

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian *true experimental design* yaitu subjek penelitian ditentukan secara random sebagai kelompok eksperimental dan kelompok kontrol. Dalam penelitian ini digunakan design *Posttest Only Control Group Design*, yang merupakan kelompok eksperimen dalam penelitian ini adalah konsentrasi cuka apel 15%, 20%, 25%, dan 30% sedangkan kelompok kontrol adalah kelompok yang tidak diberi perlakuan (Ratminingsih, 2010).

Tabel 5
Posttest Only Control Design

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

Sumber : Ratminingsih. *Penelitian Eksperimental Dalam Pembelajaran Bahasa Kedua*. 2010.

Keterangan tabel :

R₁ : Kelompok eksperimen yaitu cuka apel dengan konsentrasi 15%, 20%, 25% dan 30%

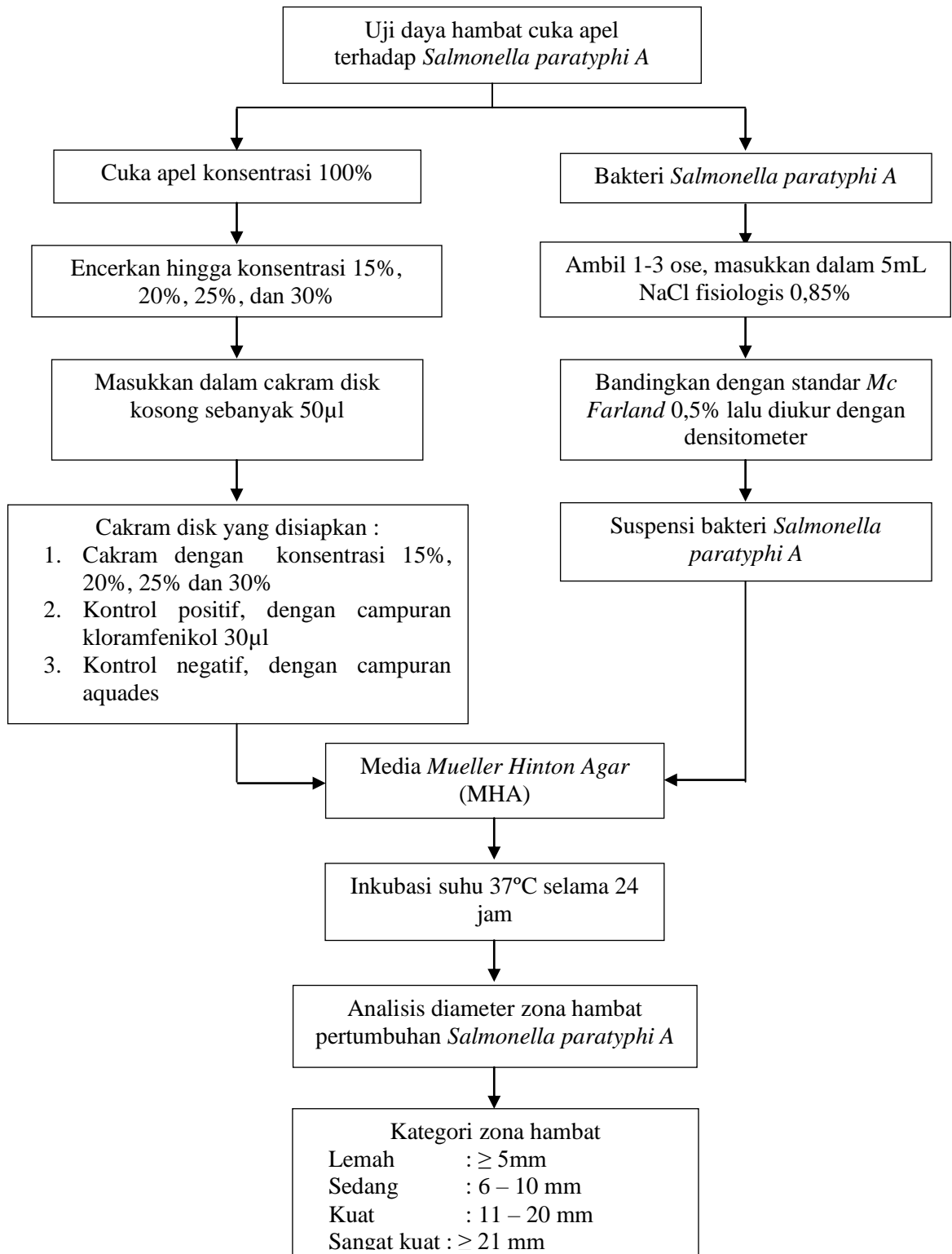
R₂ : Kelompok kontrol yaitu kloramfenikol 30μg sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif.

X : Perlakuan terhadap sampel

O₂ : Pengukuran kedua

B. Alur Penelitian

1. Skema Kerja



Gambar 5. Kerangka Kerja

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai bulan April 2021.

2. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar, Jalan Sanitasi No.1 Sidakarya.

