

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian kuantitatif *true experimental design*. Design yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Posttest Only Control Group Design*, konsentrasi minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) 55%, 70%, 85% dan 100% merupakan kelompok eksperimen sedangkan kelompok yang tidak diberi perlakuan disebut dengan kelompok kontrol (Noor, 2011)

Tabel 4.
Rancangan *Posttest Only Control Design*

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

Keterangan :

- R₁ : Kelompok eksperimen merupakan minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) dengan konsentrasi 55%, 70%, 85% dan 100%
- R₂ : Kelompok kontrol kerja yang digunakan adalah dietil eter sebagai kontrol negatif dan klindamisin 2 µg sebagai kontrol positif.
- X : Perlakuan atau eksperimen
- O₂ : Pengukuran kedua (*posttest*)

B. Tempat Dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

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

2. Waktu Penelitian

Adapun waktu penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai April 2021.

C. Sampel Penelitian

1. Sampel penelitian

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.).

2. Besar Sampel Penelitian

Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 55%, 70%, 85% dan 100%. Pengenceran kontrol negatif yang digunakan berupa cakram yang direndam dietil eter dan kontrol positif yang digunakan berupa cakram antibiotik klindamisin 2 µg. 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 :

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

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 dengan replikasi dua kali, sehingga didapat besar sampel sebanyak 32 sampel.

D. Jenis, Teknik Dan Instrumen Pengumpulan Data

1. Jenis Data Yang Dikumpulkan

a. Data primer adalah data primer yang telah diperoleh dari subyek penelitian meliputi :

Data primer dimana data yang diperoleh berasal dari hasil pengukuran zona daya hambat yang dihasilkan minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) dengan berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* melalui eksperimen laboratorium.

b. Data Sekunder

Data sekunder dalam penelitian ini diperoleh dari penelitian sebelumnya yang meliputi jurnal, karya tulis ilmiah, skripsi, dan thesis yang berhubungan dengan penelitian ini.

2. Teknik 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 *Propionibacterium acnes* pada berbagai konsentrasi minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.). Hasil pengukuran diameter zona hambat tersebut menunjukkan adanya aktivitas penghambatan yang dinyatakan dalam millimeter (mm).

3. Instrumen pengumpulan data

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

E. Alat, Bahan dan Prosedur Kerja

1. Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini, yaitu : Erlenmeyer (250ml, 500ml, Merk Pyrex Iwaki), pipet ukur (5ml, Merk Pyrex), ball pipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikropipet (25 μ L, 1000 μ L, Merk SOCOREX), dan tip, gelas ukur (10 ml, Pyrex iwaki), beaker glass (500ml, pyrex iwaki), spiritus, petri disk steril, autoklaf (TOMY SX-500), incubator (ESCO Isotherm), neraca analitik (RADWAG AS220.R2), *Mc Farland* densitometer , *Bio Safety Cabinet* (BSC-1800 II B2-X), dan jangka sorong.

2. Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini, yaitu : minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum L.*), aquadest steril, pelarut nonpolar (dietil eter), bakteri *Propionibacterium acne* ATCC 11827, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), standar *Mc Farland* 0,5%, larutan NaCl fisiologis 0,85%, cakram disk kosong, cakram disk *Klindamisin* (OXOID) , alkohol 70%, *swab* kapas steril, aluminium foil.

3. Prosedur Kerja

a. Pembuatan Media Muller Hinton

Media agar Muller Hinton ditimbang sebanyak 38 gram dilarutkan dalam aquadest steril sebanyak 1 L dengan cara dididihkan. Setelah larut, disterilkan

dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Larutan dituang ke dalam cawan petri steril sampai ketebalan 9 mm dan ditutup lalu dibiarkan sampai memadat di suhu ruangan (Kumalasari and Suswati, 2015)

b. Pengenceran minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.)

1) Konsentrasi minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) yang akan dibuat yaitu 55%, 70%, 85% dan 100% Konsentrasi ini dibuat dengan mencampurkan minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) dengan larutan pengencer dietil eter. Dietil eter dipilih karena kegunaannya sebagai pelarut diantaranya untuk pelarut minyak, lemak, getah, resin, mikroselolosa, parfum, alkaloid, dan sebagian kecil dipakai dalam industri butadiena. (Reza and Novenia, 2017)

2) Rumus Pengenceran yang digunakan :

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

Keterangan rumus :

V₁ : Volume minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) yang akan diencerkan dari konsentrasi 100%

V₂ : Volume minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) yang akan dibuat yaitu 10 mL

C₁ : Konsentrasi minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) yang akan diencerkan, yaitu 100%

C₂ : Konsentrasi minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) yang akan dibuat

Tabel 5.
Konsentrasi Minyak Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.)

No	V ₁ (mL)	C ₁	V ₂ (mL)	C ₂	Dietil eter (mL)
1	5,5	100%	10	55%	4,5
2	7	100%	10	70%	3
3	8,5	100%	10	85%	1,5

c. Pembuatan suspensi bakteri *Propionibacterium acnes*

Koloni *Propionibacterium acnes* dari biakan murni diambil satu sampai tiga ose dan disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 5 mL larutan NaCl fisiologis 0,85%. Suspensi dibandingkan dengan kekeruhan standar *Mc Farland* 0,5%. menggunakan *Mc Farland* densitometer. (Adnyani, 2019)

d. Uji Daya Hambat Minyak Nyamplung Terhadap *Propionibacterium acnes*

- 1) Cakram disk kosong disiapkan dan cakram disk ini direndam dalam minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) pada setiap konsentrasi hingga seluruh cairan meresap ke dalam cakram disk.
- 2) Untuk kontrol kerja negatif, cakram disk kosong direndam ke dalam dietil eter dan kontrol kerja positif, digunakan cakram disk antibiotik klindamisin 2 µg
- 3) Suspensi *Propionibacterium acnes* disiapkan
- 4) 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.
- 5) Swab kapas yang telah berisi suspensi diinokulasikan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Goresan dilakukan secara merata hingga menutupi seluruh permukaan media.

- 6) Media didiamkan selama 5 hingga 15 menit agar suspensi meresap ke dalam media
- 7) Masing-masing cakram disk yang telah jenuh dengan minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) ditempelkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang sudah diinokulasikan dan sedikit ditekan dengan pinset hingga melekat sempurna.
- 8) Kontrol kerja positif dan negatif ditempelkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang berbeda.
- 9) Jarak antara satu cakram dengan cakram yang lain minimal 15 mm dan cakram yang telah ditempelkan pada permukaan media tidak boleh dipindahkan atau digeser.
- 10) Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah ditanami cakram disk diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam posisi terbalik. (Adnyani, 2019)

e. Pelaporan hasil

Zona hambat dilihat dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong (dalam satuan mm). 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. Pengolahan Dan Analisis Data

1. Teknik Pengolahan Data

Data yang terkumpul dari hasil eksperimen daya hambat minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*, yaitu

berupa diameter zona hambat yang dinyatakan dalam millimeter (mm) dan 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* (KS) untuk menguji apakah data berdistribusi normal atau tidak.
- b. Uji *One Sampel T-Test* untuk menguji hipotesis adanya daya hambat minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acnes*
- c. Uji *One Way Anova* terhadap variabel yang ada untuk mengetahui adanya perbedaan dari berbagai konsentrasi minyak nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) terhadap zona hambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*.
- d. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Least Significant Deference* (LSD), uji ini digunakan untuk mengetahui perbedaan yang signifikan zona hambat antara masing – masing konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*.