

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu *eksperimental laboratory*, dengan metode *kirby-bauer* yaitu desain penelitian dengan perlakuan terhadap variabel Independen dan diikuti dengan pengukuran terhadap variabel Independen.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

a. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada 29 Mei s/d 5 Juni 2020

b. Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kendari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

C. Subjek Dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian yang digunakan adalah rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale var. Amarum*).

2. Objek Penelitian

Objek penelitian ini yaitu kultur bakteri *Escherichia coli* yang disuspensikan dengan NaCl 0,9%.

D. Bahan Uji

Bahan uji yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Sari Jahe Emprit (*Zingiber officinale Var. Amarum*) yang digunakan adalah jahe yang berada di pasar sentral kendari, jahe yang sudah tua, berwarna putih, dan berukuran sedang, jahe yang di butuhkan sebanyak 650 gram, yang dilakukan sortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lain dengan cara pencucian atau peranjangan. Jahe emprit (*Zingiber officinale Var. Amarum*) dibuat dalam 5 variasi konsentrasi yaitu konsentrasi 20%, 40%, 60% 80%, dan 100%

yang kemudian diuji daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

E. Prosedur Kerja

1. Pra analitik

a. Metode dan prinsip uji daya hambat

1) Metode : *difusi disk kirby-bauer*

2) Prinsip:

Cakram yang berisi agen antimikroba diletakkan diatas media agar yang telah ditanami mikroorganisme, kemudian berdifusi pada media agar tersebut, area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan agar.

b. Alat dan bahan

1) Alat

Autoclave, batang pengaduk, cawan petri, cawan porselin, driglasky, erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia, incubator, lampu spiritus, neraca analitik, ose jarum, oven, pinset/ penjepit, rak tabung, spidol, spoit, tabung reaksi.

2) Bahan

Pada penelitian ini yang digunakan adalah sari Jahe Emprit (*Zingiber officinale var. Amarum*), aquadest, biakan murni *Escherichia coli*, kapas, kertas label, kertas saring, *cotrimoxazole*, media *Nutrien Agar* (NA), NaCl 0,9%, tissue.

c. Sterilisasi alat

Alat-alat yang terbuat dari kaca atau logam, dan memiliki tingkat ketelitian yang rendah disterilkan di dalam oven pada suhu 180°C selama 24 jam. Sedangkan alat yang terbuat dari kaca atau plastik, dan memiliki tingkat ketelitian yang tinggi disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. Pembuatan suspensi bakteri

Koloni bakteri diambil menggunakan ose kemudian disuspensikan ke dalam tabung berisi 9 mL NaCl 0,9% dan dihomogenkan hingga kekeruhannya sama dengan standar *McFarland* 0,5.

e. Pembuatan media *Nutrien Agar* (NA)

1. Pastikan alat dan bahan siap digunakan.
2. Bubuk media *Nutrien Agar* (NA) ditimbang sebanyak 4,8 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
3. Media yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquades sebanyak 240 ml kemudian dihomogenkan
4. Media dipanaskan di atas *hotplate*.
5. Media disterilkan di dalam *autoclave* dengan suhu 121°C
6. Media dituang ke dalam masing-masing cawan petri secara aseptik dengan cara menuang dibelakang lampu spiritus
7. Media dibiarkan memadat di dalam cawan petri.

f. Pembuatan kontrol positif (*Cotrimoksazol*)

Ditimbang *cotrimoksazol* sebanyak 250 mg dibuat konsentrasi 10% dengan menimbang 1 gram *Cotrimoksazol* kemudian dilarutkan dalam 9 mL aquadest steril sehingga diperoleh konsentrasi 10%.

g. Pembuatan sari jahe emprit (*Zingiber officinale var. Amarum*)

1. Rimpang jahe emprit ditimbang sebanyak 650 gram.
2. Rimpang jahe emprit dicuci bersih dan ditiriskan.
3. Rimpang jahe emprit dihaluskan dengan menggunakan blender.
5. Rimpang jahe emprit disaring dengan menggunakan kain bersih, dan hasil saringan ditampung dalam gelas kimia, dan ditutup.
7. Sari jahe emprit yang didapatkan dibuat dalam 5 variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%.

h. Perhitungan Variasi Konsetrasi Sari Jahe Emprit (*Zingiber officinale*
var. Amarum)

Sari jahe emprit yang di buat dalam masing masing konsentrasi yaitu 10ml.

Dengan rumus:

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

Ket :

V1= Volume yang dicari

V2= Volume yang diketahui

M1 = Konsentrasi larutan stok

M2= Konsentrasi larutan perlakuan

1) Konsentrasi 20% dalam 10 ml

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100\% = 10 \text{ ml} \cdot 20\%$$

$$V1 \cdot 100\% = 200$$

$$V1 = \frac{200}{100}$$

$$V1 = 2 \text{ ml}$$

2) Konsentrasi 40%

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100\% = 10 \text{ ml} \cdot 40\%$$

$$V1 \cdot 100\% = 400$$

$$V1 = \frac{400}{100}$$

$$V1 = 4 \text{ ml}$$

3) Konsentrasi 60

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100\% = 10 \text{ ml} \cdot 60\%$$

$$V1 \cdot 100\% = 600$$

$$V1 = \frac{600}{100}$$

$$V1 = 6 \text{ ml}$$

4) Konsentrasi 80%

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100\% = 10 \text{ ml} \cdot 80\%$$

$$V1 \cdot 100\% = 800$$

$$V1 = \frac{800}{100}$$

$$V1 = 8 \text{ ml}$$

5) Konsentrasi 100%

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100\% = 10 \text{ ml} \cdot 100\%$$

$$V1 \cdot 100\% = 1000$$

$$V1 = \frac{1000}{100}$$

$$V1 = 10 \text{ ml}$$

➤ Pembuatan sari jahe emprit dengan variasi konsentrasi 20%, 40%, 60% 80% dan 100%.

