

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *Experimental laboratories*, dengan menggunakan desain *one-shot case study* yaitu desain penelitian dengan perlakuan terhadap variabel independen (Sugyono, 2011).

B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Tanggal 18- 22 Mei 2020

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Kendari

C. Subjek Penelitian

Subjek dari penelitian ini adalah sari daun katepeng cina (*Cassia allata L*) sedangkan objek penelitian ini adalah jamur *Aspergillus flavus*.

D. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian adalah daun katepeng cina (*Cassia allata L*) yang diperoleh dari Lingkungan Kampus Politeknik Kesehatan Kendari, yang kemudian akan dibuat menjadi sari daun katepeng cina dan dijadikan sebagai bahan lauratr stock, kemudian sari daun katepeng cina (*Casia allata L*) dibuat dalam 5 varian konsentrasi untuk digunakan sebagai larutan uji daya hambat pada jamur *Aspergillus flavus* dengan konsentrasi yaitu 5%,15%, 25%, 50%, dan 75%.

E. Prosedur Pengumpulan Data

Data dalam penelitian ini dikumpulkan mulai dari pengumpulan jurnal dan study literatur yang mendukung penelitian ini. Kemudian dilakukan pengambilan sampel sari daun katepeng cina (*Cassia allata L*) untuk di uji pada uji daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus*.

F. Prosedur Kerja

Prosedur kerja pada uji daya hambat sari daun katepeng cina (*Cassia allata L*) terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

a. Pra Analitik

1. Persiapan alat dan bahan :

a) Alat

- | | |
|--------------------|------------------------|
| 1. Autoclave | 16. Tabung reaksi |
| 2. Asbes | 17. Batang pengaduk |
| 3. Cawan petri | 18. Sendok tanduk |
| 4. Erlenmeyer | 19. Timbangan analitik |
| 5. Blender | 20. Jangka sorong |
| 6. Kaki tiga | 21. Saringan |
| 7. Rak tabung | 19. Pisau/catter |
| 8. Glass ukur | 22. Dryglesky |
| 9. Glass kimia | 23. Oven |
| 10. Pinset | 24. Inkubator |
| 11. Ose bulat | |
| 12. Spritus | |
| 13. Jangka sorong | |
| 14. Corong | |
| 15. Cawan porselin | |

b) Bahan

1. Aluminium foil
2. Antibiotik *Ketoconazole*
3. Aquadest steril
4. Biakan murni jamur *Aspergillus flavus*
5. Daun katepeng cina (*Cassia allata L*)
6. Kapas
7. Kertas cakram (*Paper disk*)
8. Kertas saring

9. Kertas label
 10. Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)
 11. NaCl 0,9 %
 12. Sari daun katepeng cina (*Cassia allata L*)
 13. Tissue
2. Sterilisasi Alat :
- Semua Alat-alat yang terbuat dari bahan glass atau kaca seperti glass ukur, glass kimia, batang pengaduk, drygalski, pipet ukur, tabung reaksi, terlebih dahulu di cuci kemudian di keringkan setelah itu dibungkus dengan kertas HVS lalu dimasukkan ke dalam Oven Pada suhu 170°C selama 1 jam dan Autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit, setelah sterilisasi selesai kemudian di dinginkan dan disimpan pada tempat yang telah disediakan.
3. Pembuatan Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)
- Sebanyak 9 g media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dilarutkan kedalam 240 mL aquadest lalu dihomogenkan dengan cara dipanaskan diatas api Bunsen setelah homogen lalu dimasukkan kedalam Autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit kemudian setelah dikeluarkan dari autoclave dinginkan media setelah dingin dituang ke dalam masing-masing cawan petri yang telah steril.
4. Pembuatan Suspensi Jamur
- Pembuatan suspensi jamur uji diambil dengan menggunakan kawat ose steril kemudian disuspensi dalam 2 ml NaCl 0,9% dalam tabung reaksi steril dan dihomogenkan.
5. Pembuatan Antibiotik *Ketoconazole* (Kontrol Positif)
- Ketonconazole* 200 mg dibuat konsentrasi dengan menimbang 0,5 gram ketoconazole kemudia dilarutkan dengan menggunakan aquadest steril sebanyak 25ml sehingga diperoleh konsentrasi 2%
6. Pembuatan Sari Daun Katepeng Cina (*Cassia allata L*)
- Ditimbang 300 gram daun katepeng cina (*Cassia allata L*) yang telah dicuci kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender

setelah diblender diperas dan disaring dengan kertas saring, sehingga diharapkan sari daun katepeng cina (*Cassia allata L*) yang diambil sebanyak 150 ml.

Setelah itu langkah berikut yang dilakukan adalah pembuatan sari daun katepeng cina (*Cassia allata L*) yang dibuat kedalam 5 varian konsentrasi yaitu konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50%, dan 75%. Volume sari daun katepeng cina (*Cassia allata L*) dibuat dengan rumus pengenceran yaitu sebagai berikut :

Rumus pengenceran :

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

(Purwiyanto, 2013)

Keterangan :

- VI : Volume Larutan Stok
- M1 : Konsentrasi Larutan Stok
- V2 : Volume Larutan Perlakuan
- M2 : Konsentrasi Larutan Yang Diinginkan

Berdasarkan rumus pengenceran , maka cara pembuatan sari daun katepeng cina (*Cassia allata L*) dibagi kedalam 5 macam varian konsentrasi dengan tiap-tiap konsentrasi berjumlah 50 mL, yaitu konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50%, dan 75% adalah sebagai berikut:

