

## BAB IV METODE PENELITIAN

### A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian murni (*True Experiment*) menggunakan rancangan penelitian *Posttest Only Control Design*. Rancangan penelitian ini bertujuan untuk mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2010). Berikut tabel rancangan penelitian *Posttest Only Control Design* :

Tabel 3  
Rancangan *Posttest Only Control Design*

Kelompok	Perlakuan	Posttest
R <sub>1</sub>	X	O <sub>2</sub>
R <sub>2</sub>		O <sub>2</sub>

Sumber : Nasir, Muhith, dan Ideputri (2011)

Keterangan :

R<sub>1</sub> : Kelompok eksperimen yaitu perasan jeruk lemon dengan konsentrasi 5, 12,5, 25, 50, 75, dan 100%

R<sub>2</sub> : Kelompok kontrol yaitu aquadest steril

X : Perlakuan atau eksperimen

O<sub>2</sub> : Pengukuran zona hambat (posttest)

### B. Waktu dan Tempat Penelitian

#### 1. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Mei 2019.

## **2. Tempat penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar.

### **C. Sampel Penelitian**

#### **1. Sampel penelitian**

Sampel dalam penelitian ini adalah perasan jeruk lemon. Jeruk lemon diperoleh dari supermarket di kota Gianyar. Jeruk lemon yang diambil yaitu memiliki kriteria inklusi buah segar dan padat, berwarna kuning, dan memiliki panjang 7,3 - 7,5 cm, diameter 5,7 - 6 cm, dan dengan berat 120 - 125 gram, sedangkan kriteria eksklusi yaitu buah jeruk lemon yang lembek, layu, berwarna kuning kecoklatan, memiliki panjang, diameter dan berat yang tidak sesuai dengan kriteria yang ditentukan peneliti.

#### **2. Besar sampel penelitian**

Dari proses pemerasan jeruk lemon didapatkan perasan dengan konsentrasi 100% yang digunakan sebagai stok sampel. Perasan jeruk lemon diuji dengan 6 perlakuan yaitu konsentrasi 12,5, 25, 50, 75, dan 100%. Konsentrasi 12,5, 25, 50, dan 75% dibuat dengan mengencerkan perasan jeruk lemon konsentrasi 100% menggunakan aquadest steril.

Menurut Hanafiah (2016) dalam penentuan pengulangan dapat dihitung berdasarkan jumlah konsentrasi yang digunakan dan jumlah kelompok kontrol. Dalam penelitian ini menggunakan 6 perlakuan konsentrasi dan 1 kontrol sehingga total perlakuan dalam penelitian ini adalah 7 perlakuan. Dalam penelitian ini masing – masing perlakuan diulang dengan jumlah yang dapat ditentukan dari persamaan berikut :

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

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

r : Jumlah ulangan

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

$$(7 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$6r - 6 \geq 15$$

$$6r \geq 21$$

$$r \geq 3,5$$

$$r \geq 4 \text{ (Dibulatkan)}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, pengulangan sampel dilakukan sebanyak 4 kali, artinya dilakukan masing - masing 4 pengulangan untuk setiap perlakuan.

### **3. Unit analisis**

Unit analisis dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* pada variasi konsentrasi perasan jeruk lemon dengan lima jenis perlakuan konsentrasi yaitu 12,5, 25, 50, 75, dan 100%. Konsentrasi ini dipilih untuk mengetahui konsentrasi yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

## **D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data**

### **1. Jenis data yang dikumpulkan**

Jenis data yang didapatkan dari penelitian ini adalah data primer dengan melakukan eksperimen laboratorium. Data yang diperoleh berasal dari hasil

pengukuran zona hambat yang dihasilkan oleh perasan jeruk lemon dengan berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

## **2. Teknik pengumpulan data**

Teknik pengumpulan data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan pengukuran dengan alat ukur melalui eksperimen laboratorium. Pengukuran dilakukan pada diameter zona hambat *Propionibacterium acnes* yang dihasilkan oleh berbagai konsentrasi perasan jeruk lemon. Hasil pengukuran diameter zona hambat tersebut menunjukkan adanya daya hambatan yang dinyatakan dalam millimeter (mm).

