

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian Eksperimental, yang bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada media alternatif dari pemanfaatan bahan alami yaitu air rebusan ubi cilembu & ubi merah.

3.2 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian true eksperimen (eksperimen sebenarnya) dengan pendekatan Posttest-Only Control Design, dengan menggunakan kelompok penelitian eksperimen (sampel) dan kelompok kontrol. Kelompok eksperimen menggunakan Dalam penelitian ini kelompok eksperimen media alternatif ubi cilembu dan ubi merah 300g & 500g yang ditanamkan pada *Staphylococcus aureus*. Hasil pengamatan ini kemudian dibandingkan dengan hasil pengamatan pada kelompok kontrol yakni Nutrient Agar yang ditanamkan *Staphylococcus aureus*. Penentuan jumlah pengulangan dalam penelitian diketahui berdasarkan **rumus Federer** (Purnamasari, 2017)

$$(t-1)(n-1) \geq 15,$$

Yaitu:

t : Jumlah perlakuan,

n : Jumlah pengulangan,

15 : Derajat bebas untuk RAL (Rancang Acak Lengkap).

Diketahui $t =$ jumlah perlakuan 5 yaitu (ubi cilembu 300g & 500g, ubi merah 300g & 500g, kontrol positif)

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

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19, \text{ maka } n = 5$$

Maka, pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebanyak 4 kali.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh jenis Ubi Cilembu dan Ubi merah.

3.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ubi cilembu dari daerah Sumedang & ubi merah yang dijual di Pasar Cicadas.

3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

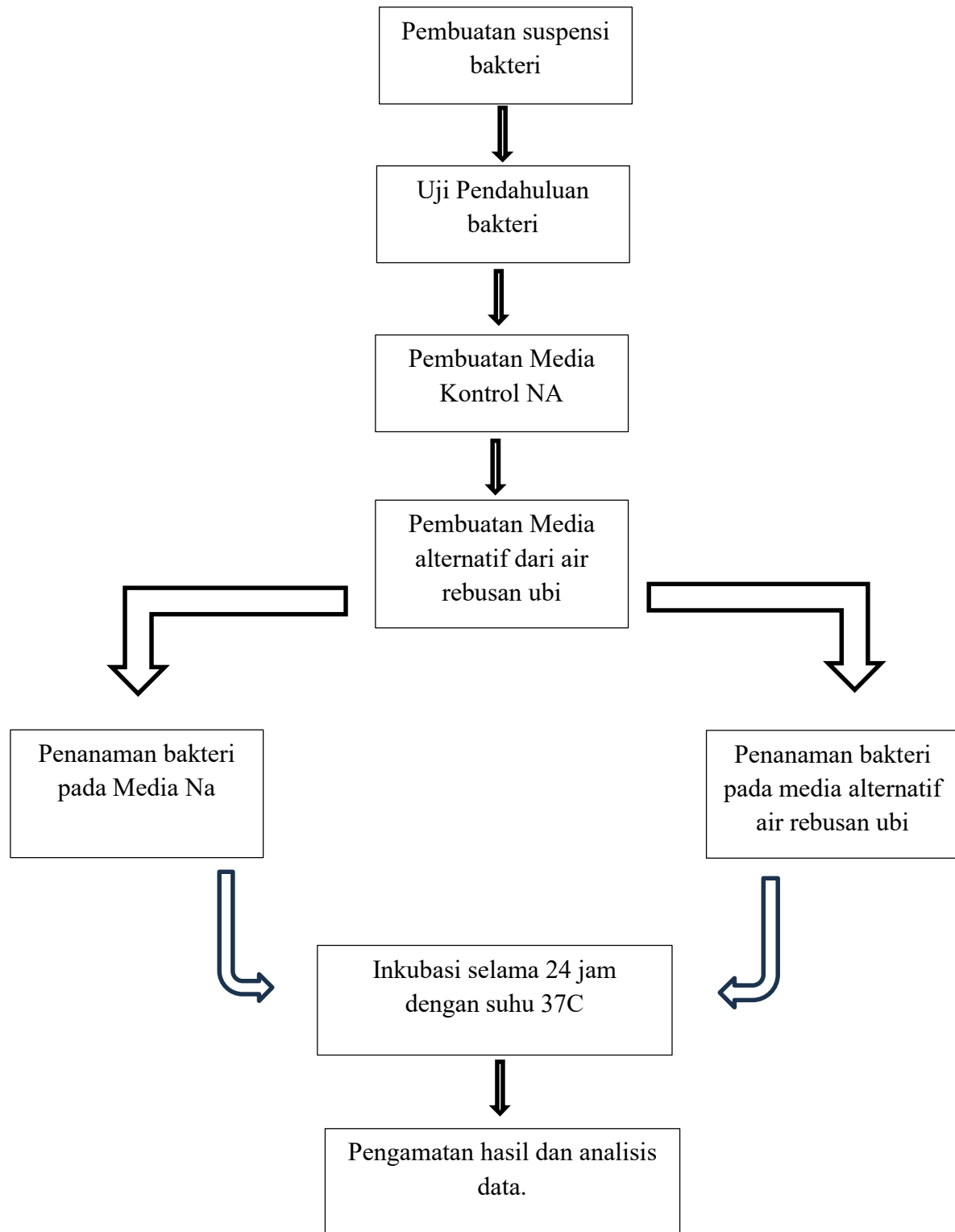
3.4.1 Lokasi Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih Bandung.

