

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *true experimental* dilakukan randomisasi berupa pengelompokan anggota-anggota kelompok eksperimen dan kontrol secara acak atau random dengan menggunakan rancangan penelitian *posttest only control design* yaitu dengan melihat adanya perlakuan atau intervensi yang bertujuan untuk mengetahui akibat yang ditimbulkan setelah dilakukan intervensi kepada satu atau lebih kelompok. Kemudian, hasil intervensi tersebut dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberikan intervensi atau kontrol. (Masturoh dan Anggita T, 2018)

Tabel 3
Rancangan *Posttest Only Control Design*

Kelompok uji	Perlakuan	Posttes
R1	X	O2
R2	X	O2

Keterangan :

R1 : Kelompok eksperimen yaitu perasan jeruk lemon dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%

R2 : Kelompok kontrol yaitu aquadest steril

X : Perlakuan atau eksperimen

O2 : Pengukuran zona hambat *posttes* (Masturoh dan Anggita T, 2018).

B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan february sampai dengan juni 2022

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Denpasar.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah perasan jeruk lemon. Jeruk lemon yang dipilih diperoleh dari pasar swalayan di kota Denpasar. Jeruk lemon yg diambil yaitu mempunyai kriteria buah yang masak segar serta padat, dan berwarna kuning.

2. Besaran Sampel Penelitian

Jeruk lemon yang diambil yaitu memiliki kriteria inklusi buah yang segar dan padat, berwarna kuning, berbentuk oval. Sedangkan kriteria eksklusi yaitu buah jeruk yang lembek, layu, berwarna kuning kecoklatan. Dari proses pemerasan jeruk lemon didapatkan perasan dengan konsentrasi 100% yang digunakan sebagai stok sampel. Perasan jeruk lemon diuji dengan 4 perlakuan yaitu: Konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. dibuat dengan mengencerkan perasan jeruk lemon konsentrasi 100% menggunakan aquadest steril. Penelitian ini menggunakan control negative aquadest dan kontrol positif *Ciprofloxacin* 5 μ l Kontrol kerja berfungsi sebagai data pembanding dengan perlakuan yang akan

dilakukan. Total perlakuan yang digunakan dalam konsentrasi penelitian ini adalah 4 perlakuan konsentrasi dan 2 perlakuan kontrol sehingga total perlakuan dalam penelitian ini adalah 6 perlakuan. Masing-masing perlakuan konsentrasi penelitian diulang dengan jumlah yang dapat ditentukan dari persamaan berikut dengan menggunakan rumus *federer* sebagai berikut: (Wahyuningrum dan Probosari, 2012),

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

Keterangan :

r = jumlah ulangan

t = jumlah perlakuan

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

$$(6-1)(r-1) \geq 15$$

$$5(r-1) \geq 15$$

$$5r-5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4 \text{ (Hanafiah, 1999)}$$

dari rumus tersebut, didapatkan hasil bahwa pengulangan pada penelitian ini dapat dilakukan lebih dari atau sama dengan empat kali percobaan. Pada umumnya percobaan di laboratorium dilakukan cukup 3 kali. Namun jika pengulangan dilakukan semakin banyak ataupun sering maka ketelitiannya akan semakin meningkat (Masturoh, 2015). Pengulangan konsentrasi dalam penelitian ini 4 kali pengulangan konsentrasi hingga diperoleh 16 data perlakuan konsentrasi. Dan pengulangan kontrol kerja positif dan negatif dilakukan hanya

2 kali pengulangan pada setiap kontrol kerja. sehingga didapatkan 4 data kontrol. Maka jumlah data total adalah 20 data.

3. Unit Analisa

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

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 *Escherichia coli*.

2. Teknik Pengumpulan Data

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

3. Instrument Pengumpulan Data

Dalam penelitian ini digunakan instrument pengumpul data yaitu : Jangka sorong / mistar, Alat tulis dan Kamera.

