

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini tergolong penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian *the post test only control group design*.

4.2 Sampel

Sampel yang diambil berupa bakteri plak. Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus Federer (1963):

$$(t - 1)x(r - 1) \geq 15$$

$$(9 - 1)x(r - 1) \geq 15$$

$$8r - 8 \geq 15$$

$$8r \geq 23$$

$$r \geq 3$$

Keterangan: t = jumlah perlakuan; r = jumlah replikasi

Dalam penelitian ini terdapat 8 perlakuan dan 1 kontrol, maka t=9, sehingga dari perhitungan diatas didapatkan r = 3.

4.2.1 Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan adalah random sampling.

4.3 Variabel Penelitian

a. Variabel bebas

Ekstrak biji kelor yang telah diencerkan dengan pengenceran seri (100%; 50%; 25%, 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%)

b. Variabel terikat

Diameter zona jernih yang terlihat pada media *Mueller Hinton Agar*.

c. Variabel terkontrol

- Peralatan yang digunakan selama penelitian
- Waktu inkubasi
- Suhu
- Cara pengukuran

4.4 Definisi Operasional

- a. Ekstrak biji kelor didapatkan dengan mengupas kulit biji kelor terlebih dahulu lalu diblender sehingga menghasilkan serbuk. Serbuk kemudian ditambahkan dengan metanol diikuti dengan proses maserasi selama 1 jam lalu dipekatkan dengan evaporator.
- b. Metode dilusi adalah metode untuk mengukur daya hambat. Cara yang dilakukan adalah dengan membuat pengenceran serial pada ekstrak pada medium cair. Larutan ekstrak tersebut selanjutnya dikultur pada media padat yang sudah diberi bakteri plak yang sudah diencerkan dengan standar 0,5 McFarland, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Setelah itu ditemukan adanya zona hambat dan tidak adanya zona hambat.
- c. Zona hambat adalah diameter dari ekstrak biji kelor yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri plak dalam media MHA dan diinkubasi

pada suhu 37°C selama 18-24 jam yang ditunjukkan dengan kejernihan pada area di sekitar paper disc yang telah dicelupkan kedalam ekstrak masing-masing konsentrasi dan ditempelkan pada media MHA yang telah diberi bakteri plak.

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

- a. Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Surabaya.
- b. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Waktu yang diperlukan dalam penelitian ini adalah September-November 2014.

4.6 Alat dan Bahan

a. Alat

- Kaca mulut, sonde, pinset
- *Excavator*
- Kawat osse dan mikropipet
- Petri dish
- Spreader
- Gelas ukur
- *Autoclave*
- Brander
- Tabung reaksi dan rak tabung reaksi
- Tabung erlenmeyer
- Inkubator

b. Bahan

- Ekstrak biji kelor
- Sampel bakteri plak
- Media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB)
- Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)
- *Cotton roll*

4.7 Cara Kerja**4.7.1 Pembuatan Ekstrak Biji Kelor**

- a. Biji kelor dicuci bersih dan dikeringkan. Setelah kering dibersihkan dari kulitnya.
- b. Biji kelor diblender sehingga menghasilkan serbuk.
- c. Bubuk biji kelor ditambahkan metanol, dimaserasi selama 1 jam dan direndam selama 24 jam kemudian disaring.
- d. Setelah proses maserasi, terjadi pengendapan bubuk ekstrak. Kemudian dilakukan penyaringan.
- e. Filtrat dipekatkan dengan menggunakan evaporator.
- f. Sehingga nantinya di dapatkan ekstrak pekat tidak mengandung metanol.
- g. Dibuat konsentrasi ekstrak dengan menggunakan akuades steril sebagai pengencer.

4.7.2 Pengambilan Sampel Bakteri Plak

- a. Menyiapkan penderita.
- b. Media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) dipersiapkan.
- c. Daerah pengambilan sampel bakteri plak pada rongga mulut penderita diisolasi dengan menggunakan *cotton roll* steril.

- d. Plak diambil dari daerah servikal atau proksimal gigi penderita menggunakan *excavator*.
- e. Kemudian sampel plak dimasukkan kedalam media BHIB dan diinkubasi selama 1x24 jam.

4.7.3 Penelitian Daya Hambat Ekstrak terhadap Bakteri Plak

Penelitian ini menggunakan uji sensitivitas yaitu dengan perhitungan diameter zona jernih dengan metode difusi cakram. Langkah awal yang harus dilakukan adalah menyiapkan tabung media BHIB yang telah mengandung sampel bakteri plak. Kemudian sampel bakteri plak diencerkan dengan standar 0,5 McFarland dan diinkubasi selama 1x24 jam.

Setelah 1x24 jam sampel bakteri plak diambil dan ditanam pada media *Mueller Hinton Agar*. Kemudian disiapkan 8 tabung untuk pengenceran ekstrak. Ekstrak biji kelor diencerkan menjadi masing-masing konsentrasi (100% - 0,78%) dengan mencampurkan dengan akuades steril dan memasukkan menggunakan mikropipet ke dalam tabung pertama. Setelah homogen, diambil 5 ml dan dimasukkan dalam tabung nomor 2 kemudian dicampur hingga homogen, diambil 5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung nomor 3, begitu seterusnya hingga didapatkan pengenceran serial dari ekstrak biji kelor dengan konsentrasi 100%; 50%; 25%, 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%.

Kemudian pada tiap konsentrasi dicelupkan paper disc dan ditempelkan pada media *Mueller Hinton Agar* yang telah ditanami bakteri plak. Setelah itu media diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

4.8 Cara Pengukuran

Setelah hasil *cross check* keluar maka dilakukan pengukuran diameter zona hambat dari ekstrak biji kelor terhadap pertumbuhan bakteri plak dengan cara mengukur diameter dari zona jernih di sekitar *paper disc*.

4.9 Analisis Data

4.9.1 Uji Normalitas

Uji normalitas data dimaksudkan untuk memperlihatkan bahwa data sampel berasal dari populasi yang berdistribusi normal. Jika normalitas dipenuhi jika hasil uji tidak signifikan ($p > 0,05$) untuk suatu taraf signifikansi ($\alpha = 0,05$). Sebaliknya, jika hasil uji signifikan ($p < 0,05$) maka normalitas tidak terpenuhi.

4.9.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dimaksudkan untuk memperlihatkan bahwa dua atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang memiliki varians yang sama. Jika kehomogenan dipenuhi jika hasil uji tidak signifikan ($p > 0,05$) untuk suatu taraf signifikansi ($\alpha = 0,05$). Sebaliknya, jika hasil uji signifikan ($p < 0,05$) maka kehomogenan tidak terpenuhi.

4.9.3 Uji *One Way ANOVA*

Analisa data yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis parametrik *one-way ANOVA* (*One Way Analysis of Variance*). Uji ANOVA ini merupakan uji parametrik dimana ada dua kelompok perlakuan atau lebih. Bila hasil uji tidak signifikan ($p > 0,05$) untuk suatu taraf signifikansi ($\alpha = 0,05$) maka H_0 ditolak yang berarti tidak cukup bukti untuk menyatakan

mean dari dua atau lebih kelompok metode tidak sama. Sebaliknya, jika hasil uji signifikan ($p < 0,05$) maka H_0 ditolak dan H_1 diterima yang berarti terdapat cukup bukti yang signifikan bahwa mean dari dua atau lebih kelompok metode tidak sama.



4.10 Alur Penelitian

