

BAB 3

PROSEDUR PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian kuantitatif. Metode ini disebut kuantitatif karena data penelitian berupa angka-angka dan analisisnya menggunakan statistik. Menurut Sugiyono (2015:14) pendekatan kuantitatif merupakan penelitian yang berlandaskan pada filsafat positivisme untuk meneliti populasi atau sampel tertentu dan pengambilan sampel secara random dengan pengumpulan data menggunakan instrumen, analisis data bersifat statistik. Hal ini sejalan dengan yang diungkapkan oleh Creswell (2014:32) bahwa penelitian kuantitatif merupakan pendekatan untuk menguji teori-teori obyektif dengan memeriksa hubungan antar variabel. Variabel ini, pada gilirannya, dapat diukur dengan menggunakan instrumen, sehingga data dapat dianalisis dengan menggunakan prosedur statistik.

Jenis metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yang mempunyai ciri khas tersendiri terutama dengan adanya kelompok kontrolnya. Melalui pendekatan kuantitatif dengan metode eksperimen ini peneliti dapat mencari pengaruh variabel tertentu terhadap variabel lain dengan kontrol yang ketat.

3.2 Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini terdapat 2 variabel, yaitu:

1) Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan koloni bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus*.

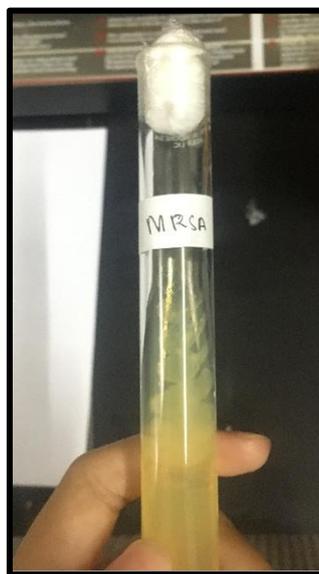
2) Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kontrol (akuades steril) dan konsentrasi ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) sebesar 5%, 10%, 15%, dan 20%.

3.3 Populasi dan Sampel

1) Populasi

Populasi menurut Sugiyono (2015:80) adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas: objek/subjek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya. Populasi dalam penelitian ini adalah 1 tabung reaksi kultur murni bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman (Gambar 3.1).



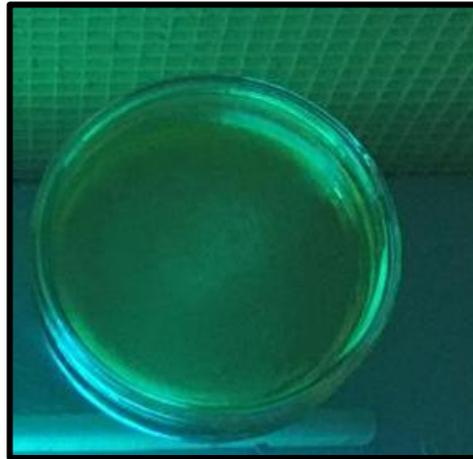
Gambar 3.1

Populasi Penelitian

Sumber: Dokumentasi Pribadi

2) Sampel

Sampel menurut Sugiyono (2015:81) adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut. Teknik *sampling* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *sampling* jenuh. Menurut Sugiyono (2014:118) Teknik *sampling* jenuh adalah teknik penentuan sampel bila semua anggota populasi digunakan sebagai sampel. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah subkultur bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* pada cawan petri (Gambar 3.2).



Gambar 3.2

Sampel Penelitian

Sumber: Dokumentasi Pribadi

3. 4 Desain Penelitian

Desain penelitian merupakan alur sederhana yang mendeskripsikan pola hubungan variabel penelitian atau prosedur kerja peneliti untuk memecahkan masalah penelitian. Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimen murni (*true experimental research*) dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL).

