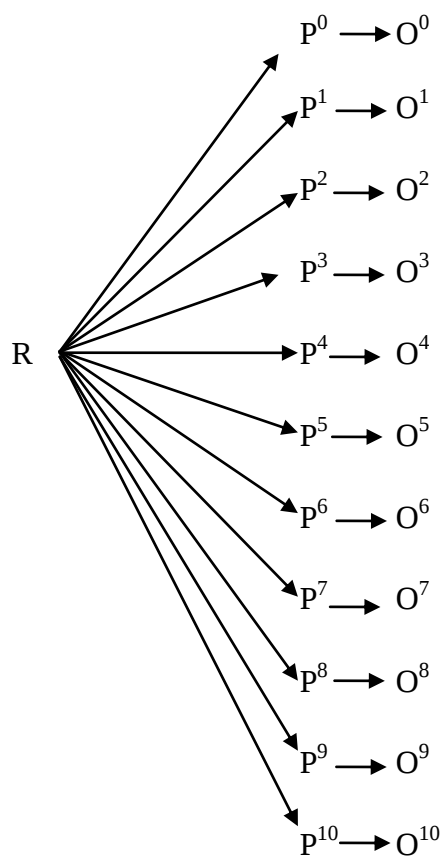


BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan eksperimental dimana untuk mengetahui adanya daya hambat gel lidah buaya terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.



(sumber : Handoko, 2008)

Keterangan :

R : Random

P^0 : Tanpa pemberian gel lidah buaya

P¹ : Dengan pemberian gel lidah buaya pada konsentrasi 100%.

P² : Dengan pemberian gel lidah buaya pada konsentrasi 90%.

P³ : Dengan pemberian gel lidah buaya pada konsentrasi 80%.

P⁴ : Dengan pemberian gel lidah buaya pada konsentrasi 70%.

P⁵ : Dengan pemberian gel lidah buaya pada konsentrasi 60%.

P⁶ : Dengan pemberian gel lidah buaya pada konsentrasi 50%.

P⁷ : Dengan pemberian gel lidah buaya pada konsentrasi 40%.

P⁸ : Dengan pemberian gel lidah buaya pada konsentrasi 30%.

P⁹ : Dengan pemberian gel lidah buaya pada konsentrasi 20%.

P¹⁰ : Dengan pemberian gel lidah buaya pada konsentrasi 10%.

O⁰ : Observasi pertumbuhan *Candida albicans* tanpa pemberian gel lidah buaya.

O¹ : Observasi pertumbuhan *Candida albicans* dengan pemberian gel lidah buaya dengan konsentrasi 100%.

O² : Observasi pertumbuhan *Candida albicans* dengan pemberian gel lidah buaya dengan konsentrasi 90%.

O³ : Observasi pertumbuhan *Candida albicans* dengan pemberian gel lidah buaya dengan konsentrasi 80%.

O⁴ : Observasi pertumbuhan *Candida albicans* dengan pemberian gel lidah buaya dengan konsentrasi 70%.

O⁵ : Observasi pertumbuhan *Candida albicans* dengan pemberian gel lidah buaya dengan konsentrasi 60%.

O⁶ : Observasi pertumbuhan *Candida albicans* dengan pemberian gel lidah buaya dengan konsentrasi 50%.

O⁷ : Observasi pertumbuhan *Candida albicans* dengan pemberian gel lidah buaya dengan konsentrasi 40%.

O⁸ : Observasi pertumbuhan *Candida albicans* dengan pemberian gel lidah buaya dengan konsentrasi 30%.

O⁹ : Observasi pertumbuhan *Candida albicans* dengan pemberian gel lidah buaya dengan konsentrasi 20%.

O¹⁰ : Observasi pertumbuhan *Candida albicans* dengan pemberian gel lidah buaya dengan konsentrasi 10%.

3.2 Populasi Dan Sampel

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah biakan murni dari *Candida albicans* yang telah diisolasi pada media *Sabouroud Dextrose Agar (SDA)*.

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel yang diperiksa adalah koloni dari biakan murni *Candida albicans* yang telah diisolasi di media *Sabouroud Dextrose Agar (SDA)*.

Berdasarkan rumus sampel yang dibuat bermacam-macam konsentrasi, maka ditentukan sebagai berikut :

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

$$(11-1)(n-1) \geq 15$$

$$10n - 10 \geq 15$$

$$n \geq 25/10$$

$$n \geq 2,5$$

$$n = 3$$

(Handoko, 2008)

keterangan:

n : Jumlah pengulangan

k : Banyak perlakuan

maka total seluruhnya terdapat 33 unit percobaan

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1 Tempat Penelitian

Sampel yang diperoleh dengan cara membeli biakan murni *Candida albicans*.

Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya Jl. Sutorejo 59 Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2013 sampai Juni 2013.

3.3.3 Waktu Pemeriksaan

Waktu pemeriksaan dilakukan pada tanggal 22 – 30 April 2013.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.4.1 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah :

1. Variabel Bebas : Konsentrasi Gel Lidah Buaya (*Aloe vera*)
2. Variabel Terikat : Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*

3.4.2 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Indikator /Parameter	Skala	Alat ukur
Konsentrasi gel lidah buaya (<i>Aloe vera</i>)	Konsentrasi Gel lidah Buaya (<i>Aloe vera</i>) adalah berat gel lidah buaya yang sudah diblender per volume aquadest (dalam satuan %)	Gel lidah buaya dengan konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, dan 10%.	Interval	Observasi langsung pengamatan laboratorium
Pertumbuhan Jamur <i>Candida albicans</i>	Pertumbuhan Jamur <i>Candida albicans</i> adalah jumlah koloni jamur <i>Candida albicans</i>	jumlah koloni jamur <i>Candida albicans</i> yang tumbuh setelah masa inkubasi selama 1-2 hari dan telah diberi perlakuan pada media Sabouroud Dextrose Agar (SDA).	Rasio	Observasi langsung pengamatan laboratorium

3.5 Metode Penelitian

Data pemberian gel lidah buaya dengan konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% dan 10% terhadap pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* diperoleh dengan cara pengujian laboratorium. Adapun langkah-langkah dalam penelitian ini sebagai berikut :

3.5.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Spesimen yang digunakan gel lidah buaya
- b. Media Sabouroud Agar (SDA)
- c. Larutan standar Mac Farland 0,5
- d. Biakan murni jamur *Candida albicans*
- e. PZ (NaCl 0,85 – 0,9 %) steril
- f. Aquadest Steril

3.5.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Tabung reaksi
- b. Petridisk
- c. Rak tabung
- d. Ose bulat
- e. Api spiritus
- f. Pipet ukur
- g. Filler
- h. Kertas berlemak

- i. Neraca analitik
- j. Kaki tiga dan kawat kasa
- k. Autoclave
- l. Inkubator
- m. Blender
- n. Kertas saring

3.5.3 Prosedur Penelitian

- a. Proses sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan

Mensteril beberapa alat dan media yang akan digunakan dalam penelitian dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

- b. Menyiapkan suspensi jamur

- 1. Membuat standart Mac Farland

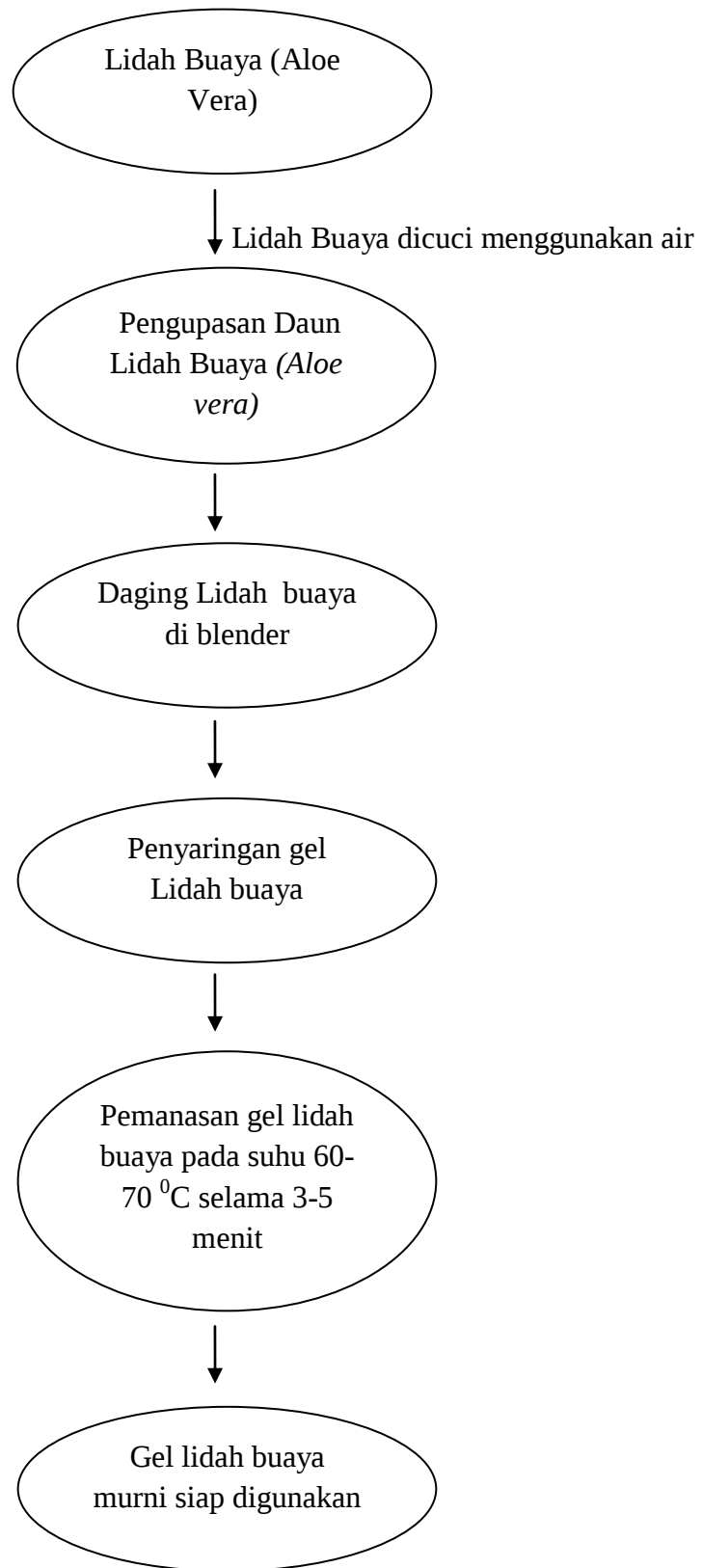
- a) Menyiapkan tabung reaksi bersih dan baru.
- b) Memipet dan memasukan 0,5 ml Barium Klorida (BaCl_2) 1% kedalam tabung reaksi.
- c) Menambahkan 99,5 ml Asam Sulfat (H_2SO_4) 1% kedalam tabung yang telah berisi 0,5 ml Barium Klorida (BaCl_2) 1%.
- d) Menghomogenkan kedua larutan tersebut sehingga didapatkan Standart Mac Farland 0,5 yang sebanding dengan jumlah spora $1,5 \times 10^8 / \text{ml}$ (Anonim, 2005).