## **3. Instrumen pengumpulan data**

Dalam penelitian ini digunakan instrument pengumpul data yaitu :

- a. Jangka sorong / mistar
- b. Alat tulis
- c. Kamera

## **E. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah alat pemeras jeruk (1 buah), tabung vial (2 buah), erlemeyer 100 ml (Pyrex) (2 buah), corong (1 buah), pisau (1 buah), ose bulat (1 buah), mikropipet 20 – 200  $\mu$ l dan 100 – 1000  $\mu$ l (SOCOREX) (masing – masing 1 buah), gelas ukur 250 ml (Pyrex) (1 buah), Pinset (1 buah), gelas kimia 1000 ml (DURAN) (1 buah), api bunsen (1 buah), *petridisk* (16 buah), tabung reaksi (Pyrex) (1 buah), tabung *eppendorf* (25 buah), rak tabung reaksi (1 buah), spatula (2 buah), batang pengaduk (2 buah), jangka sorong (1 buah), *Mc Farland* Densitometer (Biosan) (1 buah), neraca analitik

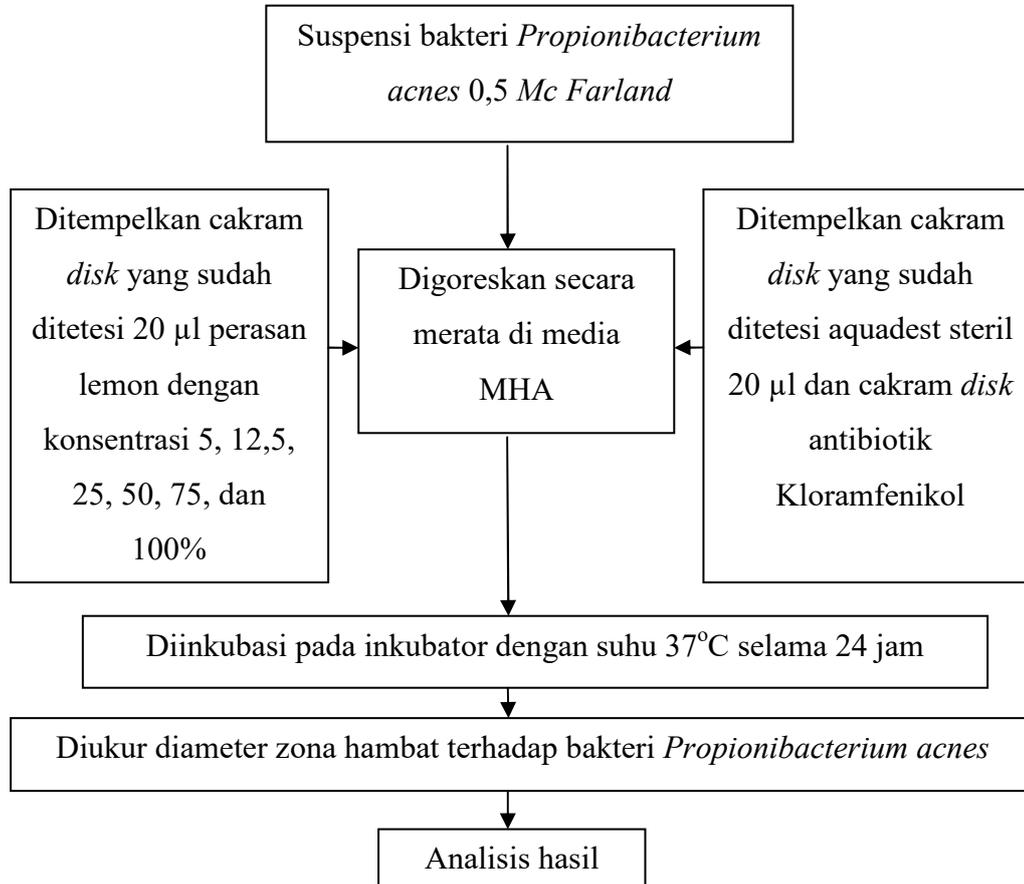
(RADWAG) (1 buah), *Biosafety Cabinet* (Biobase), Inkubator (ESCO Isoterm) (1 buah), Autoclave (TOMY SX-500) (1 buah), Hotplate (JISICO) (2 buah), *magnetic stirrer* (2 buah), Oven (eLOS) (1 buah), dan *refrigerator* (1 buah).

