

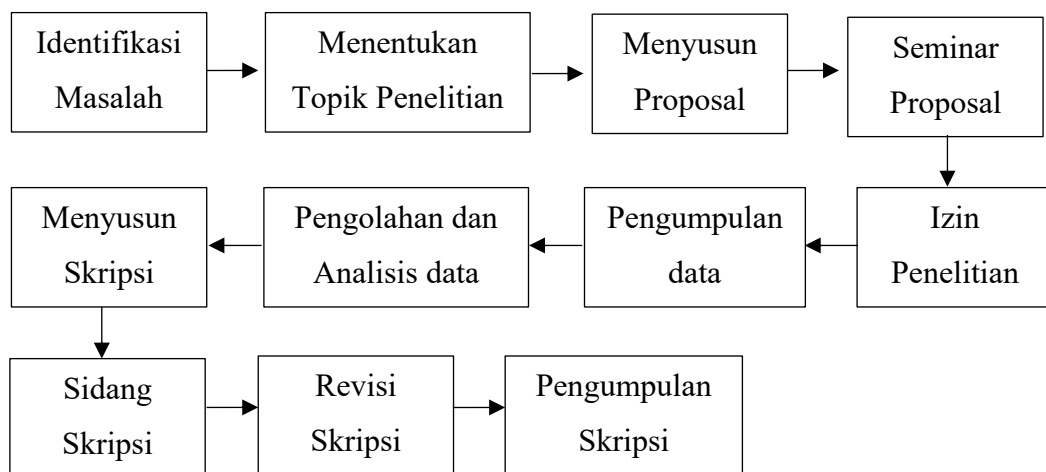
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimen semu (quasi experiment) dengan desain one-group pretest–posttest. Penelitian dilakukan di satu Laboratorium Parasitologi yang sama, dengan perlakuan berupa penyemprotan daun lidah mertua pada konsentrasi 30%, 40%, dan 50% yang diberikan pada hari yang berbeda. Pada setiap perlakuan, dilakukan pengukuran angka kuman udara sebelum penyemprotan (pretest) untuk mengetahui kondisi awal laboratorium, kemudian dilakukan pengukuran kembali setelah penyemprotan (posttest) untuk menilai perubahan angka kuman udara akibat perlakuan. Pengukuran sesudah perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali pada waktu yang berbeda sebagai replikasi. Desain penelitian ini digunakan untuk menilai pengaruh perbedaan konsentrasi daun lidah mertua terhadap penurunan jumlah kuman di udara secara langsung (Adiputra et al., 2021).

B. Alur penelitian



Gambar 4 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Laboratorium Parasitologi Jurusan Kesehatan Lingkungan Poltekkes Kemenkes Denpasar yang beralamat di Jalan Sanitasi No. 1 Sidakarya, Denpasar Selatan, Kota Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Mei 2026.

D. Populasi dan Sampel

1. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah udara pada Laboratorium Parasitologi Jurusan Kesehatan Lingkungan yang digunakan secara berulang untuk seluruh perlakuan. Perlakuan berupa penyemprotan perasan daun lidah mertua dengan konsentrasi 30%, 40%, dan 50% dilakukan pada hari yang berbeda di laboratorium yang sama. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah angka kuman udara (CFU/m³) yang diukur sebelum dan sesudah perlakuan. Pengukuran sesudah perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali dalam sehari dengan pengulangan pada waktu yang berbeda sebagai replikasi. Data hasil pengukuran dianalisis untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi perasan daun lidah mertua terhadap penurunan angka kuman udara.

2. Jumlah dan besar sampel

Menurut Borg dan Gall, penelitian dengan desain eksperimen maupun komparatif idealnya menggunakan minimal 30 sampel pada setiap kelompok. Jumlah tersebut dianggap cukup untuk memperoleh data yang valid, reliabel, serta

mampu menggambarkan perbedaan atau pengaruh yang diteliti secara lebih akurat (Jailani and Jeka, 2023).

