

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Dalam penelitian “Uji Daya Hambat Perasan Buah Jeruk Nipis dengan Berbagai Konsentrasi Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*”, jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental design*. Design yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Posttest Only Control Design* dimana konsentrasi perasan buah jeruk nipis 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% merupakan kelompok eksperimen sedangkan kelompok yang tidak diberi perlakuan disebut dengan kelompok kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif yang digunakan sebagai kontrol kerja (Sugiyono, 2017).

Tabel 3
Rancangan *Posttest Only Control Design*

Kelompok Uji	Perlakuan	Posttest
R ₁	X	O ₂
R ₂		O ₂

Keterangan :

- R₁ : Kelompok eksperimen merupakan perasan buah jeruk nipis dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.
- R₂ : Kelompok kontrol dimana kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik *Ciprofloxacin* sementara kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest.
- X : Perlakuan atau eksperimen
- O₂ : Pengukuran kedua (*posttest*)

B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Januari 2018 sampai Juni 2018.

2. Tempat penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analisis Kesehatan, Politeknik Kesehatan Denpasar, Jalan Sanitasi No.1, Sidakarya.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah buah jeruk nipis berwarna hijau, berbentuk bulat dengan diameter 3,5 – 5 cm yang telah melalui proses pemerasan.

2. Sampel penelitian

Pada penelitian ini yang menjadi sampel penelitian adalah air perasan buah jeruk nipis dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Dalam penelitian ini dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Penelitian ini dilakukan dengan melakukan empat kali replikasi dengan tiga kali pengulangan, sehingga jumlah unit sampel yang didapatkan sebanyak 60 unit sampel.

D. Jenis dan Cara Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang didapatkan dari penelitian ini adalah data primer dimana data yang diperoleh berasal dari hasil pengukuran zona daya hambat yang dihasilkan oleh air perasan buah jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi terhadap *Pseudomonas aeruginosa* melalui eksperimen laboratorium.

2. Cara pengumpulan data

Cara pengumpulan data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan melakukan pengukuran dengan alat ukur melalui eksperimen. Pengukuran dilakukan pada diameter zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* pada berbagai konsentrasi air perasan buah jeruk nipis. Hasil pengukuran diameter zona hambat tersebut menunjukkan adanya aktivitas penghambatan yang dinyatakan dalam milimeter (mm).

3. Instrumen pengumpulan data

Dalam penelitian ini yang digunakan sebagai instrumen pengumpul data adalah jangka sorong, kamera, alat tulis.