## **2. Bahan**

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah buah jeruk lemon (500 gram), aquadest steril (1000 ml), bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827, media *Mueller Hinton Agar* (Oxoid), standar 0,5 Mc Farland, larutan NaCl fisiologis 0,9%, Alkohol 70%, *blank cakram disk* (28 buah), cakram *disk* Kloramfenikol 30 µg (4 buah), *cotton swab* (1 buah), *Yellow tip* (35 buah), *Blue tip* (7 buah), kapas berlemak, aluminium foil, dan kertas saring.

## F. Skema Kerja dan Prosedur Kerja

### 1. Skema kerja



Gambar 5. Skema Kerja Penelitian

Keterangan gambar :

Bakteri *Propionibacterium acnes* yang telah dibuat suspensi dengan kekeruhan yang sama dengan standar 0,5 Mc Farland (setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml) digoreskan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) secara merata. Cakram *disk* dari masing – masing konsentrasi perasan buah jeruk lemon serta kontrol ditempelkan pada media MHA dengan jarak minimal tiap cakram *disk* adalah 15 mm kemudian diinkubasi pada suhu 37°C di dalam inkubator selama 24

jam. Diukur diameter zona hambat yang terbentuk pada setiap *disk* dan dianalisis menggunakan uji statistik dengan bantuan *software* komputer.

## 2. Prosedur kerja

### a. Sterilisasi alat

- 1) Disiapkan alat yang akan disterilisasi
- 2) Disterilkan dengan oven dengan suhu 105°C selama 60 menit

### b. Pembuatan perasan buah jeruk lemon

- 1) Buah jeruk lemon dicuci menggunakan air bersih
- 2) Ditimbang buah jeruk lemon sebanyak 500 gram
- 3) Dipotong buah jeruk lemon untuk mempermudah dalam proses pemerasan
- 4) Diperas buah jeruk lemon yang sudah dipotong
- 5) Hasil perasan ditampung di dalam erlenmeyer sambil disaring menggunakan kertas saring
- 6) Hasil perasan diukur volumenya dengan menggunakan gelas ukur dan ditimbang kembali sehingga didapatkan massanya
- 7) Konsentrasi 100% diperoleh tanpa penambahan larutan apapun

### c. Pembuatan konsentrasi perasan jeruk lemon

Konsentrasi perasan jeruk lemon yang akan dibuat yaitu 5, 12,5, 25, 50, 75, dan 100%. Untuk mendapatkan masing - masing konsentrasi, maka dilakukan pengenceran dengan metode volume per volume (v/v) dengan menggunakan bahan pelarut aquadest steril (Batubara, 2017). Rumus pengenceran yang digunakan yaitu :

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

Keterangan :

$V_1$  = Volume perasan buah jeruk lemon yang akan diencerkan dari konsentrasi 100%

$V_2$  = Volume perasan buah jeruk lemon yang akan dibuat yaitu 1 ml

$C_1$  = Konsentrasi perasan buah jeruk lemon yang akan diencerkan yaitu konsentrasi 100%