Metode penentuan titik sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan mengacu pada ketentuan SNI 7230:2009 (Ningrum, Sulistyawati and Sari, 2025) yang menetapkan bahwa pengukuran angka kuman udara dilakukan dengan menggunakan 5 titik pengukuran. Penentuan titik pengukuran mengacu pada ketentuan bahwa titik pengukuran ditempatkan pada median garis diagonal dan titik pusat perpotongan diagonal sehingga dapat mewakili kondisi seluruh ruangan. Pemilihan lima titik pengukuran dilakukan untuk memenuhi jumlah minimal titik pengukuran yang disyaratkan, sehingga hasil pengukuran angka kuman udara di laboratorium bersifat representatif.

Penelitian ini termasuk dalam jenis eksperimen yang dilakukan di Laboratorium Parasitologi, Jurusan Kesehatan Lingkungan. Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah metode *settle plate*, yaitu dengan menempatkan cawan petri berisi media nutrient agar dalam kondisi terbuka di dalam ruangan. Pengambilan sampel dilakukan pada lima titik pengukuran. Pada setiap perlakuan konsentrasi perasan daun lidah mertua (30%, 40%, dan 50%), dilakukan pengukuran angka kuman udara sebelum penyemprotan (pretest) sebanyak satu kali pada lima titik, kemudian dilakukan pengukuran sesudah penyemprotan (posttest) sebanyak tiga kali pengulangan pada waktu yang berbeda pada lima titik yang sama. Dengan demikian, jumlah cawan petri yang digunakan pada setiap konsentrasi adalah 15 cawan untuk pengukuran sesudah perlakuan dan 5 cawan untuk pengukuran sebelum perlakuan, sehingga total cawan petri yang digunakan pada seluruh penelitian adalah

60 cawan petri. Jumlah sampel tersebut memenuhi kebutuhan analisis statistik dalam penelitian ini.

3. Teknik pengambilan sampel

Dalam penelitian ini, teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah purposive sampling, yaitu penentuan sampel yang dipilih berdasarkan kriteria dan tujuan yang telah ditetapkan. Laboratorium Parasitologi Jurusan Kesehatan Lingkungan dipilih secara sengaja karena sesuai dengan fokus penelitian, yaitu untuk mengkaji pengaruh variasi konsentrasi perasan daun lidah mertua terhadap penurunan angka kuman udara. Penentuan titik pengambilan sampel ditetapkan sebanyak lima titik pengukuran yang disesuaikan dengan SNI 7230:2009, sehingga hasil pengukuran dapat merepresentasikan kondisi udara di dalam laboratorium secara menyeluruh. Replikasi pengambilan sampel dilakukan sebanyak tiga kali pada waktu yang berbeda setelah perlakuan. Dengan demikian, penggunaan teknik purposive sampling dinilai tepat karena sesuai dengan tujuan dan karakteristik objek penelitian.

a. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media PCA (nutrient agar), dan APD. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan metode *settle plate* yang diberikan sesudah penyemprotan, lalu dihitung menggunakan alat colony counter serta perhitungan kecepatan aliran menggunakan anemometer.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi daun lidah mertua 30%, 40%, dan 50%.

c. Cara kerja

1) Pembuatan media nutrient agar (NA)

a) Persiapan alat:

1. Labu erlenmeyer 500 ml
2. Timbangan analitik
3. Kompor elektrik
4. Pengaduk
5. Api Bunsen
6. Autoclave
7. Pipet ukur steril
8. Ball pipet
9. Cawan petri

b) Persiapan bahan

1. Aquades
2. Serbuk nutrient agar
3. Aluminium foil
4. Kertas
5. Kertas

c) Cara pembuatan nutrient agar

1. Timbang 18,9 gram NA dan campurkan dengan aquades 675 ml
2. Panaskan menggunakan kompor listrik, kemudian dihomogenkan dengan bantuan pengaduk

3. Labu Erlenmeyer ditutup dengan kapas, kemudian dibalut menggunakan aluminium foil, dan selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit
 4. Tuangkan media pada cawan petri dan siap digunakan
- 3) Konsentrasi daun lidah mertua
- a) Pembuatan perasan daun lidah mertua
 1. Daun lidah mertua dipilih dari tanaman yang berwarna hijau, sehat, segar, dan tidak berlubang.
 2. Daun lidah mertua dicuci sampai bersih agar kotoran seperti debu yang menempel pada daun lidah mertua tersebut hilang.
 3. Potong daun lidah mertua menjadi beberapa bagian agar memudahkan proses pemblenderan.
 4. Daun lidah mertua yang telah dipotong dimasukkan ke dalam blender.
 5. Tambahkan sedikit air (secukupnya) untuk membantu proses penghancuran.
 6. Blender daun lidah mertua hingga halus dan berbentuk seperti bubur.
 7. Hasil blender kemudian disaring menggunakan kain kasa steril untuk memisahkan ampas dan diambil cairannya.
 8. Perasan disimpan dalam wadah bersih dan tertutup sebelum digunakan.
 - b) Penyiapan larutan perlakuan

