

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Metode penelitian yang digunakan untuk penelitian ini adalah *True Experiment Design* dengan rancangan *post-test only control group design*.

Penelitian ini menggunakan metode uji dilusi.

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini bertempat di Laboratorium Biomedik FK UMM pada tanggal 7-27 juli 2023.

4.3 Populasi dan Sampel Penelitian

4.3.1 Populasi

Populasi penelitian adalah jamur *Trichophyton rubrum* yang didapatkan dari Laboratorium Biomedik FK UMM.

4.3.2 Sampel

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan jamur *Trichophyton rubrum* yang sampelnya ditentukan menggunakan metode *Simple Random Sampling*.

1. Jumlah Replikasi

Pada penelitian ini kelompok perlakuan yang digunakan terdiri dari 6 kelompok perlakuan yang diberikan dari ekstrak jahe merah dengan konsentrasi (100%; 80%; 60%; 40%; 20%; 0%) sehingga didapatkan t=6 maka didapatkan jumlah replikasi yang dibutuhkan:

t = jumlah perlakuan

n = jumlah replikasi

$$(n-1) (6-1) \geq 15$$

$$(n-1) (6-1) \geq 15$$

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n = 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan dengan rumus Federer, didapatkan jumlah preplikasi yang digunakan untuk tiap kelompok adalah 4 kali.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel bebas

Penelitian ini menggunakan ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) sebagai variabel bebas dengan konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% (Azizah & Artanti, 2021).

4.4.2 Variabel terikat

Dalam penelitian ini variabel terikatnya adalah pertumbuhan *Trichophyton rubrum*.

4.5 Definisi Operasional

Tabel 4. 1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Indikator Penilaian	Skala
Variabel Bebas					
1.	Ekstrak jahe merah (<i>Zingiber officinale var rubrum</i>)	Merupakan zat yang dihasilkan dari ekstraksi jahe merah dengan pelarut etanol 96% yang dibuat di Lab. Biomedik FK UMM.	Ekstrak jahe merah diukur dengan mikro pipet sesuai konsentrasi pada tiap-tiap tabung.	Konsentrasi: 1. 100% 2. 80% 3. 60% 4. 40% 5. 20% 6. 0%	Kategorik Ordinal
Variabel Terikat					
1.	Pertumbuhan <i>Trichophyton rubrum</i>	Pertumbuhan <i>Trichophyton rubrum</i> yang dilihat dari tingkat kekeruhan pada setiap tabung yang diujikan (KHM)	Dinilai menggunakan cara pengamatan kualitatif (pengamatan menggunakan indera, tanpa satuan yang baku).	Tingkat kekeruhan dan kejernihan berdasarkan perbandingan yaitu Kontrol negatif. -Sangat Keruh (Garis hitam tidak dapat terlihat sama sekali): ++ -Keruh (Garis hitam terlihat namun samar): + -Jernih (Garis Hitam dapat terlihat dengan jelas): -	Ordinal
		Pertumbuhan <i>Trichophyton rubrum</i> yang dilihat dari jumlah koloni jamur <i>Trichophyton rubrum</i> (KBM)	Dihitung dengan Colony Counter	Jumlah koloni jamur <i>Trichophyton rubrum</i> pada setiap media agar.	Numerik Rasio

4.6 Instrumen Penelitian

4.6.1 Alat dan bahan yang digunakan dalam membuat ekstrak jahe merah

(*Zingiber officinale var rubrum*)

1. Neraca analitik
2. Blender
3. Kain saring
4. Etanol 90%
5. *Water pump*
6. Tabung ekstraktor
7. Pendingin spiral
8. *Aquades*
9. Jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*)
10. Vakum
11. *Evaporator*
12. Labu destilasi

4.6.2 Alat dan bahan pembuatan SDA

1. *Aquades*
2. Cawan petri
3. Erlenmeyer
4. Bahan SDA
5. Minyak zaitun
6. Neraca
7. Autoklaf