Penentuan banyaknya pengulangan masing-masing konsentrasi berdasarkan perhitungan rumus :

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

Keterangan :

t = Perlakuan

r = Pengulangan

15= Faktor nilai derajat kebebasan umum

Berdasarkan rumus diatas jika jumlah perlakuan (t) = 5 maka jumlah pengulangan dapat diketahui sebagai berikut :

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

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

$$r - 1 \geq 4r \geq 4r$$

Maka pada penelitian ini dilakukan 4 kali pengulangan pada tiap konsentrasi. Penentuan konsentrasi dilakukan secara RAL yang diperoleh

menggunakan program *Microsoft Excel* dengan rancangan selengkapnya ditampilkan pada tabel 3.1 sebagai berikut :

Tabel 3.1
Rancangan Acak Lengkap

| ULANGAN 1 | ULANGAN 2 | ULANGAN 3 | ULANGAN 4 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| P1 | P2 | P5 | P1 |
| P3 | P1 | P4 | P4 |
| P4 | P3 | P3 | P2 |
| P5 | P1 | P5 | P5 |
| P2 | P2 | P3 | P4 |

Keterangan:

P1= Kontrol (Konsentrasi Ekstrak 0%)

P2= Konsentrasi Ekstrak 5%

P3= Konsentrasi Ekstrak 10%

P4= Konsentrasi Ekstrak 15%

P5= Konsentrasi Ekstrak 20%

3.5 Langkah-langkah Penelitian

Secara umum, penelitian ini terdiri dalam dua tahap, yaitu:

- 1) **Tahap perencanaan atau persiapan**, yang meliputi:
 - a) Mendapatkan Surat Keputusan Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Siliwangi mengenai penetapan pembimbing skripsi pada tanggal 24 November 2020 ;
 - b) Mengkonsultasikan judul dan permasalahan yang akan diteliti dengan pembimbing I dan II;
 - c) Judul diterima dan ditandatangani oleh pembimbing I dan II pada tanggal 25 November 2020;
 - d) Mengajukan judul ke Dewan Bimbingan Skripsi (DBS) pada tanggal 25 November 2020;
 - e) Menyusun proposal penelitian dengan dibimbing oleh pembimbing I dan II untuk diseminarkan;
 - f) Mengajukan permohonan seminar proposal penelitian kepada Dewan Bimbingan Skripsi (DBS) (Gambar 3.3);

g) Melaksanakan seminar proposal penelitian pada tanggal 27 Januari 2021 sehingga dapat tanggapan, saran, koreksi atau perbaikan proposal penelitian;



Gambar 3.3

Seminar Proposal

Sumber: Dokumentasi Pribadi

h) Mengkonsultasikan dengan pembimbing I dan II untuk memperbaiki proposal penelitian;

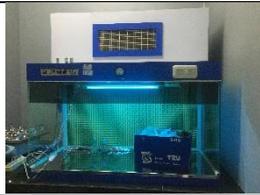
i) Mengurus perizinan untuk melaksanakan penelitian pada tanggal 1 Februari 2021.

2) **Tahap pelaksanaan**, yang meliputi:

a) Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian, alat dan bahan dapat dilihat pada tabel 3.2.

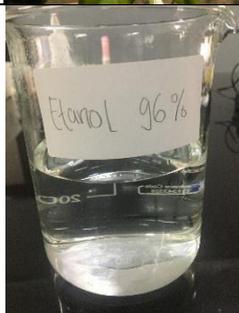
Tabel 3.2
Alat dan Bahan

| No. | Alat & Bahan | Spesifikasi dan Kegunaan | Jumlah | Gambar |
|-----|--------------|---|--------|---|
| 1. | Autoklaf | Autoclave GEA (Untuk mensterilkan alat yang akan digunakan) | 1 buah |  |
| 2. | Inkubator | Memmert (Untuk menyimpan biakan bakteri) | 1 buah |  |

| | | | | |
|----|-------------------------------|--|--------|---|
| 3. | <i>Laminar Air Flow (LAF)</i> | Meja kerja steril untuk kegiatan inokulasi | 1 buah |  |
| 4. | Cawan Petri | Normax (Untuk inokulasi biakan bakteri) | 5 buah |  |
| 5. | Timbangan | Untuk menimbang daun cengkih (<i>Syzygium aromaticum</i>) 1 buah | 1 buah |  |
| 6. | Pinset | Untuk mengambil <i>paper disc</i> | 1 buah |  |
| 7. | Saringan | Untuk menyaring simplisia daun cengkih (<i>Syzygium aromaticum</i>) | 1 buah |  |
| 8. | Corong buchner | Menyaring ekstrak daun cengkih (<i>Syzygium aromaticum</i>) | 1 buah |  |
| 9. | <i>Rotary Evaporator</i> | BUCHI (Untuk membuat ekstrak daun cengkih (<i>Syzygium aromaticum</i>) (<i>S. aromaticum</i>)) | 1 buah |  |

| | | | | |
|-----|------------------|--|--------|---|
| 10. | Magnetic stirrer | D-LAB / Tipe MX-S (Untuk menghomogenkan suspensi sampel) | 1 buah |  |
| 11. | Bunsen | Pudak (Untuk mensterilkan ose) | 1 buah |  |
| 12. | Blender | Waring 8010 (Untuk menghaluskan bahan segar) | 1 buah |  |
| 13. | Gelas Kimia | Pyrex (Untuk membuat formula <i>Hand sanitizer</i>) | 5 buah |  |
| 14. | Jangka sorong | Buterfly (Untuk mengukur zona hambat) | 1 buah |  |

| | | | | |
|-----|--------------------|--|------------|---|
| 15. | Jarum Ose | USBECK (Untuk memindahkan biakan untuk ditanam/ditumbuhkan ke media baru) | 1 buah |  |
| 16. | Kertas coklat | J Plus (Membungkus alat dan bahan yang akan disterilisasi) | Secukupnya |  |
| 17. | Timbangan Analitik | (BOECO) Untuk menimbang bahan yang akan digunakan dalam praktikum dengan tingkat ketelitian yang tinggi. | 1 buah |  |
| 18. | Kertas saring | Whatman (Untuk menyaring hasil ekstrak daun cengkih (<i>Syzygium aromaticum</i>)) | Secukupnya |  |
| 19. | Botol kaca | Duran GL (Untuk tempat menyimpan hasil ekstrak) | 5 buah |  |
| 20. | Paper disc | Menguji ekstrak daun cengkih (<i>Syzygium aromaticum</i>) | 5 buah |  |

| | | | | |
|-----|--|---|-----------------|---|
| 21. | Daun cengkih (<i>Syzygium aromaticum</i>) | Bahan segar | 500 gram |  |
| 22. | Etanol 96% | Shagufta (Bahan untuk maserasi) | 1 L |  |
| 23. | Akuades Steril | Akuades UFSA (Bahan untuk maserasi dan <i>Hand sanitizer</i>) | 1L |  |
| 24. | Media NA | Himedia (Media yang sering digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan bakteri) | 14 gram |  |
| 25. | Kultur Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> | Bahan yang akan diuji | 1 tabung reaksi |  |

b) Pelaksanaan penelitian, meliputi:

(1) Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan harus di sterilisasi terlebih dahulu agar terhindar dari mikroorganisme pengganggu lainnya. Adapun tahapan sterilisasi yang akan digunakan adalah sebagai berikut:

- (a) Membungkus alat yang akan disterilisasi menggunakan kertas coklat dan plastik tahan panas;
- (b) Memasukkan alat yang akan digunakan ke dalam autoklaf selama 30 menit dengan suhu 121°C tekanan 2 atm;
- (c) Mematikan pemanas dan menunggu tekanan sampai 0;
- (d) Mengeluarkan alat dari autoklaf;
- (e) Meniriskan alat dan bahan yang telah disterilisasi;
- (f) Alat siap untuk digunakan.

Proses sterilisasi dapat dilihat pada gambar 3.4.



A B

Gambar 3.24
Proses Sterilisasi (A), Meniriskan alat dan bahan hasil sterilisasi (B)
 Sumber: Dokumentasi Penulis

(2) Pembuatan Ekstrak Daun cengkih (*Syzygium aromaticum*)

Tahapan pembuatan Ekstrak Daun Cengkih (*Syzygium aromaticum*)) (*S. aromaticum*) adalah sebagai berikut:

- (a) Mencuci daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) sampai bersih;
- (b) Mengeringkan daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dalam oven selama 1 jam pada suhu 50°C;
- (c) Membersihkan daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dari ibu tulang daun;
- (d) Menimbang simplisia atau bahan segar yaitu daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) yang akan diekstraksi sebanyak 100 gram;
- (e) Menghaluskan bahan segar menggunakan blender dan menyaring sampai halus;

- (f) Memindahkan bahan yang telah dihaluskan ke sebuah wadah tertutup. Menambahkan pelarut etanol 96% ke dalam wadah yang berisi simplisia yang telah dihaluskan sampai simplisia terendam etanol dan menyimpan selama 2 hari, dan setiap hari diaduk selama 10 menit;
- (g) Menyaring larutan menggunakan corong buchner dan kertas saring;
- (h) Memindahkan hasil saringan ke dalam evaporator dan memasang labu pada evaporator;
- (i) Melakukan destilasi pada suhu titik didih pelarut sampai tertinggal cairan pekat pada evaporator;
- (j) Memindahkan cairan pekat ke dalam botol kaca yang telah disterilkan.

Proses pembuatan Ekstrak Daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dapat dilihat pada gambar 3.5.

**A****B****C****D**



E



F



G



H

Gambar 3.5

Proses pengeringan daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dalam oven (A), Penimbangan berat kering daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) (B), Penimbangan daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) tanpa ibu tulang daun (C), Proses menghaluskan simplisia (D), Penyaringan simplisia sampai halus (E), Perendaman simplisia dalam etanol 96% (F), Penyimpanan simplisia selama 2 hari di tempat tertutup (G), Penyaringan ekstrak (H).

Sumber: Dokumentasi Penulis

(3) Pembuatan *Hand sanitizer* Ekstrak Daun cengkih (*Syzygium aromaticum*)

Tahapan pembuatan *Hand sanitizer* Ekstrak Daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) adalah sebagai berikut:

- (a) Menyiapkan 5 buah gelas kimia yang akan digunakan sebagai wadah dalam pembuatan *Hand sanitizer*.
- (b) Memberi label formula 1, 2, 3, 4, dan 5 pada 5 buah gelas kimia.
- (c) Menuangkan ekstrak buah daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) pada masing-masing gelas yang telah diberi label.

Konsentrasi ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) didapatkan berdasarkan rumus:

$$V1.N1 = V2.N2$$

Keterangan:

V1 = Volume yang dicari

N1 = Konsentrasi awal (100% larutan)

V2 = Volume yang diinginkan (ditentukan 100 ml)

N2 = Konsentrasi yang diinginkan

Sehingga jumlah ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) yang dituangkan adalah:

(1) Konsentrasi 5% ekstrak = **1,5 gram**

(2) Konsentrasi 10% ekstrak = **3 gram**

(3) Konsentrasi 15% ekstrak = **4,5 gram**

(4) Konsentrasi 20% ekstrak = **6 gram**

(d) Mencampurkan akuades steril pada masing-masing gelas kimi, yaitu:

(1) Konsentrasi ekstrak 5% = **30 ml**

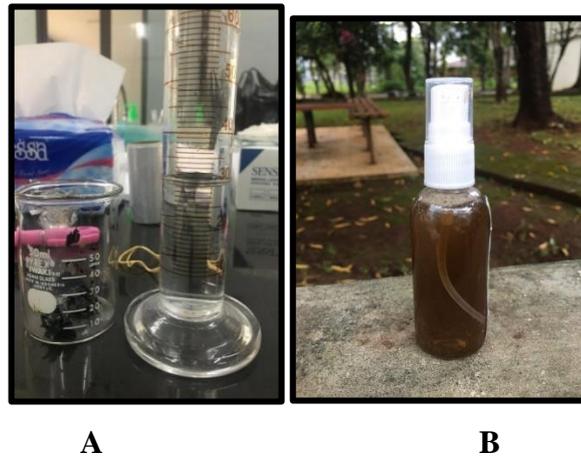
(2) Konsentrasi ekstrak 10% = **30 ml**

(3) Konsentrasi ekstrak 15% = **30 ml**

(4) Konsentrasi ekstrak 20% = **30 ml**

(e) Menghomogenkan campuran ekstrak dan akuades steril pada *magnetic stirrer* sampai merata.

Adapun proses pembuatan *hand sanitizer* ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dapat dilihat pada gambar 3.6.



Gambar 3.6

Proses pembuatan *hand sanitizer* ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) sesuai formulasi (A), *Hand Sanitizer* Ekstrak Daun Cengkih (*Syzygium aromaticum*) (B)

Sumber: Dokumentasi Penulis

(4) Uji daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus*

(1) Pembuatan media NA

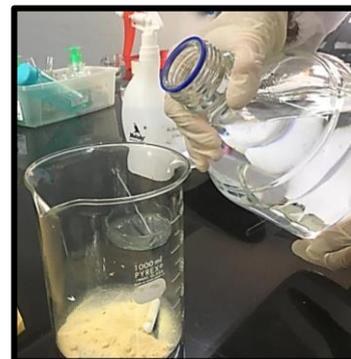
Tahapan pembuatan media NA yaitu:

- (a) Timbang media NA (Oxoid) sebanyak 7 gram;
- (b) Tambahkan akuades dan aduk sampai merata dengan batang pengaduk;
- (c) Panaskan dengan hati-hati menggunakan magnetic stirrer sampai media tercampur homogen;
- (d) Tuangkan media pada labu erlenmeyer;
- (e) Sterilkan seluruh media dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit, tekanan 1 atm 121°C;
- (f) Tiriskan Media NA.

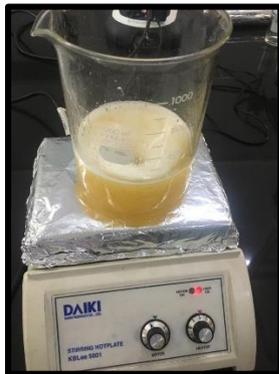
Proses pembuatan Media NA dapat dilihat pada gambar 3.7.



A



B



C



D

Gambar 3.7

Penimbangan Media NA sebanyak 7gram (A), Penambahan akuades pada media (B), Pemanasan dan proses menghomogenkan media (C), Proses sterilisasi media (D).

Sumber: Dokumentasi Penulis

2) Inokulasi bakteri uji

Ambil 2 ose suspensi bakteri uji, inokulasikan ke dalam cawan petri berisi media NA secara *spread plate* (harus merata di seluruh permukaan media) dan biarkan permukaan agar mengering. Lakukan proses tersebut pada 5 cawan petri. Proses dapat dilihat pada gambar 3.8.



Gambar 3.8

Proses inokulasi bakteri pada cawan petri berisi Media NA

Sumber: Dokumentasi Pribadi

3) Pengujian secara difusi cakram

(a) *Paper disc* dicelupkan kedalam *hand sanitizer* ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) kemudian diletakkan di atas cawan petri sebanyak 4 *paper disc* secara simetri. Larutan uji yang digunakan adalah *hand sanitizer* ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dengan berbagai konsentrasi (5%, 10%, 15%, 20% , serta kontrol/ akuades).

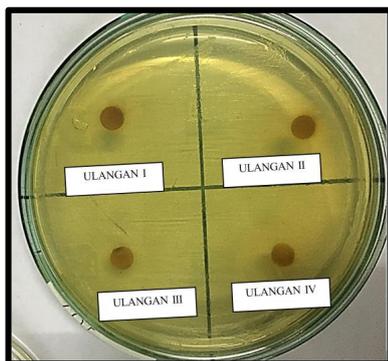
- (b) Setiap *paper disc* diinokulasikan dengan jarak tertentu secara teratur, agar supaya tidak terjadi *overlapping* zona hambat yang terbentuk.
- (c) Beri label pada dasar cawan petri secara benar
- (d) Inkubasikan selama 48 jam. Amati zona keruh dan jernih di setiap cawan petri. Amati pertumbuhannya dan ukur diameter zona jernih yang terbentuk di sekitar *paper disc* dengan jangka sorong.
- (e) Proses pengujian secara difusi cakram dapat dilihat pada gambar 3.9.



A



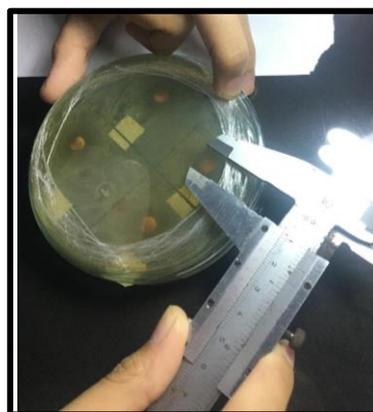
B



C



D



E

Gambar 3.9

Pencelupan *paper disc* pada *hand sanitizer* ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) (A), Hasil *paper disc* yang telah dicelupkan pada berbagai konsentrasi (B), Penyimpanan *paper disc* pada cawan petri (C), Proses

inkubasi cawan petri (D), Proses perhitungan zona hambat dengan jangka sorong (E).

Sumber: Dokumentasi Pribadi

8.6 Teknik Pengumpulan Data

Pada penelitian ini, teknik pengumpulan data yang digunakan adalah observasi, yaitu suatu teknik pengumpulan data dengan mengamati secara langsung objek yang diteliti, yaitu diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang terdapat pada media. Konsentrasi ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) yang digunakan yaitu 5%, 10%, 15%, 20% dan kontrol.

8.7 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian atau instrumen pengumpulan data adalah alat bantu yang dipilih dan digunakan oleh peneliti dalam kegiatannya mengumpulkan data agar kegiatan tersebut menjadi sistematis dan dipermudah olehnya. Berikut ini merupakan instrumen yang digunakan dalam penelitian (Tabel 3.3).

Tabel 3.3

Instrumen Uji Daya Hambat *Hand sanitizer* Ekstrak Daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) terhadap Bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus*.

| Konsentrasi | Ulangan | | | | Total Diameter Zona Hambat (mm) |
|--------------|---------|-------|-------|-------|---------------------------------|
| | 1(mm) | 2(mm) | 3(mm) | 4(mm) | |
| 0% (Kontrol) | | | | | |
| 5% | | | | | |
| 10% | | | | | |
| 15% | | | | | |
| 20% | | | | | |

8.8 Teknik Pengolahan dan Analisis Data

Setelah data dari penelitian diperoleh, maka data tersebut dianalisis dengan bantuan aplikasi SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) versi 26 dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 1) Uji Prasyarat Analisis
 - a) Uji normalitas data

Uji normalitas digunakan untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak. Pada penelitian ini untuk mengetahui normalitas data digunakan

Uji *Shapiro Wilk*. Apabila kedua kelompok data telah diambil dari populasi yang berdistribusi normal, maka analisis dilanjutkan dengan uji homogenitas.

b) Uji homogenitas varians

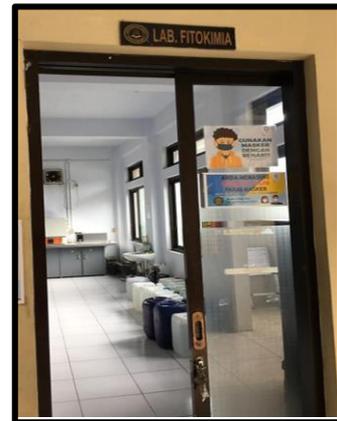
Uji homogenitas varians dilakukan untuk menyelidiki apakah populasi mempunyai varians yang sama atau tidak. Pada penelitian ini uji homogenitas varians menggunakan uji Levene. Apabila kedua kelompok data variansnya yang homogen, maka analisis dilanjutkan dengan uji ANOVA satu jalur, tetapi jika kedua kelompok data mempunyai varians yang tidak homogen, maka analisis dilanjutkan dengan uji non parametrik. Analisis data pada penelitian ini dilakukan secara deskriptif dan kuantitatif, yaitu dengan cara menguraikan hasil penelitian berdasarkan data yang diperoleh secara menyeluruh.

c) Uji hipotesis

Uji hipotesis dilakukan setelah data hasil uji prasyarat analisis diperoleh. Analisis statistik dilakukan dengan ANOVA satu jalur untuk mengetahui apakah ada pengaruh yang signifikan antar-perlakuan. Apabila ada pengaruh, selanjutnya dianalisis menggunakan uji Tukey HSD, uji ini digunakan untuk membandingkan tiap perlakuan yang diberikan dengan kontrol.

8.9 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari-Mei 2021, untuk jadwal lengkap dapat dilihat pada tabel 3.4. Pembuatan ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) akan dilaksanakan di Laboratorium Botani Universitas Siliwangi dan Laboratorium Fitokimia Universitas Garut. Pengujian penghambatan terhadap bakteri MRSA dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Siliwangi. Tempat penelitian dapat dilihat pada gambar 3.10.

**A****B****C**

Gambar 3.10
**Laboratorium Botani (A), Laboratorium Fitokimia (B),
Laboratorium Mikrobiologi (C)**
Sumber: Dokumentasi Pribadi

