

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental. Dalam penelitian eksperimental peneliti sengaja membangkitkan suatu kejadian atau keadaan, kemudian diteliti bagaimana akibatnya. Peneliti ekperimental adalah salah satu cara untuk mencari hubungan sebab akibat antara dua faktor yang sengaja ditimbulkan (Arikunto, 2010).

B. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : Konsentrasi ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendens*).
2. Variabel terikat : Daya hambat ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendens*) terhadap *Candida albicans*.
3. Variabel terkontrol : Suhu dikendalikan pada pertumbuhan *Candida albicans* adalah 37⁰C, pada setiap petri masa inkubasi selama 24 jam, untuk semua konsentrasi menggunakan media SDA (*Saboroud Dextrosa Agar*).

C. Definisi Operasional

1. Ekstrak tanaman sarang semut adalah simplisia sarang semut jenis *Myrmecodia pendens* yang dibeli dipasaran kemudian dilakukan pengestrakan dengan metode soxhletasi.
2. *Candida albicans* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Umum Universitas Gadjah Mada. *Candida albicans* flora normal yang banyak terdapat dalam rongga mulut yang menyebabkan infeksi pada daerah oral manusia.
3. Efektivitas antijamur ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendens*) merupakan kemampuan zat yang terkandung dalam tanaman sarang semut dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* yang ditandai dengan adanya daerah jernih pada media agar. Pengukuran pada media jamur dilakukan dengan mengukur diameter (mm) zona inhibisi ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendens*). Metode yang digunakan dalam pengujian ini menggunakan metode cakram kertas.
4. Zona inhibisi yaitu zona hambat yang ditandai dengan adanya daerah jernih pada medium biakan mikroba.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi penelitian menggunakan simplisia tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) yang diperoleh dari Ijem Herbal, Samirano CT VI No. 272 Sleman Yogyakarta.

2. Sampel yang digunakan adalah ekstrak sarang semut yang diperoleh dari ekstraksi dengan metode soxhletasi 300 g simplisia tanaman sarang semut dan *Candida albicans* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Umum Universitas Gadjah Mada.

E. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Analisis Farmasi STIKES Muhammadiyah Klaten.

2. Waktu

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari - Juni 2016.

F. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah alat penyari terdiri dari alat-alat gelas, seperangkat alat soxhlet, blender, kertas saring, waterbath, timbangan. Sedangkan alat untuk uji daya jamur terdiri dari ose steril atau kapas lidi steril, autoklaf, incubator, cawan petri, pipet tetes, pinset, oven, aluminium foil, penggaris, jangka sorong, sarung tangan dan masker.

Bahan yang digunakan dalam penelitian

1. Bahan soxhletasi : Simplisia tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) yang diperoleh dari Ijem Herbal, Samirono CT VI No. 272 Sleman Yogyakarta.

2. Bahan uji daya antijamur berupa biakan *Candida albicans* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Umum Universitas Gadjah Mada, media SDA (*Sobouraud Dextrosa Agar*), etanol 96%, DMSO 5% dan Cakram kertas.

G. Cara Kerja

1. Ekstraksi dengan cara soxhlet dalam pelarut etanol 96%
 - a. Menghaluskan simplisia tanaman sarang semut dengan menggunakan blender.
 - b. Menyiapkan peralatan soxhletasi.
 - c. Menimbang sejumlah serbuk simplisia tanaman sarang semut sebanyak 300 gram.
 - d. Bungkus serbuk simplisia tanaman sarang semut dengan kertas saring.
 - e. Memasukkan ke dalam alat soxhlet, basahi dengan cairan penyari sebanyak 250 ml etanol 96%.
 - f. Menunggu proses ekstraksi selama 2-3 jam.
 - g. Saring hasil dengan kertas saring.
 - h. Filtrat diuapkan sampai diperoleh ekstrak konsentrasi kental.
2. Uji Mikrobiologi
 - a. Sterilisasi Alat

Cara sterilisasi dengan membungkus alat-alat menggunakan kertas kemudian dimasukkan kedalam oven pada suhu 170⁰C selama 2 jam (Santoso dkk, 2013).

b. Penumbuhan Suspensi Jamur

Pembuatan inokulum jamur diawali dengan pengambilan 1 ose jamur dari biakan murni *Candida albicans* lalu disuspensikan kedalam tabung reaksi yang berisi 5 ml NaCl 0,9% steril dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C (Santoso dkk, 2013).

c. Penyiapan Cakram Kertas

Cakram kertas dibuat dari kertas saring yang dipotong bulat, berdiameter 6 mm, kemudian dimasukkan kedalam cawan petri dan disterilkan dalam autoklav pada suhu 121⁰C selama 15 menit (Santoso dkk, 2013).

