

BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis penelitian

Jenis penelitian ini adalah *Eksperiment laboratory*, dengan menggunakan desain *One- shot Case Study* yaitu desain penelitian dengan perlakuan terhadap variable *Independen*

B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Juni tahun 2020.

2. Tempat Penelitian

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

C. Objek Penelitian

Objek penelitian yang di gunakan adalah jamur *Candida albicans* yang merupakan isolat kultur dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Kendari.

D. Bahan uji

Bahan uji dari penelitian ini adalah gel lidah buaya sebanyak 25 ml.

E. Prosedur kerja

Prosedur kerja pada uji daya hambat gel lidah buaya (*Aleo Vera L*) Terhadap pertumbuhan *Candida albicans*

1. Pra analitik

a. Metode : *Difusi disk kirby-bauer*

b. Prinsip :

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

c. Persiapan alat dan bahan

1) Alat

Autoclave, batang pengaduk, bunsen, cawan petri, cawan porselin, drygle sky, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, inkubator, jangka sorong, kaki tiga, kawat ose, neraca analitik, oven, pipet ukur, pinset, paper disk, pulpen, rak tabung, sendok tanduk, tabung reaksi, dan waterbath

2) Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Aquadest steril, antibiotik *Ketoconazole* 200 mg, aluminium foil, biakan murni jamur *Candida albicans*, Gel lidah buaya, kapas, kertas cakram (*paper disc*) 6 mm, kertas HVS, kertas label, NaCl 0,9 dan *Sebauroud dextrose agar* (SDA)

3) Sterilisasi alat

Disterilkan alat yang terbuat dari kaca yang tidak memiliki tingkat skala atau berbahan plastik dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit

- a) Alat gelas dicuci terlebih dahulu sampai bersih, kemudian dikeringkan
- b) Bungkus dengan kertas HVS
- c) Masukkan kedalam Autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit
- d) Keringkan dalam oven dengan suhu 37°C selama 30 menit.

4) Pembuatan media *Sebauroud dextrose agar* (SDA)

- a) Siapkan alat dan bahan
- b) Timbang media *Sebauroud dextrose agar* (SDA) sebanyak 9,1 gr

- c) Media yang telah ditimbang di masukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 140 ml kemudian dihomogenkan
 - d) Media disterilkan didalam Autoclave dengan suhu 121 °C
 - e) Media dituang kedalam masing-masing cawan petri secara aseptik dengan cara menuang dibelakang api bunsen
 - f) Media dibiarkan hingga memadat.
- 5) Pembuatan suspensi jamur
- a) Ambil 1 ose jamur *Candida albicans* dari media subkultur
 - b) Suspensikan dalam tabung steril berisi 3 ml NaCl 0,9%
 - c) Homogenkan hingga kekeruhannya sama dengan standar Mc Ferland 0,5
- 6) Pembuatan konsentrasi sari gel lidah buaya, lidah buaya (*Aloe Vera L*) ditimbang sebanyak 200 gr dan dibuat sari gel lidah buaya sebanyak 25 ml dibuat dalam 3 konsentrasi 60%, 80%, dan 100%. Sesuai sengan rumus pengenceran berikut

$$V_1.M_1=V_2.M_2$$

Keterangan :

V_1 : Volume larutan stok

V_2 : Volume larutan perlakuan

M_1 : Konsentrasi larutan stok

M_2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan

- a. Konsentarsi 60%, dalam 10 ml

Dik. $M_1 = 100\%$, $M_2 = 60\%$, $V_2 = 10 \text{ ml}$: V_1

$$V_1 . M_1 = V_2 . M_2$$

$$V_1 \cdot 100\% = 10\text{ml} \cdot 60\%$$

$$V_1 \cdot 100\% = \frac{600 \text{ ml} \%}{100\%}$$
$$= 6 \text{ ml}$$

Jadi dalam membuat konsentrasi 60% dalam 10 ml. Gel lidah buaya sebanyak 6 ml di tambahkan dengan 4 ml aquadest sehingga sampai 10 ml

