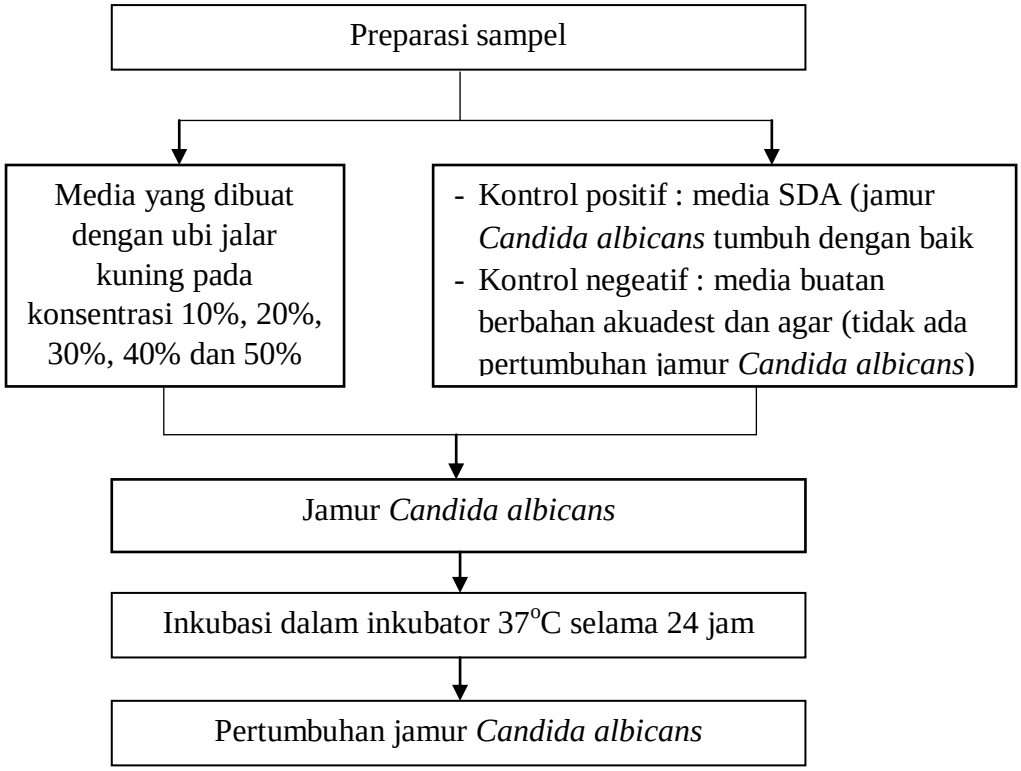
buah gelas beaker (*Pyrex*), 3 buah spatula, 1 buah batang pengaduk, 1 buah neraca analitik (Radwag), 1 buah *autoclave* (TOMY SX-500), 1 buah api bunsen, 1 buah ose, 2 buah gelas ukur (*Pyrex*), 1 buah mikropipet (Socorex), 2 buah tip, 1 buah *incubator* (Esco), 1 buah oven (Wegnec), 1 buah *Biosafety Cabinet* (Biobase), 1 buah *cell counter* dan alat tulis.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 500gram ubi jalar kuning, 12 gram agar, 12 gram gula pasir, 2 kapsul antibiotik kloramfenikol, 1 koloni jamur *Candida albicans*, 6,5gr media SDA, 3 buah ose disposable, 5 ml NaCl, alcohol 70%, 1 bungkus kapas, 1 gulung aluminium foil, 1 liter aquades dan 1 bungkus tissue.

E. Kerangka dan Prosedur Kerja

1. Kerangka kerja



Gambar 6. Kerangka Kerja

Penjelasan kerangka kerja:

Preparasi sampel ubi jalar kuning yang akan digunakan dalam pembuatan media dilakukan dengan homogenisasi pengambilan sampel ubi jalar kuning dan pembuatan filtrat ubi jalar kuning dengan konsentrasi 50% yang kemudian akan diencerkan menjadi konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40% untuk pembuatan media. Media yang dibuat dengan berbagai konsentrasi ubi jalar kuning masing-masing yaitu pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%, media yang dibuat dengan akuadest, gula dan agar sebagai kontrol negatif serta media SDA sebagai kontrol positif ditanami jamur *Candida albicans* dengan metode streak kuadra penuh. Kemudian diinkubasi dalam incubator pada suhu 37^0C selama 24 jam. Pertumbuhan jamur *Candida albicans* yaitu koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada media pertumbuhan dihitung jumlahnya dan dinyatakan dalam CFU/ml.

