

BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *true experimental design* dengan desain penelitian *Posttest only control design*. Penelitian *true experimental design* memiliki tingkat validitas internal yang tinggi, dikarenakan peneliti dapat mengontrol semua variabel luar yang mempengaruhi jalannya eksperimen (Sugiyono, 2014). Dalam *Posttest only control design* memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan atau intervensi pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Sugiyono, 2014).

	Perlakuan	<i>Posstest</i>
R1 (Kelompok Eksperimen)	X	02
R2 (Kelompok Kontrol)		02

Gambar 5. Desain Penelitian *Posttest Only Control Group Design*

Keterangan:

R1 : Kelompok eksperimen, dalam penelitian ini yaitu berbagai konsentrasi dari ekstrak etanol rumput teki konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80% dan 90%.

R2 : Kelompok kontrol, dalam penelitian ini terdiri dari kontrol negatif berupa cakram yang mengandung etanol 96% dan kontrol positif berupa cakram antibiotik *kloramfenikol*, yang digunakan sebagai kontrol kerja.

X : Perlakuan (Intervensi)

02 : Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analisis Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai bulan Juni 2018.

C. Sampel penelitian dan Unit analisis

1. Variabilitas populasi

Populasi pada penelitian kali ini adalah rumput teki dengan nama ilmiah *Cyprus rotundus Linn.* Bagian rumput teki yang digunakan pada penelitian kali ini adalah seluruh bagian tanaman (*whole plants*). *Whole plants* adalah rumput teki lengkap dari akar, umbi, daun, batang dan bunga.

2. Besar sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol rumput teki. Massa ekstrak etanol rumput teki yang diperlukan adalah sebanyak 3,5 g. Ekstrak rumput teki diuji dalam 5 konsentrasi yaitu 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dengan menggunakan etanol sebagai pelarut dalam pengenceran. Sebagai kontrol positif digunakan cakram disk kloramfenikol dan kontrol negatif menggunakan etanol. Jadi total perlakuan dalam penelitian ini sebanyak lima perlakuan.

Menurut Hanafiah (2016), syarat minimal jumlah pengulangan yang bisa dilakukan untuk percobaan laboratorium adalah cukup tiga kali pengulangan. Pada penelitian kali ini pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali pada setiap replikasi, dimana replikasi pada penelitian ini dilakukan sebanyak dua kali. Jadi jumlah data yang diperoleh sebanyak 30 data.

3. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat yang dihasilkan dari berbagai konsentrasi ekstrak etanol rumput teki yaitu 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang kemudian dikategorikan untuk menentukan daya hambat yang dihasilkan pada setiap konsentrasi.

D. Alat dan Bahan

1. Alat

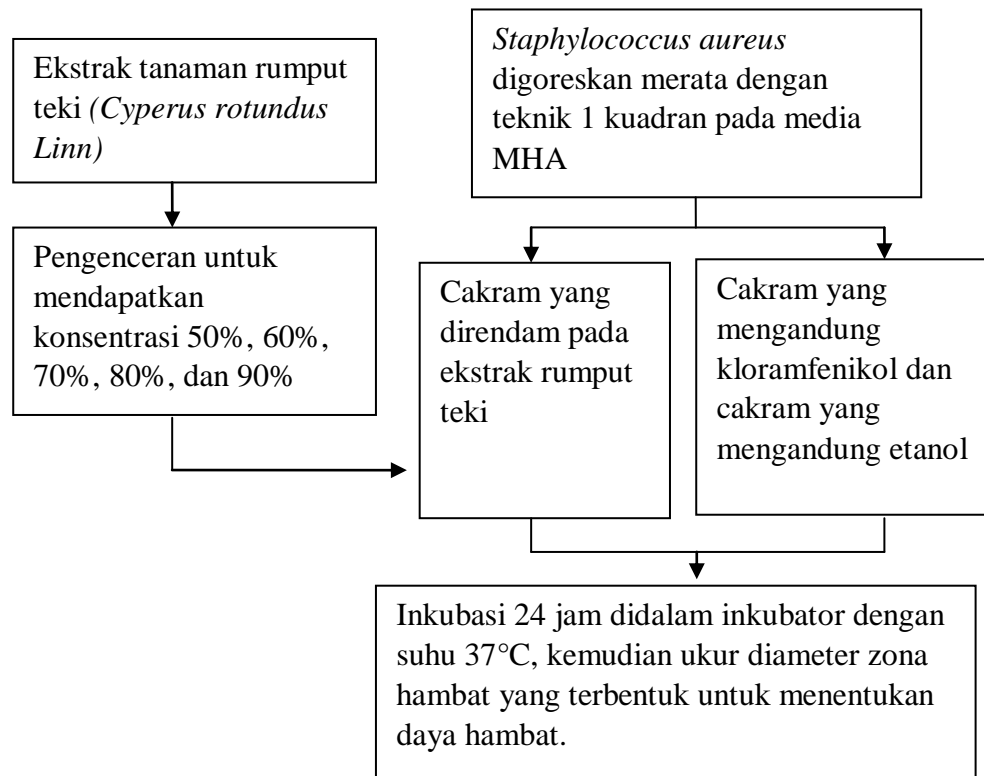
Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu : Tempayan (3 buah), blender (Miyako) (1 buah), neraca analitik (Radwag) (1 buah), pipet ukur (Pyrex) 1 ml dan 10 ml (2 buah), mikropipet (sororex) dan tip (1 buah), ball pipet (d & n ball pipet) (1 buah), gelas ukur (Pyrex) 1000 ml (1 buah), evaporator (1 buah), beaker glass (Pyrex) 50 ml dan 500 ml (1 buah), spiritus (1 buah), petridish steril (8 buah), tabung reaksi (1 buah), magnetik stirer (2 buah), Mac Farland densitometer (Biosan), Autoclave (Tomy Sx-500) (1 buah), Inkubator (Esco) (1 buah).