E. Alat, Bahan, dan Prosedur Kerja

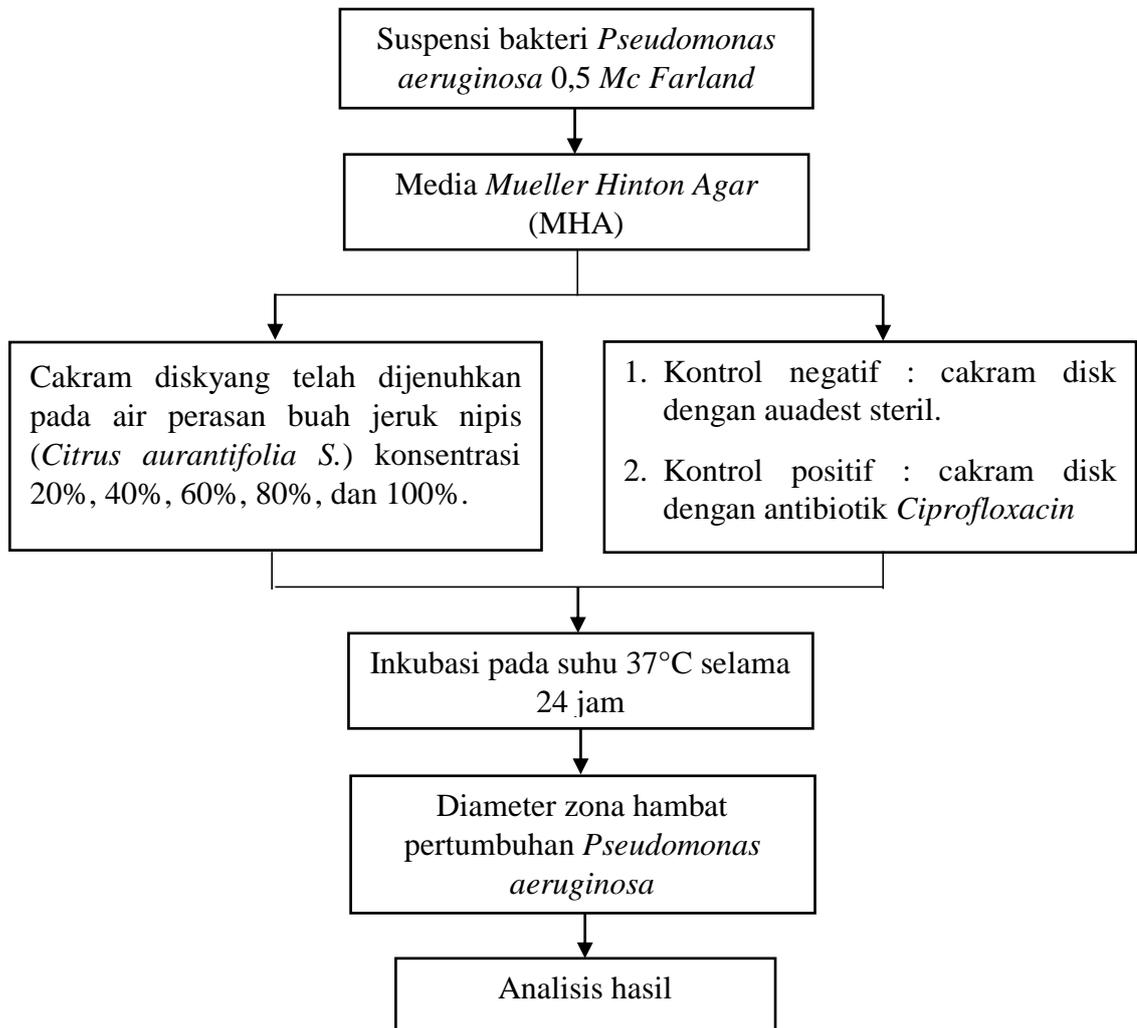
1. Alat

Alat pemeras jeruk, erlenmeyer, pipet ukur, mikropipet, dan tip, ball pipet, gelas ukur, beaker glass, spiritus, petri disk steril, tabung reaksi dan rak tabung reaksi, *Mc Farland* densitometer, *bio safety cabinet* (BSC), dan jangka sorong.

2. Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini, yaitu : buah jeruk nipis, aquadest steril, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, media *Mueller Hinton Agar*, standar *Mc Farland* 0,5%, larutan NaCl fisiologis 0,85%, cakram disk kosong, *Ciprofloxacin*, swab kapas steril, aluminium foil, kertas saring.

3. Skema kerja



Gambar 5. Skema Kerja

4. Prosedur kerja

a. Pembuatan perasan buah jeruk nipis

- 1) Buah jeruk nipis yang telah dipetik dicuci menggunakan air bersih.
- 2) Ditimbang buah jeruk nipis sebanyak 500 gram.
- 3) Buah jeruk nipis dipotong menjadi 2 bagian.
- 4) Tiap-tiap potongan buah jeruk nipis diperas.
- 5) Hasil perasan kemudian ditampung ke dalam tabung Erlenmeyer sambil disaring menggunakan kertas saring sampai didapatkan cairan sebanyak 100 ml.

6) Buah jeruk nipis yang telah diperas ditimbang kembali sehingga didapatkan massa sebesar 300 gram. Dihitung besar kadar penyusutan buah jeruk nipis (kadar penyusutan \pm 60%).

7) Konsentrasi 100% diperoleh tanpa penambahan larutan apapun.

(Yahya, 2016).

b. Pengenceran perasan buah jeruk nipis dari konsentrasi 100%

1) Konsentrasi perasan buah jeruk nipis yang akan dibuat yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Konsentrasi ini dibuat dengan mencampurkan perasan buah jeruk nipis dengan larutan pengencer aquadest steril.

2) Rumus pengenceran yang digunakan :

$$\text{Rumus : } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

Keterangan rumus :

V_1 : volume perasan buah jeruk nipis yang akan diencerkan dari konsentrasi 100%.