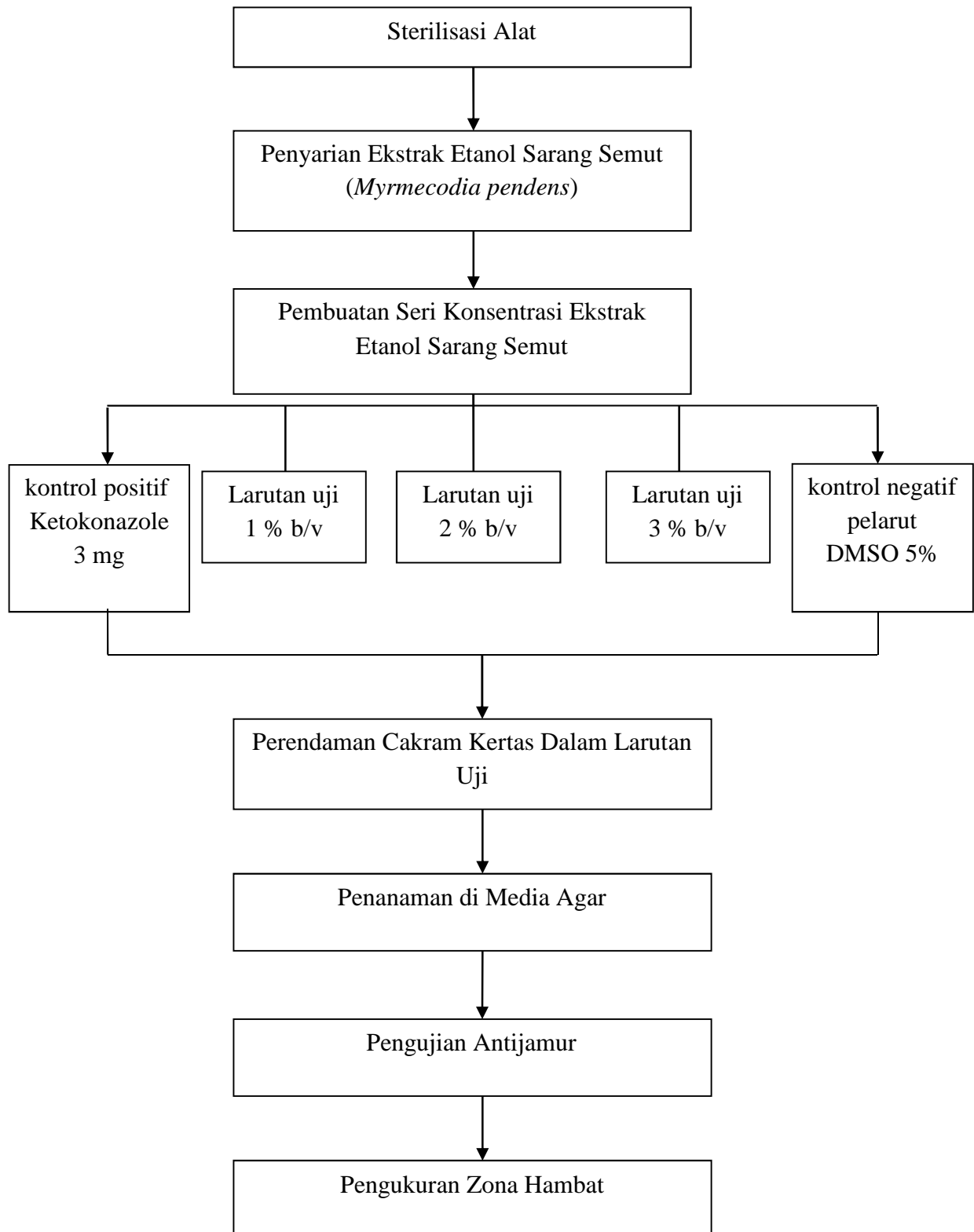
d. Penyiapan Seri Konsentrasi.