$C_2$  = Konsentrasi perasan buah jeruk lemon yang akan dibuat

Tabel 4  
Pembuatan Berbagai Konsentrasi Perasan Buah Jeruk Lemon

No.	$V_1$ (ml)	$C_1$ (%)	$V_2$ (ml)	$C_2$ (%)	Aquadest Steril (ml)
1.	0,05	100	1	5	0,95
2.	0,125	100	1	12,5	0,875
3.	0,25	100	1	25	0,75
4.	0,5	100	1	50	0,5
5.	0,75	100	1	75	0,25
6.	1	100	1	100	0

d. Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

- 1) Ditimbang bubuk media MHA sebanyak 7,6 gram
- 2) Bubuk yang telah ditimbang dipindahkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 200 ml
- 3) Media dilarutkan dan dipanaskan dengan hotplate
- 4) Setelah bubuk media larut dan homogen, erlenmeyer ditutup dengan kapas berlemak dan aluminium foil
- 5) Media disterilisasi dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit

- 6) Media yang telah disterilkan, didiamkan pada suhu ruang sampai suhu media sekitar 40 – 50°C
  - 7) Media dituangkan ke *petridisk* steril secara aseptis sebanyak 15 ml
  - 8) Media didiamkan hingga memadat
  - 9) Setelah media memadat, *petridisk* dibalik. Apabila media tidak langsung digunakan, media tersebut dapat disimpan di *refrigerator*
- e. Pembuatan suspensi bakteri *Propionibacterium acnes*
- 1) Satu sampai tiga ose koloni *Propionibacterium acnes* dari biakan murni diambil dan disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan NaCl 0,9%
  - 2) Suspensi dibandingkan dengan kekeruhan standar 0,5 *Mc Farland*
  - 3) Suspensi diukur dengan Densitometer
- f. Tahap pemeriksaan
- 1) Cakram *disk* kosong disiapkan dan diteteskan 20 µl perasan buah jeruk lemon pada setiap konsentrasi hingga seluruh cairan meresap ke dalam cakram *disk*
  - 2) Untuk kelompok kontrol digunakan cakram *disk* kosong yang telah diteteskan 20 µl aquadest steril sedangkan untuk pembanding digunakan cakram antibiotik Kloramfenikol
  - 3) Disiapkan suspensi bakteri *Propionibacterium acnes*
  - 4) Disiapkan *cotton swab* steril dan dicelupkan ke dalam suspensi tersebut
  - 5) *Cotton swab* steril diperas dengan cara menekannya pada dinding dalam tabung dan diangkat
  - 6) Dilakukan inokulasi pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) (goresan dilakukan secara merata hingga tertutupi seluruh permukaan media)

- 7) Media yang sudah mengandung suspensi didiamkan selama 5 sampai 15 menit
- 8) Masing – masing cakram *disk* yang telah jenuh dengan perasan jeruk lemon ditempelkan pada media yang sudah diinokulasikan suspensi bakteri dan sedikit ditekan dengan pinset hingga melekat sempurna
- 9) Kontrol negatif dan positif ditempelkan pada media MHA yang berbeda
- 10) Jarak antar cakram minimal 15 mm dan cakram *disk* yang telah ditempelkan tidak boleh dipindahkan atau digeser
- 11) Media yang sudah ditempel dengan cakram disk didiamkan 5 sampai 15 menit
- 12) Media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam posisi terbalik

g. Pelaporan hasil

- 1) Dilihat zona hambat yang terbentuk yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram disk
- 2) Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong (mm)

## **G. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Teknik pengolahan data**

Data yang terkumpul dari hasil eksperimen daya hambat perasan buah jeruk lemon terhadap *Propionibacterium acnes* yaitu berupa zona hambat yang dinyatakan dalam millimeter (mm). Kemudian data ditabulasikan ke dalam bentuk tabel dan naratif.

### **2. Analisis data**

Data yang telah diperoleh lalu dianalisis dengan uji statistik dengan bantuan *software* computer. Data diuji dengan menggunakan uji sebagai berikut :

- a. Uji *Kolmogorov-Smirnov* (KS)

Uji ini digunakan untuk normalitas data, apakah data berdistribusi normal atau tidak

b. Uji *One Way Anova*

Jika uji KW data berdistribusi normal, dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan zona hambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. Jika ada perbedaan, dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Deference*).

c. Uji LSD (*Least Significant Deference*)

Uji digunakan untuk mengetahui perbedaan zona hambat antara masing – masing konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes* apabila data berdistribusi normal.