Larutan perlakuan dalam penelitian ini dibuat dengan cara mengencerkan larutan stok menggunakan rumus pengenceran yaitu, campuran aquades dengan perasan daun lidah mertua dalam konsesntrai 30%, 40% dan 50%. Rumus pembuatan konsentrasi sebagai berikut:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Dimana :

M1 : konsentrasi perasan daun lidah mertua

M2 : konsesntrasi perasan lidah mertua yang diinginkan

V1 : volume larutan yang harus dilarutkan

V2 : volume larutan perlakuan

(1) Konsentrasi 30% dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \times V1 = 30 \times 500$$

$$100 \times V1 = 15.000$$

$$V1 = 15.000/100$$

$$V1 = 150 \text{ ml}$$

Untuk menghitung volume pelarut = V total – V1 = 500 – 150 = 350 ml
pelarut

Jadi yang dibutuhkan adalah 150 ml perasan daun lidah mertua
dicampurkan 350 ml aquades untuk mendapatkan konsentrasi 30%.

(2) Konsesntrasi 40% dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \times V1 = 40 \times 500$$

$$100 \times V1 = 20.000$$

$$V1 = 20.000/100$$

$$V1 = 200 \text{ ml}$$

Untuk menghitung volume pelarut = V total – V1 = 500 - 200 = 300 ml
pelarut

Jadi yang dibutuhkan adalah 200 ml perasan daun lidah mertua dicampurkan 300 ml aquades untuk mendapatkan konsentrasi 40%.

(3) Konsentrasi 50% dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \times V1 = 50 \times 500$$

$$100 \times V1 = 25.000$$

$$V1 = 25.000/100$$

$$V1 = 250 \text{ ml}$$

Untuk menghitung volume pelarut = $V \text{ total} - V1 = 500 - 250 = 250 \text{ ml}$ pelarut

Jadi yang dibutuhkan adalah 250 ml perasan daun lidah mertua dicampurkan 250 ml aquades untuk mendapatkan konsentrasi 50%.

4) Cara pengaplikasian konsentrasi daun lidah mertua.

Penyemprotan berupa konsentrasi daun lidah mertua 30%, 40%, dan 50% dimasukkan ke dalam hand sprayer berkapasitas 500 ml. Alat ini dilengkapi dengan nozzle yang mampu menghasilkan droplet berukuran sangat kecil menyerupai embun.

5) Melakukan pengukuran jumlah angka kuman di udara, dilakukan dengan metode *settle plate*, disertai analisis mikrobiologi setelah proses penyemprotan. Adapun tahapan pengukuran dengan metode *settle plate* adalah sebagai berikut:

a) Siapkan alat dan bahan

Siapkan *settle plate* berisi nutrient agar (NA) yang telah disterilkan sebelumnya.

b) Penempatan *settle plate*

Tempatkan *settle plate* pada beberapa titik strategis di laboratorium jurusan kesehatan lingkungan, dengan posisi berbeda untuk mengetahui tingkat kontaminasi mikrobiologi ruangan, sesudah proses penyemprotan.

c) Waktu penempatan

Biarkan *settle plate* dalam kondisi terbuka selama 15 menit pada titik-titik strategis tersebut.

d) Penutupan *settle plate*

Setelah 15 menit, tutup kembali *settle plate* dan beri label berisi tanggal serta lokasi pengambilan sampel.

e) Inkubasi

Masukkan sampel ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

f) Perhitungan koloni

Berdasarkan standar APHA, AWWA, dan WEF SM 9020 (2005), jumlah koloni pada ruangan tidak boleh melebihi 15 koloni/cawan/15 menit atau 160 CFU/m³/15 menit. Setelah inkubasi selesai, hitung jumlah koloni pada media *settle plate* menggunakan colony counter, ukur kecepatan aliran udara dengan anemometer, lalu lakukan perhitungan angka kuman sesuai rumus.

g) Analisis data

Lakukan analisis untuk menentukan angka kuman udara, dinyatakan dalam jumlah koloni per satuan waktu pengambilan sampel.

h) Pelaporan hasil

Susun laporan hasil secara rinci, mencakup kondisi lingkungan saat pengambilan sampel serta data perhitungan koloni yang diperoleh.