V_2 : volume perasan buah jeruk nipis yang akan dibuat yaitu 1 ml.

C_1 : konsentrasi perasan buah jeruk nipis yang akan diencerkan, yaitu 100%.

C_2 : konsentrasi perasan buah jeruk nipis yang akan dibuat.

Tabel 4
Tabel Pengenceran Konsentrasi Perasan Jeruk Nipis

No.	V_1 (ml)	C_1	V_2 (ml)	C_2	Aquadest Steril (ml)
1.	0,2	100%	1	20%	0,8
2.	0,4	100%	1	40%	0,6
3.	0,6	100%	1	60%	0,4
4.	0,8	100%	1	80%	0,2

c. Pembuatan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

- 1) Satu sampai tiga ose koloni *Pseudomonas aeruginosa* dari biakan murni diambil dan disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 5 ml larutan NaCl fisiologis 0,85%.
- 2) Suspensi dibandingkan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5%.
- 3) Suspensi diukur dengan menggunakan *Mc Farland* densitometer.

d. Tahap pemeriksaan

- 1) Cakram disk kosong disiapkan dan cakram disk ini direndam dalam perasan buah jeruk nipis pada setiap konsentrasi hingga seluruh cairan meresap ke dalam cakram disk.
- 2) Untuk kontrol negatif, cakram disk kosong direndam ke dalam aquadest steril.
- 3) Untuk kontrol positif digunakan cakram disk antibiotik *Ciprofloxacin*.
- 4) Suspensi *Pseudomonas aeruginosa* disiapkan.
- 5) 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.
- 6) Swab kapas yang telah berisi suspensi diinokulasikan pada media *Mueller Hinton Agar*. Goresan dilakukan secara merata hingga menutupi seluruh permukaan media.
- 7) Media didiamkan selama 5 hingga 15 menit agar suspensi meresap ke dalam media.
- 8) Masing-masing cakram disk yang telah jenuh dengan perasan buah jeruk nipis ditempelkan pada media *Mueller Hinton Agar* yang sudah diinokulasi dan sedikit ditekan dengan pinset hingga melekat sempurna.

- 9) Kontrol positif dan negatif ditempelkan pada media Mueller Hinton Agar yang berbeda.
- 10) Jarak antara satu cakram dengan cakram yang lain minimal 15 mm dan cakram yang telah ditempelkan pada permukaan media tidak boleh dipindahkan atau digeser.
- 11) Media *Mueller Hinton Agar* yang telah ditanami cakram disk diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam posisi terbalik.

e. Pelaporan hasil

- 1) Adanya zona hambat dilihat dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong (dalam satuan mm)
- 2) Diameter zona hambat yang diukur yaitu daerah jernih sekitar cakram *disk* (tidak ada pertumbuhan bakteri) diukur dari ujung satu keujung yang lain melalui tengah-tengah cakram *disk*.

F. Unit Analisis Data

Unit analisis dalam penelitian ini adalah aktivitas antimikroba perasan buah jeruk nipis terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan perlakuan lima jenis konsentrasi yaitu, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Penelitian ini dilakukan dengan metode difusi dengan cara *Kirby Bauer* dengan cara mengukur diameter zona hambat dari kelima konsentrasi. Hasil pengukuran yang diameter zona hambat masing-masing konsentrasi yang menunjukkan aktivitas penghambatan dinyatakan dalam milimeter (mm).

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data yang terkumpul dari hasil eksperimen daya hambat perasan buah jeruk nipis terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, yaitu berupa diameter zona hambat yang

dinyatakan dalam milimeter (mm). Kemudian data ditabulasikan ke dalam bentuk tabel dan naratif.

2. Analisis data

Data yang telah diperoleh dan disajikan dianalisis dengan uji statistik dengan bantuan aplikasi komputer. Data diuji dengan menggunakan uji sebagai berikut :

- a. Uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk menguji apakah data berdistribusi normal atau tidak.
- b. Uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui adanya perbedaan zona hambat pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.
- c. Uji *Mann Whitney U*, uji ini digunakan untuk mengetahui perbedaan yang signifikan zona hambat antara masing-masing konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.