8. Antibiotik kloramfenikol

9. *Tween*

4.6.3 Alat dan bahan pembuatan SDB

1. Neraca

2. Aquades

3. Bahan SDB

4. Minyak zaitun

5. Autoklaf

6. Erlenmeyer

7. Antibiotik kloramfenikol

8. *Tween*

9. Cawan petri

4.6.4 Alat dan bahan identifikasi jamur *Trichophyton rubrum*

1. *Object glass*

2. Pewarna LPCB

3. Mikroskop

4. Minyak imersi

5. *Cover glass*

6. Isolat jamur *Trichophyton rubrum*

7. Aquades

8. *Ose*

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Sterilisasi alat

Cara melakukan sterilisasi alat:

1. Cuci seluruh peralatan menggunakan sabun, kemudian keringkan seluruh peralatan dengan tisu.
2. Semua peralatan yang bisa disterilkan dengan autoklaf harus dibungkus dengan kertas selanjutnya dimasukkan kedalam mesin autoklaf dengan tekanan 15 atm pada suhu 121°C dalam waktu kurang lebih sekitar 15 menit. Semua peralatan yang tidak bisa disterilisasi menggunakan autoklaf, disterilisasi menggunakan alkohol 96%

4.7.2 Pembuatan medium SDA

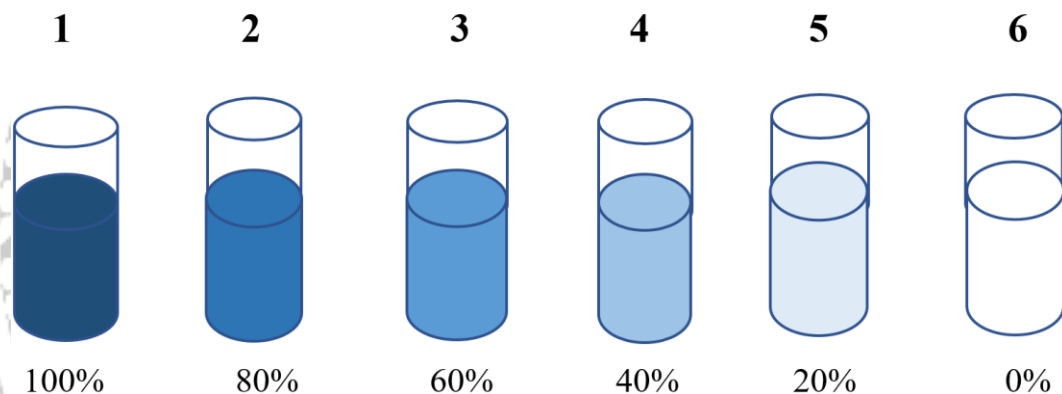
Cara pembuatan SDA:

1. Masukkan aquades sebanyak 600 ml ke dalam bubuk *Sabouraud Dextrose* Agar sebanyak 40 gr.
2. *Tween* dilarutkan menggunakan minyak zaitun. Minyak zaitun dicampurkan dengan larutan *Sabouraud Dextrose* Agar kemudian disterilisasi.
3. *Sabouraud Dextrose* Agar yang sudah disterilisasi dituangkan ke cawan petri sekitar 20 ml.

4.7.3 Pembuatan media SDB

1. Bahan SDB yang telah disiapkan ditimbang sekitar 2 gram, kemudian ditambahkan dengan aquades sekitar 30 ml lalu aduk hingga merata.

2. Minyak zaitun dengan takaran 0,03 ml dicampurkan dengan *tween* sebanyak 0,03 ml kemudian campur hingga rata, kemudian tambahkan campuran bahan *Sabouraud Dextrose Broth* dengan aquades.
3. Bahan-bahan yang sudah bercampur rata direbus, selanjutnya dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada 121°C dalam waktu sekitar 15 menit.
4. *Sabouraud Dextrose Broth* yang telah melalui proses sterilisasi dituang pada tabung reaksi dan ditunggu hingga dingin.



Gambar 4.1 Konsentrasi ekstrak jahe merah pada SDB

4.7.4 Pembuatan perbenihan cair

1. Pembuatan Standart Mc. Farland 0,5 Mencampurkan 0,05 ml BaCl 1% dan 9,95 ml H₂SO₄ 1% kemudian dihomogenkan (Azizah & Artanti, 2021).
2. Pembuatan suspensi jamur, menurut (Azizah & Artanti, 2021) pemuatan suspensi jamur adalah sebagai berikut : NaCL 0,9% steril atau Pz dimasukkan kedalam tabung reaksi steril 5-10 ml.