2. Bahan

Adapun bahan yang diperlukan yaitu rumput teki (*Cyperus rotundus Linn*), Aquadest steril (Brataco) 1000 ml, Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, media MHA (oxid), standar Mac Farland 0,5%, NaCl (Merk) fisiologis 0,9%, cakram kosong (56 buah), cakram antibiotik kloramfenikol (12 buah), kertas saring (3 buah), lidi kapas steril (2 buah), etanol 96% (1000 ml), aluminium foil.

E. Kerangka kerja dan Prosedur kerja

1. Kerangka kerja



Gambar 6 Kerangka kerja

2. Prosedur kerja

a. Persiapan sampel

- 1) Pembuatan ekstrak rumput teki (*Cyperus rotundus* Linn) dengan modifikasi metode maserasi menurut Kabbashi dkk (2015)
 - a) Rumput teki dibersihkan dengan cara dicuci dengan air bersih
 - b) Dikeringkan dengan diangin-anginkan selama kurang lebih 5 hari
 - c) Setelah kering, kemudian dihaluskan dengan blender dan disaring, serbuk yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk penelitian
 - d) Serbuk rumput teki (*Cyperus rotundus* Linn) ditimbang sebanyak 100 g kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker

- e) Ditambahkan dengan etanol 96% sebanyak kira-kira 500 ml atau lebih, hingga serbuk rumput teki terendam sempurna, kemudian didiamkan selama 3 hari terlindung dari sinar matahari sambil diaduk dengan stirer magnetik kira-kira 8 jam perhari, proses ini disebut dengan proses maserasi.
- f) Hasil maserasi kemudian disaring dengan kertas saring
- g) Dimasukkan supernatannya kedalam alat evaporator, dimana proses ini disebut dengan evaporasi hingga menghasilkan ekstrak rumput teki (*Cyperus rotundus Linn*) yang pekat.
- h) Hasil ekstraksi rumput teki yang dihasilkan ditampung dalam wadah yang telah disiapkan.
- 2) Pembuatan konsentrasi ekstrak rumput teki (*Cyperus rotundus Linn*) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% dengan mengencerkan ekstrak rumput teki yang telah dibuat dengan rumus pengenceran. Pengenceran dilakukan dengan etanol.
- a) Rumus pengenceran yang digunakan yaitu sebagai berikut :

$$\% = \frac{b}{v} \times 100$$

Keterangan rumus :

% : variasi konsentrasi dalam satuan persen

b : massa ekstrak etanol tanaman rumput teki (100%)

v : volume pengenceran

- b) Jumlah ekstrak rumput teki konsentrasi 100% yang diperlukan untuk masing-masing konsentrasi adalah sebagai berikut :