2. Prosedur kerja

a. Preparasi sampel

1) Diambil ubi jalar kuning langsung dari perkebunan pada usia tanam 2,5-3 bulan pada 9 titik pengambilan.
2) Sampel ubi jalar kuning kemudian dibersihkan, dicuci serta dikupas.
3) Sampel dari setiap titik ditimbang sebanyak 100gram, dicampurkan menjadi satu kemudian diblender.
4) Sampel ubi jalar kuning yang telah diblender dilakukan uji kadar air.

b. Uji kadar air

1) Tiga buah cawan dipanaskan dalam oven pada suhu 105^0C selama 30 menit.

2) Cawan didinginkan dengan dimasukkan kedalam desikator.

3) Ditimbang berat kosong cawan

4) Dimasukkan sampel ke dalam cawan lalu ditimbang hingga 10gram

5) Dipanaskan dalam oven selama 3 jam

6) Didinginkan dalam desikator selama 10 menit

7) Ditimbang berat cawan yang berisi sampel

8) Dimasukkan ke dalam oven kembali sampai berat konstan

9) Dihitung kadar air sampel

c. Pembuatan filtrat ubi jalar kuning dengan variasi konsentrasi

1) Konsentrasi 50%

a) Ditimbang 500gram ubi jalar kuning yang telah diblender

b) Dilarutkan sampai 1 liter larutan

c) Direbus selama 15 menit pada suhu 90-100^{0}C

d) Disaring rebusan ubi jalar kuning untuk mendapatkan filtratnya.

2) Konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40%

a) Diencerkan filtrat ubi jalar kuning dalam konsetrasi 10%, 20%, 30% dan 40% dari filtrat ubi jalar kuning konsentrasi 50%

b) Digunakan rumus pengenceran sebagai berikut :

$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

Keterangan rumus :

- V_1 : volume filtrat ubi jalar kuning yang akan diencerkan dari konsentrasi 50%.
- V_2 : volume larutan ubi jalar kuning yang akan dibuat yaitu 100 ml.
- M_1 : konsentrasi filtrat ubi jalar kuning yang akan diencerkan, yaitu 50%.

- M_2 : konsentrasi larutan ubi jalar kuning yang akan dibuat.

No	V_1 (ml)	M_1	V_2 (ml)	M_2	Aquadest steril (ml)
1	10	50 %	100	10 %	90
2	20	50 %	100	20 %	80
3	30	50 %	100	30 %	70
4	40	50 %	100	40 %	60

Tabel 3 : Penentuan konsentrasi larutan ubi jalar kuning

d. Sterilisasi alat

1) Alat–alat gelas dari sisa medium yang telah dipakai dan ditumbuhi oleh bakteri di masukkan kedalam autoclave untuk sterilisasi.

2) Dibiarkan sampai dingin agar dapat dilakukan pencucian alat dengan sabun dan air mengalir sampai bersih.

3) Dikeringkan alat–alat yang sudah dibersihkan.

4) Dibungkus cawan petri yang sudah dikeringkan dengan kertas

5) Dimasukkan kedalam oven dengan suhu 150°C selama 1 jam.

e. Pembuatan media sebagai kontrol negatif

1) Ditimbang agar dan gula pasir masing-masing sebanyak 2 gram

2) Ditambahkan akuades hingga 100 ml larutan dan dihomogenkan

3) Dimasukkan media kedalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C

4) Ditimbang kloramfenikol sebanyak 0,05 gram, dimasukkan ke dalam media dan dihomogenkan.

5) Dituang media ke dalam petri disk yang telah disiapkan.

