

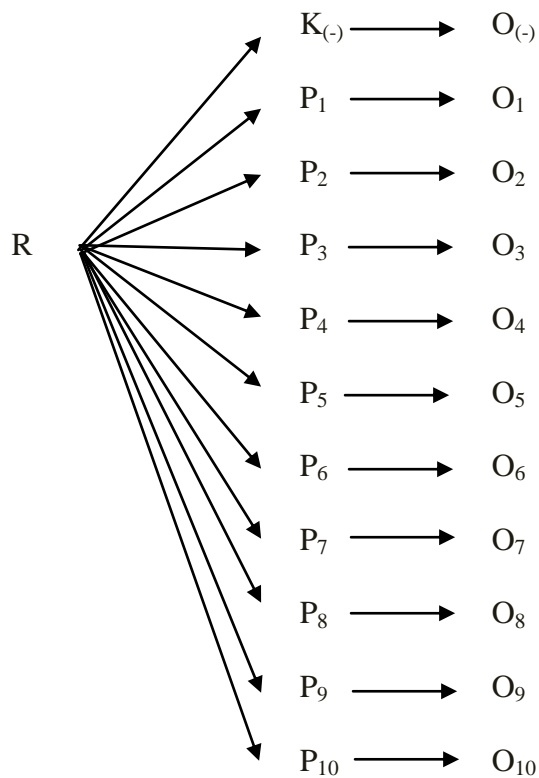
BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui apakah ada pengaruh penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil (*Bougainvillea glabra Choisy*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Desain penelitian eksperimental menurut (Zainudin, 2003 : 54):



Gambar 3.1 Desain penelitian eksperimental

Ket :

R : Media pertumbuhan yang diambil secara acak.

K₍₋₎ : tanpa penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil

P₁ : dengan penambahan konsentrasi air rebusan ekstra Bugenvil 100%

P₂ : dengan penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 90 %

- P₃ : dengan penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 80 %
 P₄ : dengan penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 70 %
 P₅ : dengan penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 60 %
 P₆ : dengan penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 50 %
 P₇ : dengan penambahan konsentrasi air rebusanbunga Bugenvil 40 %
 P₈ : dengan penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 30 %
 P₉ : dengan penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 20%
 P₁₀ : dengan penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 10 %
 O_(.) : pengamatan tanpa penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil
 O₁ : pengamatan setelah penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 100 %
 O₂ : pengamatan setelah penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 90%
 O₃ : pengamatan setelah penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 80 %
 O₄ : pengamatan setelah penambahan konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil 70 %
 O₅ : pengamatan setelah penambahan air rebusan bunga Bugenvil 60 %
 O₆ : pengamatan setelah penambahan air rebusan bunga Bugenvil 50 %
 O₇ : pengamatan setelah penambahan air rebusan bunga Bugenvil 40 %
 O₈ : pengamatan setelah penambahan air rebusan bunga Bugenvil 30 %
 O₉ : pengamatan setelah penambahan air rebusan bunga Bugenvil 20 %
 O₁₀ : pengamatan setelah penambahan air rebusan bunga Bugenvil 10 %

3.2 Populasi Dan Sampel

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah bunga Bugenvil (*Bougainvillea glabra Choisy*) yang ditanam di daerah Sutorejo No. 68 Surabaya.

3.2.2 Sampel Penelitian

Dalam penelitian ini sampel yang dimaksud adalah bunga Bugenvil (*Bougainvillea glabra Choisy*) yang telah diolah dan diambil air rebusannya.

Karena penelitian ini adalah penelitian eksperimental, maka menurut Zainudin (2003), besar pengulangan sampel yang digunakan ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$(n-1) (k-1) \geq 15$$

$$(n-1)(10-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq \frac{15}{9}$$

$$n \geq 2+1$$

$$n \geq 3$$

jadi, $n \sim 3$

(Zainudin, 2003 : 54)

Keterangan:

n: jumlah sampel (pengulangan)

k: perlakuan

Berdasarkan rumus diatas, maka besar pengulangan sampel lebih besar atau sama dengan 3 (tiga).

3.3 Waktu Dan Tempat

3.3.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2013 sampai dengan bulan Juli 2013, sedangkan untuk waktu pemeriksian dilakukan pada bulan Mei 2013.

3.3.2 Tempat penelitian

Pengambilan sampel jamur *Candida albicans* diambil dari Rumah Sakit (RS) Penyakit Tropis Infeksi (PTI) Universitas Airlangga Surabaya. Sedangkan untuk bunga Bugenvilnya diambil di jalan Sutorejo No. 68. Penelitian ini dilakukan di Surabaya, sedangkan pemeriksaan uji laboratorium dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.4 Variabel Dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas :

Yaitu: Konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil (*Bougainvillea glabra Choisy*).