- 1) Konsentrasi 5% yaitu 2,5 mL sari daun katepeng cina ditambahkan 47,5 mL aquadest kemudian dihomogenkan
- 2) Konsentrasi 15 % yaitu 7,5 mL sari daun katepeng cina ditambahkan 42,5 mL aquadest kemudian dihomogenkan
- 3) Konsentrasi 25% yaitu 12,5 mL sari daun katepeng cina ditambahkan 37,5 mL aquadest kemudian dihomogenkan
- 4) Konsentrasi 50% yaitu 25 mL sari daun katepeng cina ditambahkan 25 mL aquadest kemudian dihomogenkan
- 5) Konsentrasi 75% yaitu 37,5 mL sari daun katepeng cina ditambahkan 12,5 mL aquadest kemudian dihomogenkan.

b. Analitik

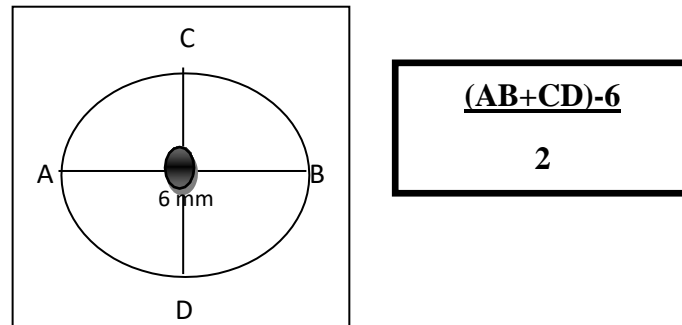
Disiapkan cawan petri yang telah disterilkan kemudian media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) yang telah di homogenkan di tuang kedalam cawan petri yang sudah disiapkan setelah itu ditunggu media hingga memadat, kemudian setelah itu dibuat suspensi jamur *Aspergillus flavus* dengan menggunakan NaCl 0,9%. Setelah media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) memadat maka diambil suspensi jamur *Aspergillus flavus* yang telah dibuat sebanyak 0,1 ml lalu disebar dipermukaan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) dengan menggunakan drigelski, setelah itu diambil kertas cakram (*Paper disk*) kemudian di celupkan ke dalam sari daun katepeng cina (*Cassia allata L*) di setiap masing-masing konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50% dan 75% dengan menggunakan pinset lalu diletakkan diatas permukaan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) kemudian dilabeli masing-masing cawan petri yang telah berisi media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA). Kemudian setelah itu dibuat kontrol positif dengan menggunakan antibiotik *ketoconazole* dan ditanam di atas permukaan media *Sabouraund Dextrose Agar* (SDA) lalu setelah itu di inkubasi selama 3 x 24 jam dengan suhu 28°C dengan interpretasi hasil menunjukkan bahwa jika terbentuk daerah bening di sekitar *paper disk* maka menunjukkan wilayah zona hambat.

c. Pasca Analitik

1. Pencatatan Hasil Penelitian

Pencatatan hasil penelitian ini merupakan hasil dari penelitian yang dilakukan dengan pencatatan suatu aktifitas dalam bentuk tulisan baik diketik maupun ditulis dengan atau dengan bentuk grafik atau gambar hasil dari pengukuran atau pengamatan yang telah dilakukan.

Pencatatan hasil penelitian ditentukan berdasarkan rumus:



Keterangan :

AB : Diameter Horizontal

CD : Diameter Variabel

2. Dokumentasi hasil penelitian

Kegiatan pengambilan hasil dalam bentuk foto atau gambar dari hasil pengukuran pengamatan pengambilan sampel dan lain-lain yang berhubungan dengan hasil penelitian mulai dari pra analitik, analitik, dan pasca analitik.

3. Pelaporan hasil penelitian

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

Efektif :Ditandai dengan adanya zona hambatan (wilayah jernih) disekitar kertas cakram

Tidak efektif :Ditandai dengan tidak adanya zona hambatan (wilayah jernih) disekitar kertas cakram.

Nilai diameter zona hambatan dianalisis berdasarkan kategori respon hambat :

- Resisten : < 12 mm
- Intermediate : 13-17 mm
- Sensitif : > 18 mm (CLSI, 2012).

G. Jenis Data

1. Data Primer

Data primer berupa data-data yang diperoleh dari pemeriksaan di Laboratorium Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kendari.

2. Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang dikumpulkan dari hasil penelitian terdahulu dan dari buku-buku yang dipublikasikan kemudian disajikan landasan teoritis dalam penulisan karya tulis ilmiah ini.

H. Pengolahan Data

Pengolahan data dari penelitian ini adalah dikerjakan melalui beberapa proses dengan tahapan sebagai berikut:

1. Pemeriksaan data (*Editing*) bertujuan untuk meneliti data yang telah diperoleh dari pengukuran dengan cara memeriksa kelengkapan dan konsistensi data yang ada.
2. Pengkodean data (*Coding*) bertujuan untuk memudahkan dalam menganalisa data dengan cara memberikan kode atau atribut pada data.
3. Mentabulasi (*Tabulating*) tabulasi merupakan lanjutan langkah coding untuk mengelompokkan data kedalam suatu data tertentu menurut sifat-sifat yang dimiliki sesuai dengan tujuan penelitian.

I. Penyajian data

Data dari hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan kemudian dideskripsikan sehingga diperoleh hasil analisis uji daya hambat sari daun ketepeng cina (*Cassia allata L*) terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus sp.*