Kemudian ditambahkan 3-5 koloni *Trichophyton rubrum* yang telah dipermuda 24 jam). Homogenkan dengan alat vortex. Lalu disamakan kekeruhannya dengan Standart Mc. Farland 0,5.

4.7.5 Pembuatan ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*)

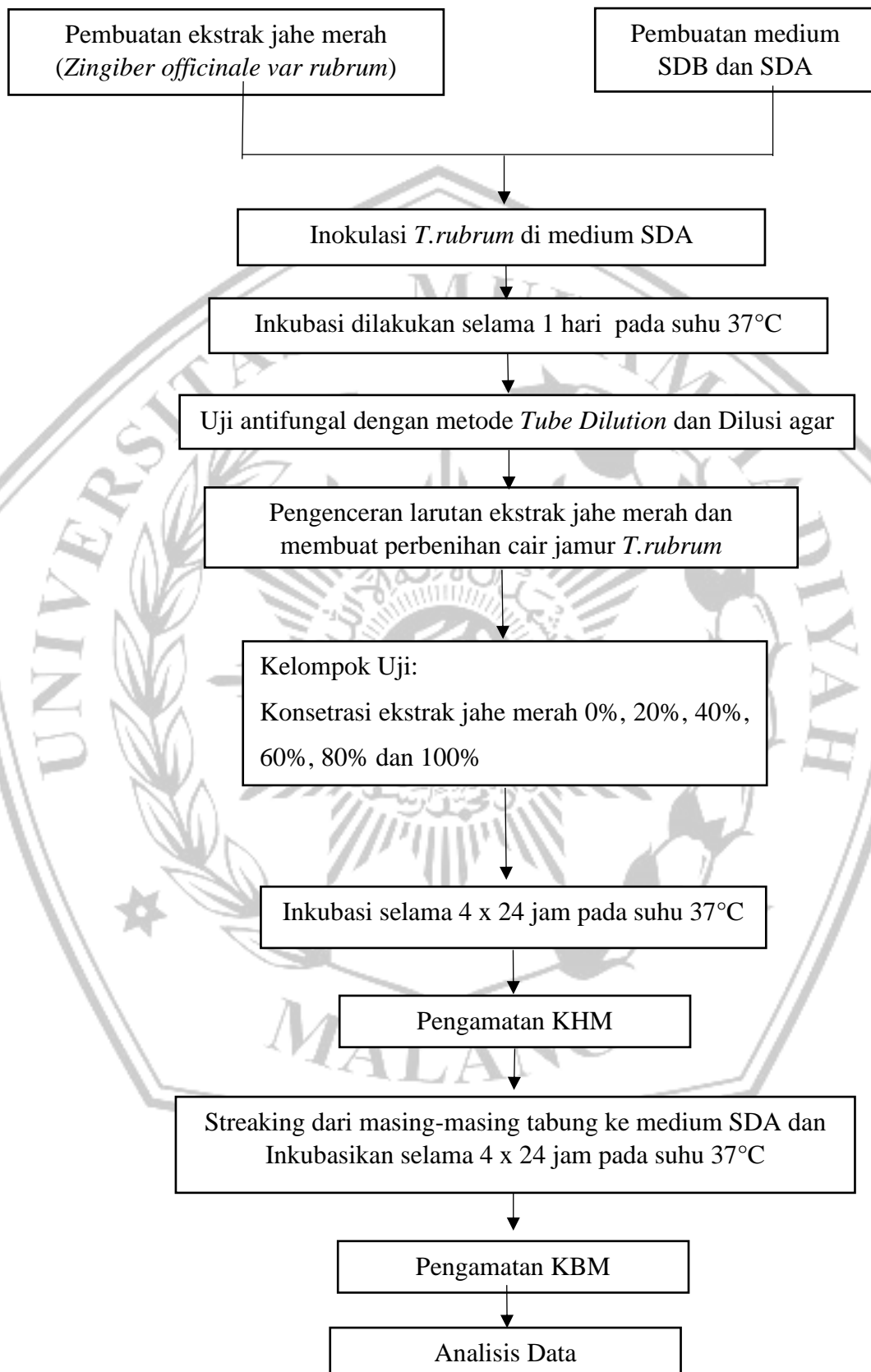
1. Jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*) dengan berat 500 g dicuci hingga bersih.
2. Sampel Jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*) yang telah dicuci hingga bersih, diblender.
3. Ekstraksi kemudian dilakukan menggunakan cara maserasi dengan pelarut berupa etanol 96%. Sari jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*) 500 gram diekstrak dengan menggunakan 1500 ml etanol 96%, ekstrak yang telah di buat ditutup lalu disimpan didalam ruang yang gelap dan dikocok dengan shaker selama 24 jam dengan kecepatan 190-220 rpm.
4. Filtrat yang terbentuk kemudian diambil dan residu dimaserasi kembali dengan 1500 ml etanol 96%.
5. Filtrat dilakukan pengambilan setiap hari selama 3 hari.
6. Filtrat yang telah diambil dimasukkan menjadi satu wadah lalu dilakukan proses pemekatan dan dilakukan penguapan supaya pelarutnya dapat terpisah dengan alat yang disebut rotary evaporator dengan suhu 60°C sampai seluruh pelarut yang digunkana menguap dan diperoleh ekstrak kental dari jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*).