3.4.1 Waktu Penelitian

Waktu penelitian yang akan dilaksanakan pada tanggal 15 Januari sampai 12 Februari 2024.

3.5 Alur



3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kompor, pisau, tabung erlemeyer, tabung reaksi, cawan petri, sendok, spuit, autoklaf, oven, inkubator, api bunsen, timbangan analitik, ose.

3.6.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah ubi cilembu dan ubi merah (*Ipomoea batatas*), media Nutrient Agar (NA), biakan *Staphylococcus aureus*, agar swallow, aquades.

3.7 Cara kerja

3.7.1 Pembuatan Suspensi Bakteri

- 1) Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara diambil sebanyak 1 ose bakteri murni bakteri uji
- 2) kemudian disuspensikan dalam larutan NaCl 0,9 % pada tabung reaksi steril dan homogenkan.
- 3) Kekeruhan bakteri ditentukan hingga diperoleh kekeruhan sesuai dengan Mc Farland.

3.7.2 Uji pendahuluan Bakteri

- 1) Disiapkan media Plate Count Agar (PCA) yang akan dipakai sebagai media uji pendahuluan 1,7 gram sebanyak 5 tabung
- 2) Dilakukan pengenceran bertingkat pada sampel bakteri dari hingga 10^{-5}

- 3) Disiapkan cawan petri yang sudah steril diberi kode, lalu sampel bakteri yg sudah di encerkan dimasukan kedalam cawan sesuai dengan kode pengenceran
- 4) Dihomogenkan, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C
- 5) Setelah diinkubasi selama 24 jam masing masing cawan dihitung koloni yang tumbuh.

3.7.3 Pembuatan media Nutrient Agar (NA)

- 1) Ditimbang Media NA (Nutrien agar) 5,6 gram,
- 2) Dilarutkan dalam akuades 200 mL,
- 3) Diaduk hingga homogen dengan menggunakan batang pengaduk ditutup dengan kapas.
- 4) Dipanaskan Media NA hingga jernih.
- 5) Disetrilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media dituang ke dalam cawan petri secara aseptis,
- 6) Dibiarkan dibiarkan di suhu ruangan hingga media memadat.

3.7.4 Pembuatan Media Ubi Cilembu

- 1) Dicuci bersih ubi cilembu
- 2) Dipotong dan ditimbang ubi cilembu dengan berat 300g dan 400g
- 3) Direbus menggunakan 1000 mL akuades pada masing – masing ubi cilembu,
- 4) Ditambahkan agar batang 20 g ke dalam air rebusan ubi cilembu
- 5) Di sterilkan dengan autoclave selama 15 menit suhu 121°C agar terbebas dari mikroba yang tidak diinginkan

3.7.5 Pembuatan Media Ubi Merah

- 1) Dicuci bersih ubi Merah
- 2) Dipotong dan ditimbang ubi merah dengan berat 300g dan 400g
- 3) Direbus menggunakan 1000 mL akuades pada masing – masing ubi merah
- 4) Ditambahkan agar batang 20 g ke dalam air rebusan ubi merah
- 5) Di sterilkan dengan autoclave selama 15 menit suhu 121°C agar terbebas dari mikroba yang tidak diinginkan

3.7.6 Penanaman bakteri dengan metode Angka Lempeng Total (ALT)

- 1) Disiapkan media NA sebagai kontrol dan media alternatif yang telah dibuat dalam beberapa variasi berat
- 2) Diambil sampel *Staphylococcus aureus* pada pengenceran 10^{-5}
- 3) Diinokulasikan pada media dengan metode pour plate
- 4) Diberi kode pada bagian belakang secara berurutan.
- 5) Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C
- 6) Dihitung total jumlah bakteri dengan metode TPC (Total Plate Count) secara langsung.

3.7.7 Perhitungan Koloni

Perhitungan tiap-tiap Petridish dilakukan oleh 2 orang yang memiliki syarat visus mata normal untuk memperkecil kesalahan perhitungan, apabila jumlah koloni yang tumbuh pada Petridish kontrol lebih dari 10, pemeriksaan harus diulang karena sterilisasi dianggap kurang baik. Ideal

jumlah koloni per pleat yang boleh dihitung yaitu antara 30 sampai dengan 300 Colony From Unit (CFU).

3.7.8 Pengolahan dan Analisa Data

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini adalah data primer yang diperoleh dari pemeriksaan Angka Lempeng Total dari media alternatif ubi cilembu dan ubi merah serta media Nutrient Agar, kemudian data ditampilkan dalam bentuk tabel. Setelah itu untuk memperoleh perbedaan jumlah bakteri, data yang diperoleh diolah menggunakan uji statistik yaitu ANOVA untuk melihat adanya perbedaan pertumbuhan bakteri pada setiap media.