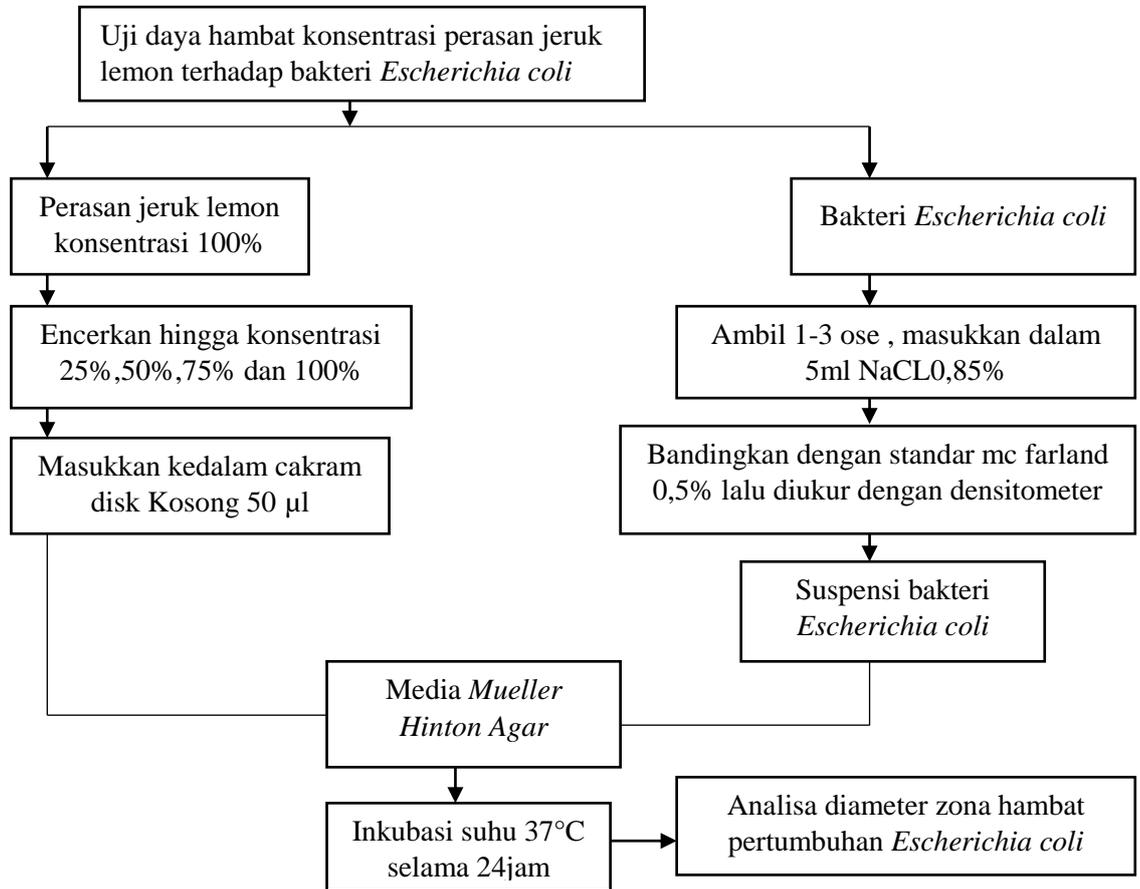
E. Alat dan Bahan

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah: Alat pemeras jeruk, *Erlemeyer* (Schott Duran)100 ml, Corong, Pisau, Ose bulat, Gelas ukur (Pyrex Iwaki) 250 ml, Pinset, Gelas kimia (Schott Duran)1000 ml, Api Bunsen, *Petridisk*, Tabung reaksi, Rak tabung reaksi(Iwaki), Spatula, Batang pengaduk, Jangka Sorong (Vernier Callipers), Neraca analitik (Radwag AS220.R2) Hotplate (Jisico), Inkubator (ESCO Isothem), Catton swab, Aluminium foil, Kertas saring, *autoclave* (TOMY SX-500), *ball pipet* (Marienfeld).

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini : Jeruk Lemon, Aquadest steril (1000 ml), Bakteri *Escherichia coli*, Media Mueller Hinton Agar (Oxoid) Larutan NaCl, Alkohol 70%, Blank cakram disk, *Ciprofloxacin*, *Mc Farland 0,5%*. (Den-18)

F. Skema Kerja dan Prosedur Kerja

1. Skema Kerja



Gambar 5. Kerangka Kerja

2. Prosedur Kerja

Adapun prosedur kerja pada penelitian ini, menurut Dewi dkk (2020). menyatakan bahwa:

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 dan melakukan disinfeksi pada area kerja dengan menggunakan alkohol 70%.