Pengenceran bertujuan menghasilkan beberapa konsentrasi ekstrak tanaman sarang semut digunakan untuk Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak tanaman sarang semut yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Candida albicans*. Di dalam percobaan ini dibuat pengenceran sebanyak 3 konsentrasi yaitu : 1%, 2% dan 3%. Dalam proses pengenceran disediakan DMSO 5% sebagai pengencer.

e. Penanaman Jamur

Jamur *Candida albicans* diinokulasi pada media SDA, diambil dengan menggunakan kapas lidi steril yang telah dicelupkan dalam biakan jamur. Kapas lidi digoreskan pada seluruh media secara merata dan biarkan mengering pada suhu kamar (Santoso dkk, 2013).

- f. Tahap pengujian ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendens*) dengan metode cakram kertas sebagai berikut :
- 1) Sebanyak 15 cakram kertas yang telah disiapkan, 9 cakram kertas direndam selama kurang lebih 5 menit dalam ekstrak sarang semut untuk setiap konsentrasi. Untuk konsentrasi 1% sebanyak 3 cakram kertas, 2% sebanyak 3 cakram kertas, 3% sebanyak 3 cakram kertas, ketokonazole 3 cakram kertas dan untuk pelarut DMSO 5% 3 cakram kertas.
 - 2) Cakram kertas yang sudah direndam dengan berbagai konsentrasi, diambil dengan pinset kemudian diletakkan sambil ditekan pada permukaan media SDA yang telah diinokulasi *Candida albicans*. Setiap media SDA diletakkan 3 macam cakram kertas dengan variasi konsentrasi ekstrak sarang semut. Pada kontrol negatif dan positif masing-masing menggunakan SDA tersendiri dengan 3 cakram kertas yg telah direndam dalam pelarut DMSO 5%.
 - 3) Dibiakan dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 24 jam.
 - 4) Zona hambat yang terbentuk diamati pada media SDA yaitu berupa daerah bening di sekitar cakram kertas, setelah diinkubasi selama 24 jam.
 - 5) Pengukuran diameter zona hambat dilakukan untuk setiap konsentrasi ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendens*).



Gambar 3.1. Skema Jalannya Penelitian

I. Metode Pengolahan dan Analisis Data

Metode yang digunakan untuk uji efektivitas antijamur adalah metode difusi dengan menggunakan cakram kertas. Metode ini dilakukan dengan cara menanam jamur pada lempeng agar kemudian diletakkan cakram kertas yang sudah direndam dalam bahan uji, lalu diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam. Analisis data dalam uji efektivitas antijamur adalah dengan cara pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada masing-masing konsentrasi ekstrak sarang semut di media agar. Zona hambat ditandai dengan adanya daerah bening di sekitar cakram. Data rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh selanjutnya diuji secara statistik menggunakan uji *Analysis of Varians* (ANOVA) salah satu jalan dengan taraf kepercayaan 95%. Sebelum melakukan uji statistik ANOVA, data diuji normalitas dan homogenitasnya melalui uji *Kolmogorov Smirov*. Data berdistribusi normal dan homogen jika nilai sig > 0,05. Jika data yang diperoleh berdistribusi normal dan variasinya homogen, maka dilanjutkan dengan uji statistik *One Way ANOVA*, uji ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna atau tidak bermakna antara daya hambat masing-masing konsentrasi ekstrak sarang semut terhadap *Candida albicans*. Data memiliki perbedaan yang bermakna jika nilai sig > 0,05. Untuk mengetahui konsentrasi mana saja yang memiliki perbedaan bermakna atau tidak bermakna maka dapat dilakukan uji *LSD (Least Significance Difference)*. Data memiliki perbedaan bermakna jika nilai sig < 0,05.