- (1) Konsentrasi 90% dibuat dengan menimbang 0,9 g ekstrak rumput teki konsentrasi 100% kemudian ditambahkan etanol sampai tanda batas satu ml pada tabung eppendorf.
 - (2) Konsentrasi 80% dibuat dengan menimbang 0,8 g ekstrak rumput teki konsentrasi 100% kemudian ditambahkan etanol sampai tanda batas satu ml pada tabung eppendorf.
 - (3) Konsentrasi 70% dibuat dengan menimbang 0,7 g ekstrak rumput teki konsentrasi 100% kemudian ditambahkan etanol sampai tanda batas satu ml pada tabung eppendorf.
 - (4) Konsentrasi 60% dibuat dengan menimbang 0,6 g ekstrak rumput teki konsentrasi 100% kemudian ditambahkan etanol sampai tanda batas satu ml pada tabung eppendorf.
 - (5) Konsentrasi 50% dibuat dengan menimbang 0,5 g ekstrak rumput teki konsentrasi 100% kemudian ditambahkan etanol sampai tanda batas satu ml pada tabung eppendorf.
- 3) Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)
- a) Ditimbang sebanyak 3,8 g medium dan ditambahkan sebanyak 100 ml Aquades (etiket media 38,0 g medium disuspensikan ke dalam satu L aquadest)
 - b) Medium dipanaskan selama satu menit pada hotplate sambil diaduk sampai serbuk benar-benar larut dan tercampur dengan sempurna
 - c) Masukkan ke dalam erlenmeyer untuk disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan satu sampai dua atm

- d) Setelah selesai, keluarkan dari autoklaf dan tunggu hingga agak dingin \pm suhu 40- 45 °C
 - e) Tuangkan ke dalam cawan petri (*Plate*) masing-masing plate sebanyak sebanyak 15 ml
- b. Tahap pemeriksaan (Vandeppite dkk., 2011).
- 1) Suspensi bakteri *Stapylococcus aureus* dengan kepekatan Mc Farland 0,5% disiapkan
 - 2) Swab kapas steril disiapkan dan dicelupkan ke dalam suspensi bakteri. Setelah suspensi bakteri meresap, swab kapas steril diangkat dan diperas dengan cara menekannya pada dinding tabung bagian dalam sambil diputar-putar
 - 3) Swab kapas yang telah dicelupkan tadi disebar dengan cara digores-goreskan pada permukaan media MHA sampai seluruh permukaan tertutup rapat dengan goresan-goresan. Goresan dilakukan dengan merata hingga menutup seluruh permukaan media.
 - 4) Media MHA didiamkan 5-15 menit agar suspensi bakteri meresap ke dalam.
 - 5) Cakram *disk* kosong disiapkan dan cakram *disk* ini ditetaskan 20 μ l masing-masing konsentrasi ekstrak rumput teki hingga seluruh cairan meresap ke dalam cakram *disk*
 - 6) Masing-masing cakram yang telah jenuh dengan konsentrasi ekstrak rumput teki kemudian ditempelkan pada permukaan media MHA yang telah digoreskan suspensi bakteri dan sedikit ditekan dengan pinset sampai melekat sempurna
 - 7) Kontrol positif dan negatif ditempelkan pada media MHA

- 8) Atur jarak cakram kira-kira 15 mm antara cakram yang lainnya
- 9) Media yang telah ditanami cakram diinkubasi di inkubator selama 24 jam dengan posisi terbalik pada suhu 37°C
- 10) Setelah diinkubasi diukur zona bening yang terbentuk dengan jangka sorong

c. Pelaporan hasil

Hasil dilaporkan dengan cara menghitung zona hambat yang terjadi pada setiap konsentrasi dan pada kontrol negatif dan kontrol positif dengan menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan mm.

F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data

Jenis data yang digunakan adalah data primer. Dimana menurut (Sugiyono, 2014), data primer merupakan data yang diperoleh melalui pengamatan langsung oleh peneliti. Dalam penelitian ini data primer tersebut meliputi data zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi ekstrak rumput teki (*Cyperus rotundus Linn*) secara in vitro.

2. Teknik pengumpulan data

Dalam penelitian ini teknik pengumpulan data yang digunakan adalah dengan melakukan eksperimen dan pemeriksaan laboratorium menggunakan metode difusi cara *Kibry-Bauer* (cakram)

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data diameter zona hambat yang diperoleh melalui eksperimen perbedaan zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi

ekstrak rumput teki yang dinyatakan dalam satuan mm (milimeter) yang diolah menggunakan teknik pengolahan data secara tabulating dan naratif.

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis kuantitatif, dilakukan dengan uji statistik menggunakan bantuan perangkat lunak komputer (software). Analisis data dilakukan dengan beberapa tahap.

a. Uji normalitas data

Digunakan uji kolmogorov Smirnow (KS) untuk mengetahui data tersebut berdistribusi normal atau tidak.

b. Uji beda

Uji *One way Anova* digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro pada berbagai konsentrasi ekstrak rumput teki yang diuji pada penelitian ini. Untuk mengetahui perbedaan zona hambat antara masing-masing konsentrasi yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* uji statistik yang digunakan adalah LSD (*Least Significant Deference*)