2. Variabel terikat:

Yaitu: Pertumbuhan *Candida albicans*.

3. Variabel kontrol:

Yaitu: Suhu inkubasi dan waktu inkubasi, sterilisasi alat, serta metode yang digunakan.

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

1. Air rebusan bunga Bugenvil yang digunakan adalah air rebusan bunga Bugenvil yang diperoleh dengan cara merebus 100 gram bunga Bugenvil dalam 400 ml aquades. Didihkan sampai air rebusan tinggal 100 ml (w/v). Sehingga air rebusan Bunga bugenvil dengan konsentrasi 100%, kemudian air rebusan ini diencerkan dengan aquades hingga diperoleh konsentrasi 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% dan 10%.
2. Pertumbuhan *Candida albicans* adalah angka yang menyatakan jumlah koloni jamur yang tumbuh pada media biakan murni *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) setelah mengalami masa inkubasi selama 1 atau 2 x 24 jam (Onggowaluyo, 1990 : 19).
3. Suhu inkubasi yang digunakan adalah suhu 37⁰C sedangkan waktu inkubasinya selama 2x24 jam. Sterilisasi alat dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Metode yang digunakan adalah metode penanaman jamur *Candida*

albicans pada media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) dengan metode *Mac Farland*.

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan dari penelitian ini adalah pertumbuhan *Candida albicans*. Data dikumpulkan dengan cara pemeriksaan laboratorium yang dilakukan di Laboratorium Prodi D3 Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya. Analisis pertumbuhan *Candida albicans* dinyatakan dengan data jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing media pertumbuhan.

3.5.1 Pembuatan Air Rebusan Bunga Bugenvil

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca tiga lengan, panci, kompor dan gelas ukur. Sedangkan bahan yang digunakan adalah bunga Bugenvil 100 gram dan aquades 400 ml.

2. Prosedur Pembuatan air rebusan bunga Bugenvil

- a. Menyiapkan bunga Bugenvil.
- b. Menimbang 100 gram bunga bugenvil dengan menggunakan neraca tiga lengan.
- c. Mencuci bunga Bugenvil sampai bersih.
- d. Memasukkan 100 gram bunga Bugenvil ke dalam panci.
- e. Menambahkan 400 ml aquades ke dalam panci.
- f. Merebusnya sampai air rebusan tinggal 100 ml.

3.5.2 Uji Sterilisasi Spesimen

Hasil air rebusan bunga Bugenvil dilakukan proses uji sterilisasi dimana air rebusan di kultur kedalam media *Sabouroud Dextrose Agar (SDA)* dan di inkubasi 37⁰ C selama 2 x 24 jam. Jika tidak ada pertumbuhan jamur maka spesimen air rebusan bunga Bugenvil dinyatakan steril.

3.5.3 Standart *Mac Farland*

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam membuat standart *Mac Farland* meliputi tabung reaksi, pipet volume, ose lup, dan filler. Sedangkan bahan yang digunakan meliputi larutan BaCl₂ 1 %, larutan asam sulfat (H₂SO₄) 1 % dan larutan NaCl 0,85-0,9%

2. Pembuatan Standart *Mac Farland*

- a. Menyiapkan tabung reaksi bersih dan baru.
- b. Memipet dan memasukan 0,5 ml Barium Klorida (BaCl₂) 1% kedalam tabung reaksi.
- c. Menambahkan 99,5 ml Asam Sulfat (H₂SO₄) 1% kedalam tabung yang telah berisi 0,5 ml Barium Klorida (BaCl₂) 1%.
- d. Menghomogenkan kedua larutan tersebut sehingga didapatkan Standart *Mac Farland* 0,5 yang sebanding dengan jumlah spora $1,5 \times 10^8$ / ml.

3. Membuat suspensi jamur *Candida albicans* menggunakan standart Mac Farland 0,5 = $1,5 \times 10^8$ / ml :

Mengambil biakan murni jamur *Candida albicans* dengan menggunakan ose bulat kemudian memindahkan ke dalam Nacl 0,85-0,9% (PZ) steril, kemudian menghomogenkan dan membandingkan dengan standart *Mac Farland* 0,5. Jika

kekeruhan kurang dari standart *Mac Farland* 0,5 maka menambahkan kultur biakan murni *Candida albicans*, dan jika kekeruhan melebihi standart *Mac Farland* 0,5 maka menambahkan NaCl 0,85-0,9 % (PZ). Lakukan hal tersebut sampai suspensi jamur *Candida albicans* sesuai dengan standart *Mac Farland* 0,5.

