

BAB IV

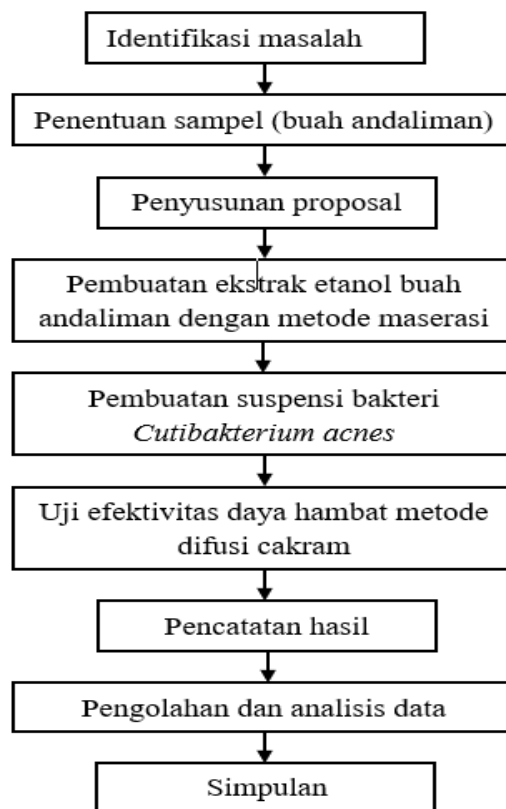
METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif analitik. Penelitian deskriptif adalah penelitian dengan metode untuk menggambarkan suatu hasil penelitian (Ramdhan, 2021). Dalam penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri buah Andaliman terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*.

B. Alur Penelitian

Berikut merupakan alur penelitian pada penelitian ini:



Gambar 5. Alur penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Dasar dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2025 hingga bulan April 2026.

D. Populas dan Sampel Penelitian

1. Populasi sampel

Populasi penelitian yang digunakan adalah buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) yang diperoleh dari Kelurahan Parsoburan, Kecamatan Habinsaran, Kabupaten Toba, Sumatera Utara. Daerah tersebut dikenal sebagai salah satu penghasil andaliman dengan kualitas yang baik..

2. Sampel penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) yang kemudian diolah menjadi ekstrak menggunakan pelarut etanol 96% melalui metode maserasi. Sampel buah Andaliman diseleksi berdasarkan beberapa kriteria, yaitu buah yang masih segar dengan warna hijau kemerahan, tidak mengalami kerusakan atau pembusukan, memiliki aroma khas yang kuat dan berasal dari tanaman yang sehat.

3. Besar dan jumlah sampel

Penelitian ini menggunakan sampel berupa ekstrak etanol buah Andaliman dengan konsentrasi 20%, 15%, 10%, dan 5%. Sebagai pembanding, etanol 96%

digunakan sebagai kontrol negatif dan klindamisin 2 µg digunakan sebagai kontrol positif. Setiap perlakuan diulang sebanyak empat kali untuk memastikan ketepatan hasil. Melalui pengulangan tersebut, diperoleh 16 data dari kelompok sampel dan 8 data dari kelompok kontrol, sehingga total data yang terkumpul mencapai 24.

Data tersebut diperoleh dengan menggunakan rumus *federer* sebagai berikut:

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

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

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

$$5n \geq 15 + 5$$

$$n \geq \frac{20}{5} = 4 \text{ replikasi}$$

Keterangan:

n : jumlah sampel perkelompok perlakuan

t : kelompok perlakuan

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data

Jenis data yang diperoleh dalam penelitian ini adalah data primer. Penelitian ini menghasilkan data primer berupa ukuran zona hambat yang muncul pada pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes* setelah diberi perlakuan menggunakan ekstrak buah Andaliman dengan konsentrasi 20%, 15%, 10%, dan 5%.

2. Pengumpulan data

Pengumpulan data dilakukan melalui percobaan di laboratorium dengan mengukur diameter zona hambat bakteri *Cutibacterium acnes* yang dihasilkan oleh ekstrak buah Andaliman pada konsentrasi 20%, 15%, 10%, dan 5%. Pengukuran

dilakukan menggunakan jangka sorong, dan hasilnya dinyatakan dalam satuan milimeter (mm).

3. Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam pengumpulan data pada penelitian ini adalah alat tulis untuk pencatatan hasil, kamera digunakan untuk mendokumentasikan hasil yang didapat, dan alat bahan untuk uji aktivitas antibakteri.

a. Alat

Alat yang digunakan dalam proses penelitian terdiri atas *beaker glass*, *anaerobic jar*, pipet ukur, *hotplate*, *rotary evaporator*, cawan petri, jangka sorong, mikropipet, gelas ukur, corong, *McFarland densitometer*, *ball pipet*, autoklaf, rak tabung reaksi, lampu spritus, blender, tabung sample cup, neraca analitik, inkubator, serta *magnetic stirrer*.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ekstrak buah Andaliman, alkohol 70%, kertas saring, bakteri *Cutibacterium acnes*, aluminium foil, standar 0,5 *McFarland*, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), *cotton swab*, aquades, antibiotik klindamisin 2 µg, etanol 96%, NaCl 0,9%, *blue tip*, tisu, dan *yellow tip*.

c. Prosedur kerja

Prosedur kerja dalam penelitian ini mengacu pada metode yang dikembangkan oleh Hana dkk, (2021) yang telah disesuaikan oleh peneliti. Tahapan pelaksanaannya sebagai berikut:

