

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Agustus–September 2021. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan UIN Raden Fatah Jakabaring Palembang.

#### B. Jenis Penelitian

Pada penelitian ini peneliti menggunakan jenis penelitian *True Eksperimental* (Eksperimen yang betul-betul). Desain penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Parameter yang akan diamati dalam penelitian ini yaitu daya hambat jamur *Candida albicans*. Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dan 6 kali pengulangan. Jumlah pengulangan dapat diperoleh dengan rumus Federer sebagai berikut :  $(t-1)(r-1) \geq 15$  yang terdiri dari 4 perlakuan dan 6 kali ulangan. Dengan perhitungan sebagai berikut:

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

$$(4-1)(r-1) \geq 15$$

$$3(r-1) \geq 15$$

$$r \geq 6.$$

Berikut parameter yang akan diamati dalam penelitian ini yaitu daya hambat jamur *Candida albicans*. Penelitian ini terdapat 6 perlakuan, yaitu:

1. Kontrol negatif (P<sub>0</sub>) : Media + Ekstrak Etanol jahe merah + DMSO
2. Perlakuan 1 (P<sub>1</sub>) : Media + Fungi + Ekstrak Etanol jahe merah 25 %
3. Perlakuan 2 (P<sub>2</sub>) : Media + Fungi + Ekstrak Etanol jahe merah 100%

4. Perlakuan 3 (P3) : Media + Fungi + Etanol jahe merah Etanol jahe merah 100 % (Sugiyono, 2014).

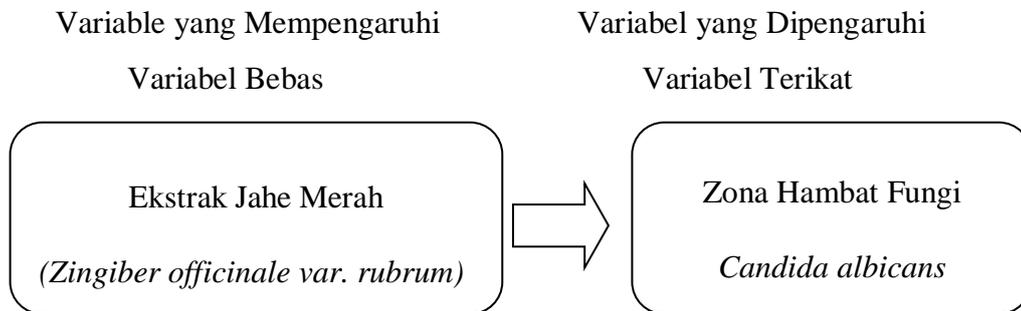
Setiap perlakuan dilakukan enam (6) kali pengulangan dan pada setiap unit perlakuan terdapat empat lubang sumuran. Konsentrasi yang digunakan dimulai dari 25%, 50%, dan 100% bertujuan untuk mengetahui zona hambat ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) terhadap pertumbuhan fungi *Candida albicans*. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Dimetil sulfoksida (DMSO), karena larutan ini dapat melarutkan hampir semua larutan polar maupun nonpolar (Wulandari & Sulistyarini, 2018).

Metode difusi cakram sering digunakan laboratorium mikrobiologi klinis untuk uji kepekaan antifungi. Pada prosedur ini, cawan agar diinokulasi dengan inokulum standar pada uji mikroorganisme. Kemudian bahan uji ditambahkan pada cakram kertas dengan diameter sekitar 6 mm. Cakram diletakkan diatas permukaan agar kemudian diinkubasi pada kondisi sesuai standar. Agen antifungi menyebar pada agar dan menghambat pembentukan dan pertumbuhan mikroorganisme yang diuji kemudian diameter zona hambat diukur (Soleha, 2015).

### **C. Definisi Operasional Variabel**

Dalam penelitian ini terdapat beberapa variabel, antara lain variabel bebas (*Independent*) dan variabel terikat (*Dependent*). Variabel yang mempengaruhi adalah variabel bebas dan variabel yang dipengaruhi adalah variabel terikat (Yusuf, 2014). Berdasarkan pendapat

tersebut jadi variabel bebas dan variabel terikat dalam penelitian ini yaitu.