- b. Konsentarsi 80%, dalam 10 ml

$$\text{Dik. } M_1 = 100\%, M_2 = 80\%, V_2 = 10 \text{ ml} : V_1$$

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

$$V_1 \cdot 100\% = 10\text{ml} \cdot 80\%$$

$$V_1 \cdot 100\% = \frac{800 \text{ ml} \%}{100\%}$$
$$= 8 \text{ ml}$$

Jadi dalam membuat konsentrasi 80% dalam 10ml. Gel lidah buaya sebanyak 8 ml di tambahkan dengan 2ml aquadest sehingga sampai 10 ml

- c. Konsentarsi 100%, dalam 10 ml

$$\text{Dik. } M_1 = 100\%, M_2 = 100\%, V_2 = 10 \text{ ml} : V_1$$

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

$$V_1 \cdot 100\% = 10\text{ml} \cdot 100\%$$

$$V_1 \cdot 100\% = \frac{1000\text{ml} \%}{100\%}$$
$$= 10 \text{ ml}$$

2. Analitik

Metode : Difusi agar (*Disk Diffusion Method*) dari Kirby-Bauer

- Cawan petri yang disterilkan disimpan diatas meja
- Media *Sebauraud dextrose agar* yang sudah memadat di panaskan terlebih dahulu diatas api Bunsen sampai media *Sebauraud dextrose agar* mencair

- c. Media *Sebaurod dextrose agar* dituang di dalam cawan petri steril yang sudah disiapkan, kemudian tunggu hingga memadat.
- d. Buat suspensi fungi dengan cara mengambil satu mata ose biakan murni *Candida albicans* stok kultur murni dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9% sebanyak 3 ml kemudian dikocok hingga homogen.
- e. Tunggu hingga memadat
- f. Masukkan 0,1 ml suspensi fungi pada media *Sebaurod dextrose agar* kemudian di ratakan dengan *Drigle Sky*
- g. Ambil kertas cakram yang telah di rendam di dalam sari gel lidah buaya dengan konsentrasi 60%, 80%, dan 100% Kemudian diletakkan diatas media *Sebaurod dextrose agar* yang telah di inokulasi *Candida albicans*.
- h. Lakukan kontrol positif dan negatif
 - ✚ Kontrol positif : Media *Sebaurod Dextrose Agar* + *Ketokonazol*
 - ✚ Kontrol negatif : Media *Sebaurod Dextrose Agar* + Aquadest.
- i. Bungkus cawan petri dengan menggunakan kertas, kemudian diinkubasi pada suhu ruang 28 °C selama 3 x 24 jam.
- j. Amati ada atau tidaknya zona hambat (Wilayah jernih) di sekitar paper disk

3. Pasca analitik

- a. Pencatatan hasil penelitian

Pencatatan hasil penelitian merupakan hasil penelitian yang dilakukan dengan suatu aktifitas dalam bentuk tulisan dari hasil pengukuran atau pengamatan yang telah dilakukan. Pencatatan hasil ditentukan dengan rumus :

$$\frac{(D_v - D_s) + (D_h - D_s)}{2}$$

Keterangan :

Dv : Diameter Vertical

Dh : Diameter horizontal

Ds : Diameter sumuran (6mm)

b. 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.

c. Pelaporan hasil penelitian

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

Efektif : Ditandai dengan terbentuknya zona bening

Tidak efektif : Ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening

F. Pengolahan Sampel

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

- a) Pengeditan (*Editing*) yaitu memeriksa kembali semua data yang terkumpul untuk mengetahui kelengkapan, kesalahan, dan tidak konsisten data yang ada.
- b) Pengkodean data (*Coding*) bertujuan untuk memudahkan dalam menganalisa data dengan cara memberikan kode atau atribut yang spesifik pada sampel.
- c) Tabulasi (*Tabulating*) data yang telah dikumpulkan dalam bentuk tabel untuk mengelompokkan data kedalam suatu data tertentu menurut sifat-sifat yang dimiliki sesuai dengan tujuan penelitian.

G. Analisis data

Pada penelitian ini dianalisa dengan metode deskriptif berdasarkan kategori respon hambat (Resisten) < 12 mm, (Intremediet) 13-17 mm dan (Sensitif) > 18 mm

H. Penyajian data

Data yang tersedia disajikan dalam bentuk tabel kemudian dinarasikan.