- b. Pembuatan perasan jeruk lemon
 1. Jeruk lemon dicuci dengan menggunakan air bersih
 2. Di potong jeruk lemon untuk mempermudah dalam proses pemerasan
 3. Diperas jeruk lemon yang sudah dipotong
 4. Hasil perasan ditampung dalam erlenmeyer sambal disaring dengan menggunakan kertas saring.
 5. Hasil perasan diukur volumenya dengan menggunakan gelas ukur
 6. Konsentrasi 100% diperoleh tanpa penambahan larutan apapun
- c. Pembuatan konsentrasi perasan jeruk lemon Konsentrasi perasan jeruk lemon yang akan dibuat yaitu: 25%, 50% ,75%, dan 100%. Untuk memperoleh 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 adalah sebagai berikut :

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

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
Variasi Konsentrasi Perasan Jeruk Lemon

Variasi Konsentrasi	Volume Perasan Jeruk Lemon (ml)	Volume Aquades Steril (ml)
25%	2,5 ml	7,5 ml
50%	5 ml	5 ml
75%	7,5 ml	2,5 ml
100%	10 ml	0 ml

- d. Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (Dewi, 2020)
1. Media bubuk MHA ditimbang sebanyak 3,8 gram dan ditambahkan aquades sebanyak 100ml.
 2. Medium dipanaskan selama 1 menit pada hotplate dan diaduh sampai serbuk benar-benar larut dan homogen.
 3. Medium dimasukkan kedalam erlenmeyer untuk disterilisasi di dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C.
 4. Medium dikeluarkan dari autoclave dan tunggu sampai suhu menurun menjadi 40-45°C
 5. Medium dituangkan kedalam cawan petri dengan masing-masing berisi 15ml larutan, diamkan dan tunggu hingga memadat,
- e. Pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli*
1. Koloni bakteri *Escherichia coli* diambil satu sampai tiga ose dari biakan murni
 2. Selanjutnya koloni dimasukkan kedalam tabung yang telah diisi dengan larutan Nacl 0,85% sebanyak 5ml.

3. Suspensi dibandingkan dengan kekeruhan standar *Mc Farland* 0,5%
4. Suspensi diukur dengan menggunakan *mc farland* densitometer
- f. Tahapan pemeriksaan
 1. Cakram disk kosong dijenuhkan dengan perasan jeruk lemon dari berbagai konsentrasi yaitu : 25%, 50%, 75%, 100% lalu diletakkan pada plate kosong.
 2. Disiapkan suspensi bakteri *Escherichia coli*
 3. Disiapkan *cotton swab* steril dan dicelupkan ke dalam suspensi tersebut
 4. Lidi kapas steril yang telah disiapkan lalu dicelupkan kedalam suspensi bakteri 0,5 *Mc Farland* yang telah disiapkan, lalu diangkat dan kemudian diperas dengan cara menempelkan lidi kapas pada dinding tabung.
 5. Selanjutnya bakteri diinokulasikan pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) hingga merata diseluruh permukaan media
 6. Media yang telah diinokulasi didiamkan selama 15menit supaya suspensi dapat menyerap kedalam media.
 7. Setelah cakram disk dijenuhkan kemudian ditempelkan pada media MHA yang telah diinokulasi dengan menggunakan pinset. Cakram yang telah ditempelkan pada permukaan media tidak boleh digeser.
 8. kontrol positif dan negatif ditempelkan pada media MHA yang telah diinokulasi yang berbeda dengan media konsentrasi
 9. jarak antara cakram satu dengan lainnya 15mm.
 10. media yang telah ditempelkan cakram disk diinkubasi pada suhu 37°C selama 24jam dengan posisi terbalik.
- g. Pelaporan hasil

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

G. Pengolahan dan Analisa Data

1. Teknik pengolahan data

Data yang terkumpul dari hasil eksperimen uji daya hambat perasan jeruk lemon terhadap *Escherichia coli* yaitu berupa zona hambat yang dinyatakan dalam millimeter (mm). Kemudian data ditabulasikan ke dalam bentuk tabel dan narasi.

2. Analisa 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 mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak, bila data berdistribusi tidak normal maka digunakan uji Kruskal Wallis.

b. Uji One Way Anova

Jika uji KS data berdistribusi normal, dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

c. Uji LSD (*Least Significant Deference*)

Uji ini digunakan untuk mengetahui perbedaan zona hambat antara masing-masing konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

d. Uji Kruskal Wallis

Uji ini digunakan untuk data yang berdistribusi tidak normal untuk mengetahui perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* terhadap berbagai konsentras perasan jeruk lemon.