- 1) Pastikan alat dan bahan siap digunakan.
- 2) Pipet sari jahe emprit menggunakan pipet ukur dan ditambahkan aquadest sesuai tabel dibawah ini berdasarkan perhitungan yang telah dilakukan.

Sari jahe emprit yang akan dibuat yaitu 30 ml dalam masing masing konsentrasi yaitu sebanyak 10 ml.

Table 1. Perhitungan konsentrasi

No	Konsentrasi yang akan dibuat	Volume sari jahe emprit yang digunakan	Volume Aquades yang ditambahkan
1	20%	2 ml	8 ml
2	40%	4 ml	6 ml
3	60%	6 ml	4 ml
4	80%	8 ml	2 ml
5	100%	10 ml	-

3) Larutan dihomogenkan dan diberi label.

2. Analitik

Metode : Metode Difusi Agar *kirby-bauer*

1. Pastikan alat dan bahan siap digunakan.
2. Media NA ditambahkan 0,1 mL suspensi bakteri *Escherichia coli*, dan diratakan menggunakan *drigalsky*.
3. Suspensi dibiarkan selama 5-15 menit agar meresap ke dalam media.
4. *Paper disk* dicelupkan, kemudian diletakkan diatas media NA menggunakan pinset steril.
 - Untuk Kontrol positif dan negatif
 1. Media NA disiapkan
 2. *Paper disk* dicelupkan ke dalam *cotromoxazole* 10% (kontrol positif) dan aquadest (control negatif)
 3. *Paper disk* yang telah dicelupkan, selanjutnya diletakkan diatas media NA.
5. Cawan petri dibungkus dengan menggunakan kertas, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x 24 jam.

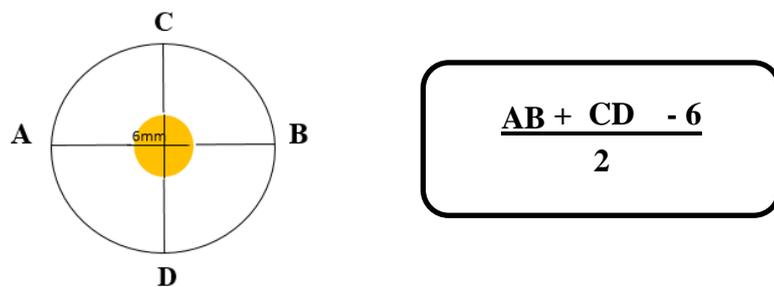
6. Zona hambat (daerah bening) disekitar *paper disk* diamati.

3. Pasca Analitik

a. Pencatatan Hasil Penelitian

Pencatatan hasil penelitian adalah hasil penelitian yang telah dilakukan dengan pencatatan suatu aktifitas dalam bentuk tulisan maupun ketikan atau dalam bentuk grafik maupun gambar dari hasil pengukuran atau pengamatan yang telah dilakukan.

Pencatatan hasil penelitian ditentukan dengan rumus :



Gambar 1. Cara mengukur diameter zona hambat

Ket :

AB = Diameter Horizontal

CD = Diameter Vertikal

b. Dokumentasi Hasil Penelitian

Kegiatan dalam dokumentasi hasil dalam bentuk foto ataupun gambar dan hasil pengukuran, pengamatan, pengambilan sampel, dan lain lain yang berhubungan dengan hasil pengukuran mulai dari pra analitik, analitik, sampai pasca analitik.

c. Pelaporan Hasil Penelitian

Pelaporan hasil penelitian yaitu kegiatan melaporkan hasil penelitian setelah dilakukan pengukuran dan pengamatan hasil itu dilaporkan berdasarkan hasil pengukuran yang dijadikan sebagai hasil penelitian.

Nilai diameter zona hambatan dianalisa secara deskriptif
Berdasarkan kategori respon hambat :

1. *Resisten* : ≤ 12 mm
2. *Intermediet* : 13-17 mm
3. *Sensitiv* : ≥ 18 mm

F. Pengolahan Sampel

Pengolahan data yang sudah diperoleh dari hasil penelitian dikerjakan melalui beberapa proses dengan tahapan sebagai berikut :

- a. Pengkodean data (*coding*) bertujuan untuk memudahkan dalam menganalisis data dengan cara memberikan kode yang spesifik pada sampel.
- b. Pemeriksaan data (*editing*) bertujuan untuk meneliti data yang telah terkumpul dari pengukuran dengan cara memberikan kelengkapan dan konsistensi data yang ada.
- c. Mentabulasi (*tabulating*) untuk mengelompokkan data kedalam suatu data tertentu berdasarkan sifat yang dimiliki yang sesuai dengan penelitian.

G. Analisis Sampel

Untuk mengetahui efektivitas sari Jahe emprit (*Zingiber officinale var. Amarum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* data yang diperoleh dari penelitian berupa terjadinya zona hambat bening yang menandakan bahwa sari Jahe emprit mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Analisis sampel yang digunakan yaitu analisis data deskriptif yang dilakukan dengan melihat ragam besar konsentrasi sari Jahe emprit yang menyebabkan efektivitas pada bakteri *Escherichia coli*.