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

Didalam biakan murni mengambil jamur *Candida albicans* dengan menggunakan ose bulat kemudian memindahkan kedalam Nacl 0,85-0,9%

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

c. Pembuatan spesimen gel lidah buaya



d. Uji sterilisasi spesimen

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

e. Uji Daya Hambat

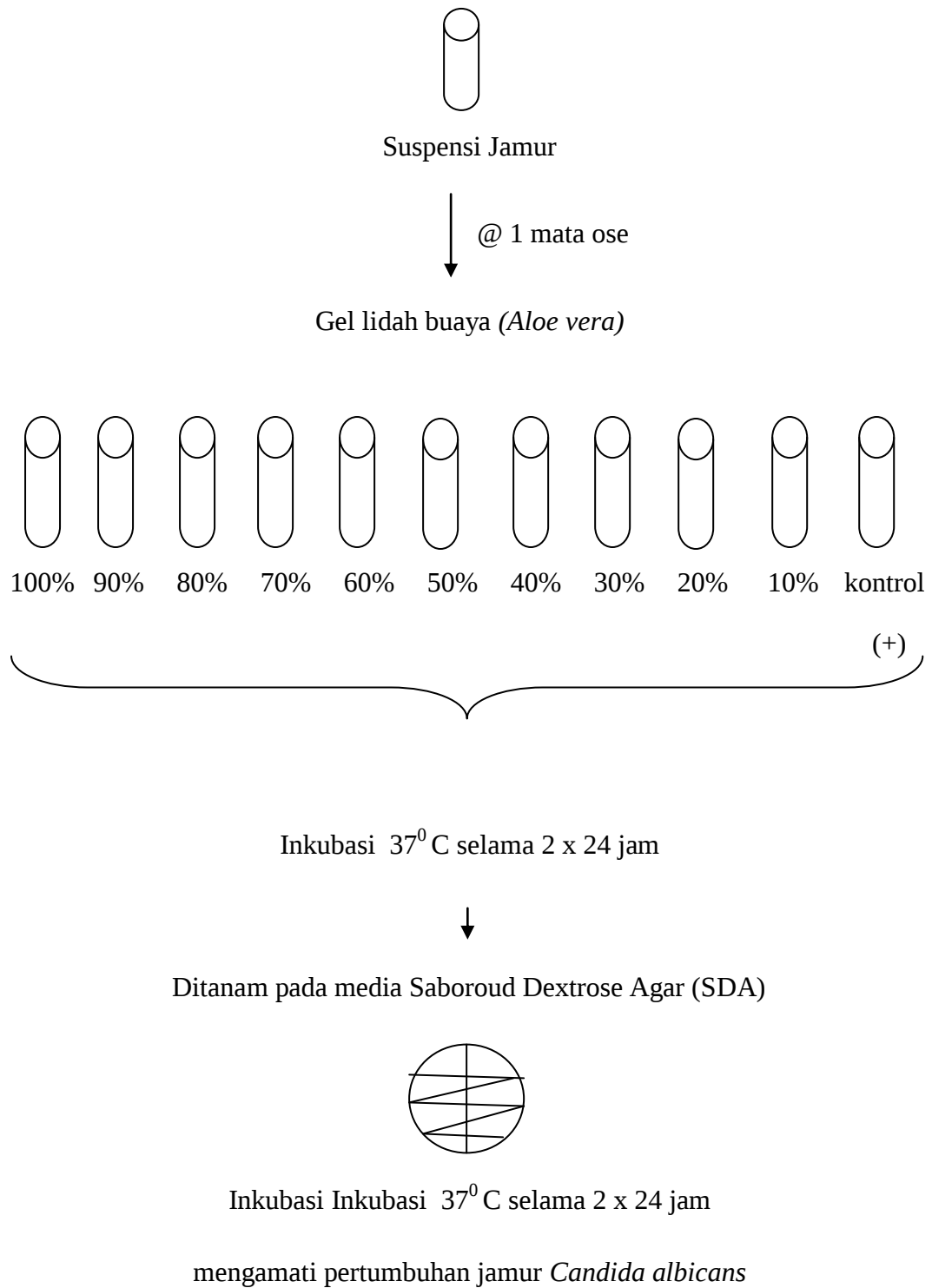
1. Menyiapkan 33 tabung reaksi steril

2. Membuat konsentrasi gel lidah buaya dan kontrol :

- a) Konsentrasi 100 % = di ambil 1 ml gel lidah buaya.
- b) Konsentrasi 90 % = di ambil 0,9 ml gel lidah buaya dari konsentrasi 100 % dan ditambah 0,1 ml aquadest steril.
- c) Konsentrasi 80 % = diambil 0,8 ml gel lidah buaya dari konsentrasi 100 % dan ditambah 0,2 ml aquadest steril.
- d) Konsentrasi 70 % = di ambil 0,7 ml gel lidah buaya dari konsentrasi 100 % dan ditambah 0,3 ml aquadest steril.
- e) Konsentrasi 60 % = di ambil 0,6 ml gel lidah buaya dari konsentrasi 100 % dan ditambah 0,4 ml aquadest steril.
- f) Konsentrasi 50 % = di ambil 0,5 ml gel lidah buaya dari konsentrasi 100 % dan ditambah 0,5 ml aquadest steril.
- g) Konsentrasi 40 % = di ambil 0,4 ml gel lidah buaya dari konsentrasi 100 % dan ditambah 0,6 ml aquadest steril.
- h) Konsentrasi 30 % = di ambil 0,3 ml gel lidah buaya dari konsentrasi 100 % dan ditambah 0,7 ml aquadest steril.

- i) Konsentrasi 20 % = diambil 0,2 ml gel lidah buaya dari konsentrasi 100 % dan ditambah 0,8 ml aquadest steril.