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data primer

Data primer dalam penelitian ini diperoleh secara langsung dari hasil pengukuran di lapangan. Hasilnya diperoleh langsung dari hasil eksperimen, yaitu pengukuran angka kuman di udara sebelum dan sesudah diberi perlakuan konsentrasi daun lidah mertua. Pengumpulan dilakukan dengan metode *settle plate* dan perhitungan jumlah koloni bakteri pada media agar.

b. Data sekunder

Data sekunder diperoleh melalui studi pustaka yang mencakup jurnal, buku, dan hasil penelitian sebelumnya. Data ini berisi informasi tentang kandungan antibakteri daun lidah mertua, standar angka kuman di udara, serta metode pengukuran kualitas udara dalam ruangan yang mendukung penelitian.

2. Cara pengumpulan data

Dalam penelitian ini, data dikumpulkan untuk mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi daun lidah mertua terhadap angka kuman udara berdasarkan hasil pengukuran sebelum dan sesudah. Karena fokus penelitian adalah perbedaan penurunan jumlah mikroorganisme di udara antar variasi konsentrasi, metode yang digunakan bersifat kuantitatif dan berbasis pengukuran. Pengumpulan data dilakukan melalui langkah-langkah berikut:

a. Pengukuran awal (pretest)

Meletakkan media NA secara terbuka di dalam ruangan selama 15 menit untuk menangkap mikroorganisme yang ada di udara. Setelah itu, media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk memungkinkan pertumbuhan koloni. Jumlah

koloni yang tumbuh kemudian dihitung dan dinyatakan dalam satuan CFU, sebagai angka kuman udara awal sebelum diberikan perlakuan daun lidah mertua

b. Pemberian perlakuan

Ruangan diberikan perlakuan dengan cara menyemprotkan atau menyebarkan perasan daun lidah mertua sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Penyemprotan dilakukan ke arah atas, kiri, dan kanan ruangan dengan posisi peneliti bergerak mundur menuju pintu keluar. Setelah penyemprotan, ruangan didiamkan selama 10 menit sebelum dilakukan pengukuran angka kuman udara. Untuk keperluan replikasi, pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali dalam hari yang sama. Setelah replikasi pertama selesai, ruangan didiamkan kembali selama 1 jam sebelum dilakukan replikasi berikutnya hingga seluruh replikasi selesai dilakukan. Selama jeda waktu tersebut, jendela dibuka agar ruangan kembali netral sebelum perlakuan selanjutnya.

c. Pengukuran pasca-perlakuan (posttest)

Setelah pemberian perlakuan, angka kuman udara diukur menggunakan metode yang sama dengan meletakkan media NA secara terbuka didalam ruangan selama 15 menit. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C , untuk melihat jumlah koloni.

d. Replikasi dan pencatatan

Pengukuran dilakukan di lima titik dan diulang tiga kali untuk memastikan data representatif. Jumlah koloni yang muncul dicatat sebagai indikator perbedaan angka kuman.

Metode ini memungkinkan peneliti memperoleh data kuantitatif secara langsung dan objektif, sehingga dapat digunakan untuk menganalisis efektivitas konsentrasi daun lidah mertua sebagai penyemprotan alami di udara.