1. Tahap pra-analitik

1) Penggunaan alat pelindung diri lengkap dan sterilisasi area kerja

2) Pembuatan sampel ekstrak etanol buah Andaliman

- a) Buah Andaliman segar dipisahkan dari ranting serta daunnya, dicuci dan ditiriskan.
- b) Buah dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C hingga kering.
- c) Buah kering tersebut dihaluskan menggunakan blender dan diayak untuk memperoleh serbuk yang halus.
- d) Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 100 gram dan masukkan kedalam wadah maserasi.
- e) Serbuk simplisia dimaserasi dalam etanol 96% sebanyak 1 liter selama tiga hari dalam wadah tertutup dan disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya.
- f) Setelah tiga hari, maserat disaring dan filtrat dikumpulkan dalam botol kaca. Residu dimaserasi ulang dengan 1 liter etanol hingga terendam, ditutup, dan didiamkan selama tiga hari dalam kondisi terlindung dari cahaya.
- g) Seluruh filtrat hasil maserasi kemudian digabungkan dan dipadatkan menggunakan evaporator pada suhu 50 °C, hingga terbentuk ekstrak kental dengan warna kecoklatan.

3) Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol buah Andaliman

- a) Ekstrak etanol buah Andaliman digunakan dalam konsentrasi 20%, 15%, 10%, dan 5%. Setiap konsentrasi dibuat dengan menimbang ekstrak etanol Andaliman murni (100%) dan mengencerkan dengan etanol 96% sebagai pelarut. Variasi konsentrasi ini disiapkan dalam volume total 2 mL.
- b) Variasi konsentrasi ekstrak etanol buah Andaliman dihitung dalam bentuk persentase dengan menggunakan rumus perhitungan pengenceran:

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

Keterangan:

M_1 : Molaritas sebelum pengenceran (%)

M_2 : Molaritas setelah pengenceran (%)

V_1 : Volume sebelum pengenceran (ml)

V_2 : Volume setelah pengenceran (ml)

Tabel 5
Variasi Konsentrasi Uji

Konsentrasi	Ekstrak (µl)	Etanol (µl)
20%	400	1.600
15%	300	1.700
10%	200	1.800
5%	100	1.900

4) Pembuatan media uji *Mueller Hinton Agar*

- Timbang 11,4 gram media dan larutkan ke dalam 300 mL aquades.
- Panaskan larutan sambil sesekali diaduk hingga media larut.
- Sterilkan larutan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- Tuangkan *Mueller Hinton Agar* ke dalam cawan petri steril menggunakan beaker yang telah ditandai sebanyak 25ml.
- Biarkan media mengeras dan mencapai suhu ruang.
- Simpan cawan petri yang sudah berisi media pada suhu 2–8°C.

5) Subkultur Bakteri

- Cuplik bakteri menggunakan ose steril.
- Sebarkan bakteri dengan metode *Four-way streak* pada media agar.
- Kemudian inkubasi selama semalaman.

6) Pembuatan suspensi bakteri

- a) Ambil koloni *Cutibacterium acnes* dari biakan kultur 18–24 jam menggunakan *cotton swab steril*, lalu masukkan ke dalam larutan NaCl 0,9% dan homogenkan dengan menggoyangkannya perlahan.
- b) Sesuaikan kekeruhan suspensi bakteri dengan membandingkannya terhadap standar *McFarland 0,5*.
- c) Tambahkan biakan bakteri atau NaCl 0,9% bila diperlukan hingga kekeruhannya setara *McFarland 0,5*, kemudian gunakan suspensi dalam waktu maksimal 15–60 menit setelah dibuat.

2. Tahap analitik

1) Uji daya hambat

- a) Ambil suspensi *Cutibacterium acnes* menggunakan *cotton swab steril*.
- b) Ratakan suspensi bakteri pada seluruh permukaan media agar hingga membentuk lapisan inokulum.
- c) Media yang telah terinokulasi bakteri kemudian disiapkan untuk tahap pengujian.
- d) Tempatkan cakram klindamisin 2 µg pada permukaan media menggunakan pinset steril sebagai kontrol positif.
- e) Cakram kosong direndam dalam etanol 96% untuk membiasakan cakram sebagai kontrol negatif, lalu dikeringkan hingga pelarut menguap.
- f) Tempatkan cakram etanol 96% pada permukaan media menggunakan pinset steril.
- g) Inkubasi pada suhu $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 18 ± 2 jam.

- h) Setelah inkubasi, ukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram sebagai indikator aktivitas antibakteri.
 - i) Lakukan replikasi sebanyak empat kali untuk memastikan keakuratan dan konsistensi hasil.
3. Tahap pasca analitik

Lakukan pengamatan terhadap zona jernih yang terbentuk, ukur dan hitung diameter.

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data yang diperoleh dari hasil uji daya hambat ekstrak etanol Andaliman terhadap bakteri *Cutibacterium acnes* berupa ukuran zona hambat dalam satuan milimeter (mm). Data tersebut kemudian disajikan dalam bentuk tabel serta diuraikan dalam bentuk narasi.

2. Analisis data

Data hasil pengujian dianalisis secara deskriptif dengan melihat rata-rata dan variasi zona daya hambat pada setiap konsentrasi ekstrak. Analisis ini dilakukan untuk menggambarkan perbedaan ukuran zona hambat antar perlakuan berdasarkan hasil pengamatan yang diperoleh.