 - j) Konsentrasi 10 % = di ambil 0,1 ml gel lidah buaya dari konsentrasi 100 % dan ditambah 0,9 ml aquadest steril.
3. Mencampur masing-masing konsentrasi gel lidah buaya 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 positif 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. Inkubasi 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.

Skema kerja :



3.5.4 Interpretasi Hasil

Konsetrasi terendah pada biakan yang ditanam pada media *Sabouroud Dextrose Agar (SDA)* dan masih dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* merupakan Kadar Daya Hambat Minimal gel lidah buaya terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

3.6 Tabulasi Data

Penetapan hasil akhir diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium daya hambat gel lidah buaya terhadap pertumbuhan jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang dimasukkan kedalam tabulasi data sebagai berikut :

Tabel 3.1 Hasil Penelitian Pengaruh Gel Lidah Buaya (*Aloe vera*) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*

Pengula ngan	Jumlah Koloni Jamur <i>Candida albicans</i> yang tumbuh pada media Sabouroud Dextrose Agar (SDA)										
	100%	90%	80%	70%	60%	50%	40%	30%	20%	10%	Kontrol (+)
1											
2											
3											
Jumlah											
Rata-rata											

3.7 Metode Analisa Data

Setelah diperoleh data untuk mengetahui ada tidaknya penagruh konsentrasi gel lidah buaya terhadap daya hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*, maka data kemudian dianalisis dengan menggunakan uji Analisis Varians (Anova) dengan taraf kesalahan 5% .