3. Instrument pengumpulan data

a. Hand sprayer

Alat semprot yang digunakan dalam proses penyemprotan laboratorium parasitologi jurusan kesehatan lingkungan dengan penyemprotan daun lidah mertua. *Hand sprayer* yang peneliti pakai adalah botol semprot manual berbahan plastik dengan kepala semprot ergonomis yang menghasilkan semprotan halus (embun). Alat ini ringan, mudah digunakan, dan berfungsi untuk menyemprotkan berbagai cairan seperti disinfektan.

b. Settle plate (pengukuran mikroorganisme di udara)

Perangkat yang berfungsi untuk menilai tingkat kebersihan udara dengan media nutrient agar. Setelah melalui proses inkubasi, koloni yang tumbuh pada *settle plate* dihitung untuk mengetahui jumlah mikroorganisme per meter persegi udara.

c. Colony counter

Alat yang dipakai untuk menghitung jumlah koloni mikroorganisme yang berkembang pada media nutrient agar.

d. Anemometer

Untuk menghitung kecepatan aliran udara pada Laboratorium Jurusan Kesehatan Lingkungan.

F. Pengolahan analisi data

1. Pengolahan data

a. Editing

Editing adalah tahap ketika peneliti melakukan pengecekan atau koreksi terhadap data yang diperoleh dari lapangan, untuk memastikan kebenaran dan kelengkapannya. Jika ada kekurangan, data segera diperbaiki atau dilengkapi.

b. Coding

Coding adalah langkah setelah data selesai diperiksa, yaitu memberikan kode pada data. Proses ini mengubah data yang semula berupa kalimat atau huruf menjadi angka atau simbol tertentu agar lebih mudah diolah.

c. Entry

Entry adalah tahap memasukkan data yang sudah diberi kode ke dalam program atau aplikasi komputer untuk keperluan pengolahan data.

d. Tabulating

Tabulating merupakan proses pengolahan data dengan menyusunnya ke dalam bentuk tabel sesuai dengan kebutuhan serta tujuan penelitian.

e. Analyzing/ Analiting

Analyzing adalah tahap menganalisis data yang sudah disajikan dalam tabel agar dapat ditarik kesimpulan sesuai tujuan penelitian.

2. Analisis data

a. Analisis univariat

Menggambarakan masing-masing variabel secara deskriptif. Pada penelitian ini, analisis univariat dilakukan terhadap konsentrasi larutan daun lidah mertua dan angka kuman udara di ruangan sebelum dan sesudah penyemprotan. Konsentrasi

larutan daun lidah mertua yang digunakan adalah 30%, 40%, dan 50%. Angka kuman udara sebelum dan sesudah penyemprotan disajikan dalam bentuk nilai efektivitas. Data angka kuman udara dinyatakan dalam satuan CFU/m³ dan menggunakan skala data interval

b. Analisis bivariat

Menggambarkan hubungan antar dua variabel, yaitu pengaruh pemberian daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata Prain*) terhadap angka kuman udara, dengan fokus pada perbandingan antar kelompok konsentrasi (30%, 40%, dan 50%).

Sebelum dilakukan analisis, data terlebih dahulu diuji normalitasnya menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas varians menggunakan uji Levene. Data yang berdistribusi normal dan memiliki varians homogen dianalisis menggunakan uji ANOVA satu arah untuk mengetahui perbedaan angka kuman udara antar konsentrasi. Jika hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji post hoc untuk mengidentifikasi kelompok konsentrasi yang memiliki perbedaan signifikan.

G. Etika penelitian

Dalam penelitian ini, peneliti tetap mengutamakan prinsip etika yang berhubungan dengan hak-hak setiap orang yang menjadi subjek penelitian. Prinsip etika ini mencakup:

1. *Respect for person* (menghargai orang)

Peneliti menghargai martabat setiap manusia dengan tetap mengakui adanya perbedaan budaya, latar belakang, dan hak individu. Sebelum penelitian dilakukan, peneliti terlebih dahulu menjelaskan tujuan dan prosedur penelitian kepada subjek, lalu meminta persetujuan mereka untuk ikut serta.

2. *Beneficence* (memberikan manfaat)

Peneliti memastikan bahwa subjek penelitian tidak dirugikan atau mengalami kerugian yang berarti. Manfaat penelitian dipastikan lebih besar daripada risikonya. Risiko pun diminimalkan dengan cara melakukan kajian literatur yang matang sebelum penelitian dilakukan.

3. *Justice* (keadilan)

Peneliti memperlakukan semua subjek secara adil tanpa diskriminasi. Semua subjek penelitian mendapatkan perlakuan yang sama, tanpa membedakan latar belakang atau kondisi mereka