D. Populasi dan Sampel

1. Sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah cuka apel merk Bragg dengan label RAW.

2. Besar sampel penelitian

Cuka apel yang digunakan yaitu cuka apel yang memenuhi kriteria inklusi dengan konsentrasi 100% sebagai stok sampel. Cuka apel di uji dengan 4 perlakuan yaitu dengan variasi konsentrasi 15%, 20%, 25%, dan 30% yang dibuat dengan mengencerkan stok sampel menggunakan aquadest. Dalam penelitian ini menggunakan kontrol negatif yaitu cakram dengan aquadest dan kontrol positif yaitu cakram dengan kloramfenikol 30 μ g.

Kontrol kerja berfungsi sebagai data pembanding dengan perlakuan yang akan dilakukan. Total perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 perlakuan konsentrasi dan 2 perlakuan kontrol sehingga total perlakuan dalam penelitian ini adalah 6 perlakuan. Masing-masing perlakuan diulang dengan jumlah yang dapat ditentukan dari persamaan berikut (Wahyuningrum dan Probosari, 2012) :

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

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. Percobaan di laboratorium, biasanya cukup 3 kali pengulangan, namun semakin banyak atau bertambah pengulangan maka akan semakin meningkat ketelitiannya (Sucipta, 2015). Pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah 4 kali pengulangan konsentrasi sehingga diperoleh 16 data perlakuan konsentrasi dan 2 kali pengulangan kontrol sehingga diperoleh 4 data kontrol. Total data yang didapatkan sejumlah 20 data.

3. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah teknik *purposive sampling*, teknik ini digunakan karena sampel yang digunakan harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi yang dipenuhi yaitu sampel berlabel RAW, memiliki warna keruh kecoklatan, berisi endapan (*mother*), memiliki aroma khas apel atau seperti tape dan belum melewati tanggal

kadaluarsa, sedangkan kriteria eksklusi sampel yaitu berwarna bening tanpa endapan, memiliki aroma busuk, produk sudah kadaluarsa.

4. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Salmonella paratyphi A* pada berbagai variasi konsentrasi cuka apel dengan empat jenis perlakuan yaitu 15%, 20%, 25%, dan 30%. Konsentrasi ini dipilih untuk mengetahui konsentrasi yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella paratyphi A*.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

Jenis data yang dikumpulkan adalah data primer. Data primer dalam penelitian ini meliputi data hasil pengukuran zona daya hambat yang dihasilkan dari cuka apel dengan berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Salmonella paratyphi A* yang diperoleh dari penelitian di laboratorium.

2. Cara pengumpulan data

Pengumpulan data dilakukan dengan melakukan pengukuran dengan alat ukur melalui penelitian yang dilakukan. Pengukuran dilakukan terhadap diameter zona hambat yang terbentuk dari pertumbuhan bakteri *Salmonella paratyphi A* pada berbagai konsentrasi cuka apel. Hasil dari pengukuran tersebut dinyatakan dalam satuan milimeter (mm).

3. Instrumen pengumpulan data

Dalam penelitian ini terdapat beberapa instrumen yang diperlukan untuk pengumpulan data yaitu alat tulis, jangka sorong, dan kamera.

4. Alat dan bahan

a. Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain : Gelas ukur, beaker glass, erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, petridish, pipet ukur, ball pipet, jangka sorong, spiritus, mikropipet (SOCOREX) dan tip, inkubator (ESCO Isotherm), autoklaf (TOMY SX-500), *Mc Farland* densitometer, neraca analitik (RADWAG AS220.R2), *Bio Safety Cabinet* (BSC-1800 II B2-X).

b. Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain : Bakteri *Salmonella paratyphi A*, cuka apel, aquadest, standar *Mc Farland* 0,5%, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *Salmonella Shigella Agar* (SSA), larutan NaCl fisiologis 0,85%, alkohol 70%, lidi kapas steril, aluminium foil, cakram disk kosong, cakram disk kloramfenikol (OXOID).

5. Prosedur Kerja

a. Pelaksanaan protokol kesehatan

Sebelum melakukan preparasi sampel, digunakan Alat Pelindung Diri (APD) terlebih dahulu. Adapun APD yang digunakan yaitu masker, handscoon, dan jas laboratorium. Setelah menggunakan APD yang lengkap dilakukan desinfeksi pada botol sampel cuka apel pada bagian luar dengan alkohol 70% dan desinfeksi pada area kerja.

b. Pengenceran cuka apel

- 1) Cuka apel dengan konsentrasi 100% diencerkan dengan aquadest steril hingga mencapai konsentrasi yang diinginkan yaitu 15%, 20%, 25%, dan 30%.