4.7.6 Uji efektivitas kepekaan antimikroba

Metode untuk menguji efektivitas kepekaan antimikroba adalah metode dilusi tabung. Berbagai macam ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) diinokulasi menggunakan perbenihan cair jamur *Trichophyton rubrum* dan diinkubasi dalam suhu 37°C dalam waktu 12-48 jam yaitu: Tabung yang telah diinkubasikan selama 12-48 jam dikeluarkan dari incubator, nilai KHM dengan cara melihat kejernihan dari tabung berdasarkan pembanding kontrol negatif dengan kriteria sangat keruh (++), keruh(+), jernih (-). KBM di siapkan dengan menggunakan metode pengambilan 1 ose dari setiap tabung KHM, kemudian diinokulasikan dalam medium SDA yang telah disiapkan. Tabung diinkubasikan kembali dengan suhu 37°C dalam waktu sekitar 12-48 jam (Azizah & Artanti, 2021).

Medium SDA yang sebelumnya telah diinkubasikan, dikeluarkan dari inkubator lalu diadakan pengamatan dengan cara kuantitatif diseluruh konsentrasi. Nilai KBM diperoleh melalui cara penghitungan jumlah koloni jamur *Trichophyton rubrum* menggunakan dengan *colony counter*. Pengamatannya tersebut dilaksanakan oleh peneliti, selanjutnya dikonfirmasi kepada analis.

4.8 Alur Penelitian



4.9 Analisis Data

4.9.1 Uji Normalitas

Metode uji Saphiro-Wilk digunakan untuk uji normalitas agar dapat menguji kelompok data penelitian apakah ter-distribusi normal ataukah tidak. Data yang didapatkan dinyatakan normal jika hasil $p > 0,05$ dan data yang didapatkan dinyatakan tidak normal jika hasil $p < 0,05$. Data yang tidak normal harus ditransformasikan dahulu, tetapi bila data yang ditransformasikan tetap tidak normal maka pengolahan datanya akan dilakukan dengan uji Kruskal-Wallis serta Post Hoc Mann Whitney.

4.9.2 Uji Beda

Uji homogenitas dilakukan dengan metode uji Levene. Ragam dikatakan homogen bila didapatkan nilai $p > 0,05$ dan ragamnya dinyatakan tidak homogen bila didapatkan nilai $p < 0,05$. Jika hasil data dan ragam adalah homogen, selanjutnya akan dilaksanakan pengujian *One Way ANOVA*. Apabila hasil data dan ragam didapatkan tidak homogen, selanjutnya dilaksanakan *Kruskal Walis* dan dilanjutkan uji *Post Hoc Mann Whitney*.