6) Ditunggu hingga padat dan di beri label.

f. Pembuatan media tumbuh berbahan ubi jalar kuning

1) Ditimbang agar dan gula pasir masing-masing sebanyak 2 gram

2) Dimasukkan kedalam larutan ubi jalar kuning pada masing-masing konsentrasi
3) Ditambahkan akuades hingga 100 ml larutan dan dihomogenkan
4) Dimasukkan media kedalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C
5) Ditimbang kloramfenikol sebanyak 0,05 gram, dimasukkan ke dalam media dan dihomogenkan.
6) Dituang media ke dalam petri disk yang telah disiapkan.
7) Ditunggu hingga padat dan di beri label.

g. Pembuatan Media SDA

1) Ditimbang media SDA dengan neraca analitik sebanyak 6,5 gram
2) Ditambahkan akuades hingga 100 ml larutan dan dihomogenkan
3) Dimasukkan media kedalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C
4) Ditimbang kloramfenikol sebanyak 0,05 gram, dimasukkan ke dalam media dan dihomogenkan.
5) Dituang media ke dalam petri disk yang telah disiapkan.
6) Ditunggu hingga padat dan di beri label.

h. Pembuatan suspensi jamur *Candida albicans* 0,25 skala Mc Farland

1) Disiapkan ATCC jamur *Candida albicans* dan NaCl pada tabung reaksi sebanyak 5ml.
2) Diambil koloni tunggal jamur *Candida albicans* secukupnya dan dihomogenkan pada NaCl menggunakan ose
3) Diukur pada densitometer hingga mencapai angka 0,25 skala Mc Farland.

i. Penanaman jamur *Candida albicans* pada media

1) Diambil 0,1ml suspensi jamur *Candida albicans* 0,25 skala Mc Farland

2) Ditanam pada media yang sudah padat dengan metode straik kuadran penuh

3) Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

j. Pengamatan pertumbuhan jamur *Candida albicans*

1) Diamati dan dihitung jumlah koloni jamur *Candida albicans* dengan cell counter.

2) Dicatat hasil pengukurannya

F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer yang dikumpulkan dengan cara pengujian di laboratorium. Data primer dalam penelitian ini adalah data identifikasi jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada media tumbuh berbahan ubi jalar kuning dengan variasi konsentrasi

2. Teknik/cara pengumpulan data

Cara pengumpulan data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pemeriksaan laboratorium dengan melakukan perhitungan dengan alat hitung melalui eksperimen. Perhitungan dilakukan pada jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada media tumbuh berbahan ubi jalar kuning dengan variasi konsentrasi. Hasil perhitungan koloni jamur *Candida albicans* tersebut menunjukkan adanya perbedaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media tumbuh berbahan ubi jalar kuning dengan variasi konsentrasi.

3. Instrumen pengumpulan

Instrumen yang digunakan dalam pengumpulan data dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

a. Alat tulis, untuk mencatat hasil pengambilan data
b. Kamera, untuk melakukan dokumentasi kegiatan penelitian
c. Alat dan bahan yang digunakan dalam pengujian di laboratorium

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data hasil pengujian laboratorium berupa data jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada media alternatif berbahan ubi jalar kuning dengan variasi konsentrasi yang diolah menggunakan teknik pengolahan data secara tabel dan narasi.

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis kuantitatif, dilakukan dengan uji statistik menggunakan bantuan perangkat lunak komputer. Analisis data dilakukan dengan beberapa tahap, antara lain:

a. Untuk menguji data berdistribusi normal atau tidak digunakan uji kolmogorov smirnov.
b. Untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media tumbuh berbahan ubi jalar kuning dengan variasi konsentrasi, yaitu konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% apabila data berdistribusi normal digunakan uji one-way anova.
c. Untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media tumbuh berbahan ubi jalar kuning dengan variasi konsentrasi, yaitu

konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% apabila data berdistribusi tidak normal digunakan uji kruskal wallis.

d. Untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* antara masing-masing konsentrasi ubi jalar kuning dalam membuat media pertumbuhan. Apabila data berdistribusi normal uji yang digunakan adalah Uji statistik LSD (*Least Significant Deference).*

e. Untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* antara masing-masing konsentrasi ubi jalar kuning dalam membuat media pertumbuhan. Apabila data berdistribusi tidak normal uji yang digunakan adalah Uji statistik *Mann-Whitney*.