2) Pengenceran dilakukan dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Rumus : } \% = \frac{v}{v} \times 100$$

Keterangan rumus :

% : variasi konsentrasi dalam satuan persen

V_{sampel} : volume sampel yaitu konsentrasi cuka apel (100%)

$V_{\text{pengencer}}$: volume pengenceran

Sehingga proses pengenceran yang akan dilakukan adalah sebagai berikut :

- a) Konsentrasi 15% disiapkan dengan memipet cuka apel dari konsentrasi 100% sebanyak 1,5 mL dan ditambahkan aquadest hingga volume 10 mL.
 - b) Konsentrasi 20% disiapkan dengan memipet cuka apel dari konsentrasi 100% sebanyak 2 mL dan ditambahkan aquadest hingga volume 10 mL.
 - c) Konsentrasi 25% disiapkan dengan memipet cuka apel dari konsentrasi 100% sebanyak 2,5 mL dan ditambahkan aquadest hingga volume 10 mL.
 - d) Konsentrasi 30% disiapkan dengan memipet cuka apel dari konsentrasi 100% sebanyak 3 mL dan ditambahkan aquadest hingga volume 10 mL.
- c. Pembuatan suspensi bakteri
- 1) Koloni bakteri *Salmonella paratyphi A* diambil satu sampai tiga ose dari biakan murni.
 - 2) Koloni bakteri dimasukkan kedalam tabung yang telah diisi dengan larutan NaCl fisiologis 0,85% sebanyak 5mL.
 - 3) Suspensi dibandingkan dengan kekeruhan standar *Mc Farland* 0,5%.
 - 4) Suspensi diukur dengan menggunakan *Mc Farland* densitometer.
- d. Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

- 1) Media bubuk MHA ditimbang sebanyak 3,8 gram dan ditambahkan aquades sebanyak 100mL (etiket media: 38 gram medium disuspensikan kedalam 1 L aquades).
 - 2) Medium dipanaskan selama 1 menit pada hotplate dan diaduk sampai serbuk benar-benar larut dan homogen.
 - 3) Medium dimasukkan kedalam erlenmeyer untuk disterilisasi di dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C dihitung dari tercapainya suhu 121°C.
 - 4) Medium dikeluarkan dari autoclave dan tunggu suhu menurun menjadi \pm 40-45°C.
 - 5) Medium dituangkan kedalam cawan petri dengan masing-masing berisi 15 mL larutan, diamkan dan tunggu hingga memadat.
- e. Tahap pemeriksaan
- 1) Cakram disk kosong dijenuhkan dengan cuka apel dari berbagai konsentrasi yaitu 15%, 20%, 25%, dan 30%, lalu diletakkan pada plate kosong.
 - 2) Lidi kapas steril yang telah disiapkan selanjutnya dicelupkan kedalam suspensi bakteri 0,5 Mc Farland yang telah disiapkan, lalu diangkat dan diperas dengan cara menempelkan lidi kapas pada dinding tabung.
 - 3) Selanjutnya bakteri diinokulasikan pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) hingga merata di seluruh permukaan media dan media ditutup kembali.
 - 4) Media yang telah diinokulasikan suspensi didiamkan selama 15 menit agar suspensi bakteri dapat meresap kedalam media.

- 5) Cakram disk yang telah dijenuhkan dari masing-masing konsentrasi ditempelkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasi dengan menggunakan pinset. Cakram yang telah ditempelkan pada permukaan media tidak boleh dipindah atau digeser.
- 6) Kontrol positif dan kontrol negatif ditempelkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasi yang berbeda dengan media konsentrasi.
- 7) Jarak antara cakram satu dengan yang lainnya minimal 15 mm.
- 8) Media yang telah ditempelkan cakram disk diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik.

f. Pelaporan hasil

Hasil dilaporkan dengan melihat dan mengukur zona hambat yang terbentuk pada pertumbuhan bakteri *Salmonella paratyphi A* dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat yang diukur merupakan daerah bening yang muncul disekitar cakram disk (tidak ada pertumbuhan bakteri), pengukuran dilakukan dengan cara mengukur dari ujung satu ke ujung lainnya melalui tengah-tengah cakram.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data yang dihasilkan berdasarkan pengukuran diameter zona hambat yang diperoleh melalui eksperimen pengujian aktivitas antibakteri cuka apel terhadap bakteri *Salmonella paratyphi A* yang dinyatakan dalam satuan milimeter (mm) diolah dengan menggunakan teknik pengolahan data secara tabulating data yaitu data disajikan dalam bentuk tabel dan narasi.

2. Analisis data

Analisis data dilakukan dengan cara kuantitatif yaitu dilakukan dengan uji statistik dengan bantuan aplikasi komputer. Analisis data dilakukan dengan beberapa tahap, yaitu:

- a. Untuk menguji data berdistribusi normal atau tidak digunakan uji *Shapiro-Wilk*.
- b. Apabila data berdistribusi normal digunakan uji *One Way Anova* untuk mengetahui adanya perbedaan dari berbagai konsentrasi cuka apel terhadap zona hambat pertumbuhan *Salmonella paratyphi A*.
- c. Apabila data berdistribusi tidak normal digunakan uji *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Salmonella paratyphi A* terhadap berbagai konsentrasi cuka apel.
- d. Untuk mengetahui perbedaan yang signifikan zona hambat antara masing-masing konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella paratyphi A* digunakan uji *Least Significant Deference (LSD)*.