#### D. Alat dan Bahan

##### 1. Alat

Adapun alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak yaitu, sebagai berikut: cawan petri, corong gelas, cutter, Erlenmeyer 500 ml, gelas ukur 100 ml, gunting, *hot plate*, jarum ose, kertas label, jangka sorong, kertas saring, korek api, oven, pinset, plastic wrap, rak tabung reaksi, spatula, stirrer, timbangan analitik, tissue, toples, pipet tetes, stop watch, botol vial, cotton buds, karet gelang, kertas cakram, alat tulis, Bunsen, batang pengaduk, timbangan analitik, blender, botol media.

Alat yang sangat berperan adalah autoklaf berfungsi untuk mensterilisasikan alat, bahan dan media. Rotary evaporator berfungsi untuk mengubah larutan dari bentuk cair menjadi uap, Laminar air flow berfungsi untuk ruang kerja tetap steril, incubator berfungsi untuk menumbuhkan mikroorganismenya pada kondisi tertentu.

##### 2. Bahan

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu, etanol 95%, Sampel tanaman Jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) yang didapatkan disalah satu warga desa Yosowinangun kec. Belitang. Jahe merah berumur 10 bulan/telah siap panen, Ekstrak hasil jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*), biakan murni *Candida albicans* yang didapatkan di laboratorium poltekkes Palembang, *Potato Dextrose Agar* (PDA), Kontrol negatif dengan *dimetilsulfoksida* (DMSO), Aquades.

### 3. Cara Kerja

Berikut merupakan prosedur penelitian Uji Efektivitas Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*.

#### a. Preparasi Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) yang di peroleh dari pekarangan warga desa Yosowinangun kecamatan belitang. Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) diambil kemudian dicuci di air yang mengalir dan dikupas kulitnya dengan menggunakan cutter/pisau kemudian di iris tipis-tipis dan dikeringkan dibawah sinar matahari, setelah kering Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) dibuat serbuk menggunakan blender.

#### b. Proses Ekstraksi

Sebanyak 300 gram serbuk jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 95% sebanyak 2 L. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam

sampai terekstraksi sempurna. Kemudian maserat yang diperoleh di saring dan di evaporasi dengan menggunakan *evaporator* dengan suhu 40 °C untuk menghasilkan ekstrak kental.

## **E. Prosedur Penelitian**

Berikut merupakan prosedur penelitian Uji Efektivitas Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) Terhadap Jamur *Candida albicans* :

### **1. Preparasi Sampel**

Sampel dalam penelitian ini adalah Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) yang di peroleh dari pekarangan warga desa Yosowinangun kecamatan belitang. Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) diambil kemudian dicuci di air yang mengalir dan dikupas kulitnya dengan menggunakan cutter/pisau kemudian di iris tipis-tipis dan dikeringkan dibawa sinar matahari, setelah kering Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) dibuat serbuk menggunakan blender.

### **2. Proses Ekstraksi**

Sebanyak 300 gram serbuk jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 95% sebanyak 2 L. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam sampai terekstraksi sempurna. Kemudian maserat yang diperoleh di saring dan di evaporasi dengan menggunakan *evaporator* dengan suhu 40 °C untuk menghasilkan ekstrak kental.

### **3. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara membungkus alat-alat yang akan digunakan dengan alumunium foil, kemudian memasukkannya ke

dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*) selama 15 menit.

#### **4. Pembuatan Media PDA**

Media PDA ditimbang sebanyak 4,2 gram kemudian dilarutkan dalam 1000 ml aquades dan dipanaskan lalu masukkan kloramfenikol sebagai antifungi agar tidak ada fungi atau bakteri yang lain tumbuh selain fungi *Candida albicans*. Selanjutnya media yang sudah jadi disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan pada tekanan 1 atm. Setelah media disterilisasi, lalu didinginkan hingga mencapai suhu 50 °C, ditambahkan dengan larutan kloramfenikol (untuk mencegah tumbuhnya kuman yang kontaminan). Media dituang kedalam cawan petri yang telah disterilisasikan dengan ketebalan  $\pm$  4 mm dan dibiarkan mengeras (Soemarno, 2000).

#### **5. Peremajaan *Candida albicans***

Diambil satu koloni fungi *Candida albicans* dengan menggunakan jarum ose steril, lalu dioleskan secara merata pada media PDA, setelah itu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

#### **6. Pembuatan Suspensi *Candida albicans***

Diambil 2 ose *Candida albicans* menggunakan ose steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan natrium klorida (NaCl) 0,9 % sebanyak 10 ml, kemudian mencampur hingga homogen yang ditandai dengan cairan berubah menjadi keruh.