3.5.4 Pembuatan Media *Sabouraud Dekstroza Agar* (SDA)

1. Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam membuat media *Sabouraud Dekstroza Agar* meliputi api spirtus, erlenmeyer, kaki tiga, korek api, spatula, neraca tiga lengan, kertas pH dan gelas arloji. Sedangkan bahan yang digunakan meliputi dehidrat *Sabouraud Dekstroza Agar*, klorampenikol dan air rebusan bunga Bugenvil dengan konsentrasi tertentu. Alat dan bahan yang digunakan harus dalam keadaan steril.

2. Prosedur pembuatan media *Sabouraud Dekstroza Agar* (SDA)

Prosedur pembuatan media *Sabouraud Dekstroza Agar* (SDA) adalah sebagai berikut:

- a. Menimbang dehidrat *Sabouraud Dekstroza Agar* (SDA) (penimbangan sesuai dengan jumlah media yang dibutuhkan).
- b. Menambahkan dengan aquades.
- c. Melarutkan dengan cara memanaskan diatas api spirtus sampai larut sempurna.
- d. Mengangkat dan mendinginkan sampai suam-suam kuku.
- e. Ukur pH dengan kertas pH sampai pH mencapai antara $5,5 \pm 0,2$.
- f. Menambahkan larutan klorampenikol.
- g. Mencampur dan menghomogenkan.

- h. Menuang media yang telah dingin pada plate steril.
- i. Mendinginkan dan simpan di lemari es (Onggowaluyo, 1999 : 19).

3.5.5 Uji Daya Hambat

1. Menyiapkan 33 tabung reaksi steril
2. Membuat konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil dan kontrol :
 - a) Konsentrasi 10 % = 0,1 ml air rebusan bunga Bugenvil 100 % + 0,9 ml aquadest steril.
 - b) Konsentrasi 20 % = 0,2 ml air rebusan bunga Bugenvil 100 % + 0,8 ml aquadest steril.
 - c) Konsentrasi 30 % = 0,3 ml air rebusan bunga Bugenvil 100 % + 0,7 ml aquadest steril.
 - d) Konsentrasi 40 % = 0,4 ml air rebusan bunga Bugenvil 100 % + 0,6 ml aquadest steril.
 - e) Konsentrasi 50 % = 0,5 ml air rebusan bunga Bugenvil 100 % + 0,5 ml aquadest steril.
 - f) Konsentrasi 60 % = 0,6 ml air rebusan bunga Bugenvil 100 % + 0,4 ml aquadest steril.
 - g) Konsentrasi 70 % = 0,7 ml air rebusan bunga Bugenvil 100 % + 0,3 ml aquadest steril.
 - h) Konsentrasi 80 % = 0,8 ml air rebusan bunga Bugenvil 100 % + 0,2 ml aquadest steril.
 - i) Konsentrasi 90 % = 0,9 ml air rebusan bunga Bugenvil 100 % + 0,1 ml aquadest steril.
 - j) Konsentrasi 100 % = 1 ml air rebusan bunga Bugenvil.

3. Mencampur masing-masing konsentrasi air rebusan bunga Bugenvil dengan 1 mata ose suspensi jamur *Candida albicans* yang setara dengan standart *Mac Farland* 0,5. Masing-masing konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dengan prosedur yang sama.
4. Membuat kontrol negatif dengan cara tabung reaksi steril diisi dengan PZ sebanyak 1ml kemudian ditambahkan satu mata ose suspensi jamur *Candida albicans* setara dengan standart *Mac Farland* 0,5.
5. Menginkubasi semua tabung reaksi pada suhu 37⁰ C selama 2 x 24 jam didalam inkubator.
6. Penilaian biakan jamur dilakukan apabila kontrol negatif menjadi keruh.
7. Tahap selanjutnya pertumbuhan jamur *Candida albicans* dilanjutkan dengan menanam kembali satu mata ose pada media *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA) dan di inkubasi 37⁰ C selama 2 x 24 jam dalam inkubator. Hal ini diperlakukan untuk semua konsentrasi.

3.5.6 Pengamatan Pertumbuhan Jamur

1. Prosedur Pengamatan
 - a. Mengambil semua media baik yang tidak ditambahkan air rebusan bunga Bugenvil, maupun yang ditambahkan air rebusan bunga Bugenvil dengan konsentrasi 100 %, 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, dan 10%.
 - b. Mengamati masing-masing media dan menghitung jumlah koloni serta mentabulasikan ke dalam tabel pertumbuhan *Candida albicans*.

3.5.7 Skema Prosedur Pemeriksaan Pemberian Air Rebusan Bunga Bugenvil (*Bougainvillea glabra Choisy*)