**7. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*)**

Setiap perlakuan 6 kali pengulangan dan 4 perlakuan maka setiap unit perlakuan konsentrasi yang digunakan adalah 25%, 50%, 100%. Hasil jahe kering 2kg yang telah di iris tipis-tipis dan dikeringkan menjadi 300 gram simplisia sehingga ekstrak kental jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) yang telah jadi ditimbang dengan memulai konsentrasi yang lebih besar 100% sebanyak 3 gram dan seterusnya. Kemudian dimasukkan kedalam botol vial. Larutan ekstrak kental jahe merah akan dicairkan dengan pelarut DMSO (Dimetil sulfoksida) sebanyak 1 ml sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan menggunakan rumus pengenceran.

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan :  $M_1$  = Konsentrasi larutan stok ekstrak

$V_1$  = Volume larutan stok ekstrak yang dilarutkan

$M_2$  = konsentrasi larutan ekstrak yang diinginkan

$V_2$  = Volume larutan perlakuan yang diperlukan

**8. Kontrol Negatif**

Kontrol negatif yang digunakan adalah dengan menggunakan Dimetil sulfoksida (DMSO).

**9. Uji Aktivitas Jamur *Candida albicans***

Media PDA dituangkan kedalam cawan petri steril, kemudian 1 ml inokulum fungi dituang ke dalam cawan petri. Secara perlahan cawan petri digoyangkan dengan gerakan memutar, sehingga bahan fungi uji tercampur rata dalam medium agar. Medium agar didiamkan sampai memadat. Kemudian kertas cakram steril dimasukkan pada botol vial yang

berisi ekstrak jahe merah dengan berbagai taraf konsentrasi dan dibiarkan selama 30 menit, serta dengan control negatif dengan menggunakan DMSO. Setelah itu, kertas cakram diletakkan pada media padat menggunakan pinset steril. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diukur diameter daerah hambatan pertumbuhan disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong. Adanya daerah bening di sekeliling kertas cakram menunjukkan adanya aktivitas antifungi. Cara menghitung luas zona hambat yaitu (Dewi, 2010):

$$\frac{(Dv-Dc) + (Dh-Dc)}{2}$$

Keterangan:

Dv = Diameter Vertikal

Dh = Diameter Horizontal

Dc = Diameter Cakram

Penentuan kategori respon hambatan pertumbuhan menurut Waluyo, (2004) dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

**Tabel 1. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Jamur**

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan Jamur
>20 mm	Sangat Kuat
11-20 mm	Kuat
6-10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Lemah

(Sumber: Riska F dan Puguh S (2014))

## F. Teknik Analisis Data

### 1. Analisis Varian Anova

Data yang di peroleh dari pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan fungi *Candida albicans* di analisis menggunakan uji anova (Analisis Varian). Menurut Hanafiah (2016), uji anova merupakan prosedur uji statistic, dapat menguji perbedaan lebih dari dua kelompok. Untuk

menentukan zona hambat fungi antara perlakuan dilakukan dengan menggunakan uji-F yaitu dengan membandingkan  $F_{hitung}$  dengan  $F_{tabel}$  dengan ketentuan sebagai berikut :

- a. Jika  $F_{hitung} > F_{1\%}$  maka  $H_1$  diterima pada taraf uji 1 % artinya sangat berbeda nyata. Hal ini di tunjukan dengan menempatkan (\*\*) pada nilai  $F_{hitung}$  dalam sidik ragam.
- b. Jika  $F_{hitung} < F_{1\%}$  maka  $H_0$  diterima pada taraf 1% artinya tidak berbeda nyata = (non significant difference). Hal ini di tunjukkan dengan menempatkan tanda (tn) pada nilai  $F_{hitung}$  dalam sidik ragam.

## **2. Uji Lanjut Penelitian**

Setelah  $H_0$  ditolak, maka langkah selanjutnya ingin diketahui antar perlakuan (rata-rata) mana yang berbeda nyata. Maka untuk mengetahui hal tersebut dalam hal ini dilakukan uji nilai tengah (rata-rata) antar perlakuan dengan menggunakan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND).