

BAB 3

PROSEDUR PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Penelitian ini menerapkan metode kuantitatif yang merupakan suatu metode penelitian sistematis sebuah fenomena melalui pengumpulan data yang dapat diukur dengan menggunakan metode komputasi, matematika, atau statistik. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu dengan metode eksperimen. Metode ini bertujuan untuk melihat atau meneliti bagaimana pengaruh dari suatu perlakuan tertentu terhadap gejala atau suatu kelompok tertentu dibanding dengan kelompok lain yang diberi perlakuan yang berbeda (Priadana & Sunarsi, 2021).

3.2 Variabel Penelitian

Secara teoritis, variabel dapat diartikan sebagai atribut atau karakteristik seseorang maupun objek yang berbeda antara satu sama lain. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari :

3.2.1 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat dari bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.2.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*) sebesar 5%, 10%, 15% dan 20%.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi merupakan seluruh objek atau subjek penelitian yang memiliki ciri-ciri tertentu yang akan diteliti dan dijadikan dasar untuk menarik kesimpulan (Suriani et al., 2023). Pada penelitian ini populasinya yaitu merujuk pada tabung reaksi kultur murni bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.3.2 Sampel

Sampel merupakan bagian dari populasi, dimana sampel dipilih dari populasi untuk memperoleh data yang representatif sebagai bahan kajian

penelitian (Lubis, 2018). Pada penelitian ini sampel yang terlibat yaitu subkultur bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.4 Desain Penelitian

Desain penelitian merupakan sebuah rencana terstruktur dari suatu penelitian yang disusun untuk menemukan informasi atau jawaban atas pertanyaan penelitian, mengumpulkan data, dan menganalisisnya. Jenis desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan *Completely Randomized Design* atau Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan yang diberikan yaitu ekstrak kapulaga hijau (5%, 10%, 15% dan 20%) dengan keluaran adalah besar zona hambat pertumbuhan bakteri. Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan karena semua perlakuan dilakukan dalam kondisi lingkungan yang homogen dan terkendali di Laboratorium. Rancangan ini memungkinkan pengacakan yang adil terhadap seluruh satu percobaan, sehingga hasil yang diperoleh lebih objektif dan mudah dianalisis secara statistik (Hidayat, Saputri, & Astriani, 2025). Untuk menghitung banyaknya pengulangan ekstrak kapulaga hijau, berikut merupakan perhitungan rumus pengulangan menurut Gomez (1984) :

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

Keterangan :

t = Perlakuan

r = Pengulangan

15 = Faktor nilai derajat kebebasan umum

Berdasarkan rumus diatas jika jumlah perlakuan (t) = 5 maka jumlah pengulangan dapat diketahui sebagai berikut :

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

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20 \quad r \geq 4$$

Sehingga dalam penelitian ini, menerapkan 4 kali pengulangan pada tiap perlakuan. Proses penentuan perlakuan dilakukan menggunakan Rancangan Acak

Lengkap yang diperoleh melalui *Microsoft Excel*, yang digambarkan dalam (Tabel 3.1) berikut :

Tabel 3. 1 Rancangan Acak Lengkap

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4
P4	P4	P1	P3
P3	P0	P4	P0
P2	P1	P3	P1
P0	P2	P2	P0
P3	P2	P4	P1

Keterangan :

P0 = Pengulangan konsentrasi 0%

P1 = Pengulangan konsentrasi 5%

P2 = Pengulangan konsentrasi 10%

P3 = Pengulangan konsentrasi 15%

P4 = Pengulangan konsentrasi 20%

3.5 Langkah-langkah Penelitian

Pada kegiatan penelitian ini, terdiri dari tiga langkah tahapan yaitu persiapan, pelaksanaan, dan penyelesaian atau akhir.

3.5.1 Tahapan Persiapan

- Melaksanakan pertemuan secara daring bersama tim Dewan Bimbingan Skripsi (DBS) pada tanggal 03 Agustus 2024 untuk membahas penyamaan persepsi dan temu awal;
- Melaksanakan pertemuan secara daring bersama tim Dewan Bimbingan Skripsi (DBS) pada tanggal 22 Agustus 2024 dalam kegiatan sosialisasi Dosen Pembimbing dan Penguji serta membahas alur pengajuan judul hingga pendaftaran sidang skripsi;
- Pada tanggal 27 Agustus 2024 melaksanakan pertemuan pertama bersama dosen pembimbing 1 mengenai pengajuan judul serta teknis pelaksanaan bimbingan;

- d. Pada tanggal 30 September 2024 menerima Surat Keputusan Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Siliwangi mengenai penetapan dosen pembimbing skripsi;
- e. Pada tanggal 13 Februari 2025 judul telah disetujui oleh dosen pembimbing 1 dan pembimbing 2, serta telah disetujui oleh tim Dewan Bimbingan Skripsi (DBS);
- f. Pada bulan Februari sampai dengan bulan Maret menyusun proposal penelitian dengan dibimbing oleh pembimbing 1 dan 2;
- g. Mengajukan permohonan seminar proposal penelitian kepada Dewan Bimbingan Skripsi (DBS);
- h. Melaksanakan seminar proposal penelitian untuk mendapatkan kritik, saran dan perbaikan proposal penelitian;
- i. Mengajukan kembali proposal penelitian yang telah diperbaiki kepada pembimbing 1 dan 2;
- j. Mengurus perizinan untuk melaksanakan penelitian, seperti surat peminjaman laboratorium dan surat peminjaman alat laboratorium untuk melaksanakan penelitian di laboratorium;
- k. Melaksanakan proses penelitian selama $\pm$ 1 bulan dari mulai bulan Juni s.d Juli 2025;
- l. Mengolah data, menyusun pembahasan hasil penelitian, membuat artikel dengan dosen pembimbing;
- m. Mengajukan permohonan seminar hasil penelitian;
- n. Melaksanakan seminar hasil penelitian.

3.5.2 Tahapan Pelaksanaan

Tahap pelaksanaan terdapat tahap persiapan alat, tahap persiapan bahan, dan tahap pelaksanaan dengan prosedur kerja yang digunakan yaitu sebagai berikut.

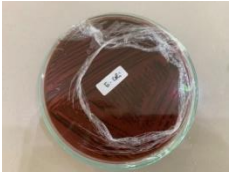
3.5.2.1 Tahap Persiapan Alat dan Bahan

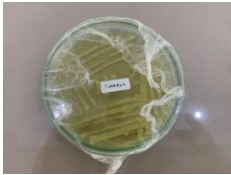
Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan untuk penelitian yang dituliskan pada (Tabel 3.2) berikut:

Tabel 3. 2 Alat dan Bahan Penelitian

No	Alat dan Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
1	Autoklaf	Untuk mensterilisasikan alat dan bahan yang digunakan	1 buah	
2	Inkubator (Mammert)	Untuk menyimpan bakteri yang dibiakan	1 buah	
3	Cawan Petri	Untuk inokulasi biakan bakteri	8 buah	
4	Aluminium foil	Untuk membungkus peralatan yang akan disterilkan	1 roll	
5	Kertas saringan	Untuk menyaring simplisia kapulaga hijau	5 lembar	
6	Pinset	Untuk mengambil <i>paper disc</i>	2 buah	

No	Alat dan Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
7	Bunsen	Untuk mensterilkan ose	1 buah	
8	Jangka sorong	Untuk mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri	1 buah	
9	Jarum ose	Untuk mengambil suspensi bakteri	2 buah	
10	Timbangan analitik	Untuk menimbang bahan yang akan digunakan dalam praktikum	1 buah	
11	Aquades steril	Untuk melarutkan media NA	500 mL	
12	Gelas Breaker	Sebagai tempat/wadah untuk pelarutan media NA	1 buah	

No	Alat dan Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
13	<i>Paper disc</i>	Sebagai wadah atau media penyerap zat antibakteri	40 buah	
14	Etanol 96%	Bahan untuk maserasi	1000 mL	
15	Media NA (<i>Nutrient Agar</i>)	Media yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangkan bakteri	7 gram	
16	<i>Rotary Evaporator</i>	Untuk membuat ekstrak kapulaga hijau	1 buah	
17	<i>Magnetic stirrer</i>	Untuk menghomogenkan suspensi sampel	1 buah	
18	Bakteri <i>Escherichia coli</i>	Bahan yang akan diujikan	1 cawan	

No	Alat dan Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
19	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Bahan yang akan diujikan	1 cawan	
20	Buah Kapulaga Hijau	Bahan yang akan diujikan	100 gram	
21	Plastik wrap	Untuk membungkus/melapisi cawan petri	1 roll	
22	Corong (funnel)	Untuk membantu memindahkan larutan ekstrak	1 buah	
23	Kapas	Untuk menutup mulut tabung reaksi	1 bungkus	
24	Gelas ukur	Untuk mengukur larutan yang digunakan dalam penelitian	1 buah	
25	Labu Erlenmeyer	Untuk menyimpan larutan homogen ekstrak.	4 buah	

No	Alat dan Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
26	Tabung reaksi	Untuk pengenceran bakteri	2 buah	
27	Botol kaca gelap	Untuk menyimpan ekstrak yang telah disaring	1 buah	
28	Kertas coklat	Untuk membungkus alat yang akan disterilkan	1 lembar	
29	Tissue	Untuk membersihkan permukaan alat atau media kerja	1 pak	
30	Plastik tahan panas	Untuk sterilisasi alat	1 pak	
31	Label	Untuk memberi nama	1 pak	
32	Sarung tangan karet	Untuk melindungi dan menjaga agar tidak terjadi	1 pak	

No	Alat dan Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
		kontaminasi		
33	Karet	Sebagai pengikat bungkusan alat atau bahan yang akan disterilisasi.	10 buah	
34	Alkohol 70%	Untuk membunuh dan membersihkan alat atau media	1 botol	
35	Gunting	Untuk memotong	1 buah	
36	Saringan	Untuk menyaring simplisa kapulaga	1 buah	
37	Baki plastic	Untuk menampung simplisa yang sudah disaring	1 buah	
38	Blender	Untuk menghaluskan simplisa	1 buah	
39	Thermoshake	Untuk menghomogenkan larutan	1 buah	

No	Alat dan Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
40	Spreader	Untuk meratakan suspensi bakteri pada permukaan media	1 buah	
41	Mikropipet	Untuk mengambil suspensi bakteri	1 buah	
42	NaCl 0,9%	Untuk pengenceran suspensi bakteri	100 mL	

3.5.2.2 Prosedur Kerja

A) Sterilisasi Alat

Sterilisasi merupakan proses atau kegiatan membebaskan alat atau benda dari semua mikroorganisme. Maka dari itu untuk menghindari kontaminasi oleh mikroorganisme, peralatan yang akan digunakan dalam penelitian harus disterilkan terlebih dahulu. Berikut ini merupakan tahapan proses sterilisasi yang akan dilakukan :

- Mencuci semua peralatan yang terbuat dari kaca dengan menggunakan sabun dan dibilas air mengalir sampai bersih, kemudian dikeringkan (Gambar 3.1 a);
- Setelah peralatan kering, kemudian membungkus alat dengan menggunakan aluminium foil atau kertas sampul coklat, dan menggunakan plastik tahan panas (Gambar 3.1 b);
- Setelah dibungkus, semua peralatan yang akan digunakan dimasukkan kedalam autoklaf untuk di sterilisasi dengan suhu 121°C, tekanan 2 atm selama 15 menit (Gambar 3.1 c);

- d. Setelah selesai, mematikan pemanas dan tunggu hingga tekanan 0 atm;
- e. Mengeluarkan peralatan yang telah disterilisasi dari autoklaf;
- f. Alat telah siap untuk digunakan.



(a)

(b)

(c)

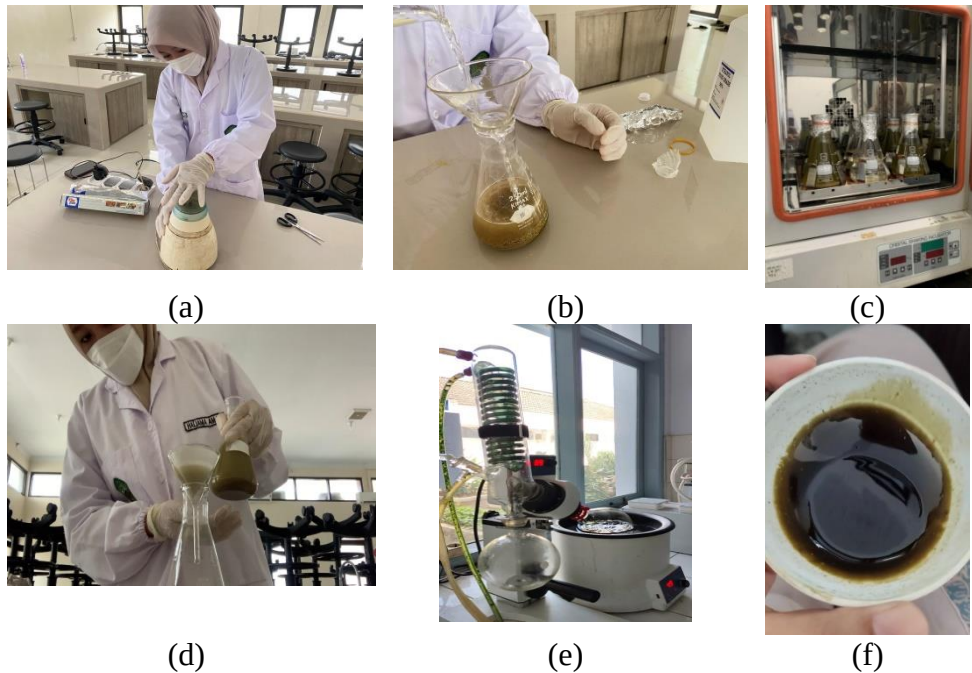
Gambar 3. 1 Proses Sterilisasi Alat (a) Mencuci alat dengan sabun, (b) Membungkus alat dengan kertas coklat, (c) Sterilisasi alat menggunakan autoklaf

Sumber : Dokumentasi Pribadi

B) Pembuatan ekstrak kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*)

Berikut merupakan tahapan pembuatan ekstrak kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*) :

- a. Menghancurkan buah kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*) yang telah kering hingga menjadi bubuk halus (Gambar 3.2 a);
- b. Menyaring simplisia kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*) menggunakan saringan;
- c. Memindahkan simplisia yang telah halus ke tabung Erlenmeyer lalu tambahkan pelarut etanol 96% (Gambar 3.2 b) dan simpan selama 24 jam di orbital shaking inkubator (Gambar 3.2 c);
- d. Menyaring larutan hasil ekstraksi menggunakan kertas saring atau sentrifugasi untuk memisahkan residu padatan (Gambar 3.2 d);
- e. Memindahkan hasil saringan ke evaporator (Gambar 3.2 e);
- f. Memindahkan cairan yang sudah pekat ke dalam botol kaca yang telah disterilkan;
- g. Simplisia/bahan siap untuk digunakan (Gambar 3.2 f).



Gambar 3. 2 Pembuatan ekstrak kapulaga hijau (a) menghaluskan simplisia, (b) mencampurkan simplisia dengan pelarut, (c) Homogenisasi, (d)Penyaringan filtrat, (e) Evaporasi, (f) hasil ekstrak kental kapulaga hijau

Sumber : Dokumentasi Pribadi

C) Uji hambat bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*

Tahapan pengujian bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan melalui proses sebagai berikut :

1) Membuat Media NA (*Nutrient Agar*)

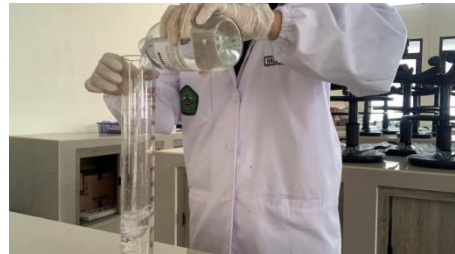
Berikut merupakan tahapan pembuatan media *Nutrient Agar* :

- a. Menimbang media NA (Oxoid) sebanyak 7,5 gram (Gambar 3.3 a);
- b. Memasukan serbuk media NA ke dalam erlenmeyer;
- c. Menambahkan aquades sebanyak 330 ml (Gambar 3.3 b) dan aduk sampai merata dengan menggunakan batang pengaduk;
- d. Memanaskan campuran NA dengan menggunakan *magnetic stirrer*/elemen pemanas sampai media tercampur homogen (Gambar 3.3 c);
- g. Mensterilkan media NA tersebut menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit;

- e. Setelah disterilkan, menuangkan larutan NA ke dalam cawan petri, kemudian membungkusnya menggunakan plastic wrap (Gambar 3.3 d);
- f. Menyimpan media NA ke dalam inkubator agar media NA memadat dan siap untuk digunakan.



(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 3. 3 Pembuatan media NA (a) Menimbang NA, (b) Mencampurkan NA dengan Aquades steril, (c) Melarutkan/homogenisasi NA, (d) Menuangkan media NA kedalam cawan petri

Sumber : Dokumentasi Pribadi

2) Inokulasi bakteri uji

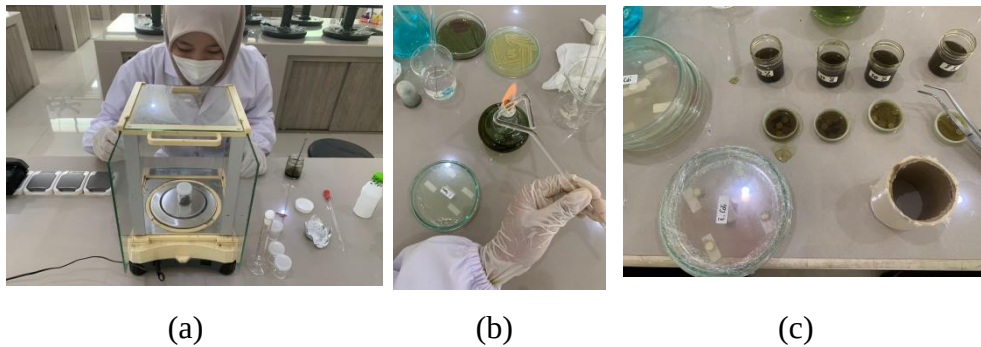
Dengan menggunakan jarum ose, ambil bakteri dan inokulasikan ke dalam cawan petri berisi media NA secara merata di atas permukaan media secara spread plate dan biarkan sampai permukaan agar mengering (Gambar 3.4 b). Kemudian inkubasikan secara terbalik selama 24 jam.

3) Pengujian secara difusi cakram

Berikut merupakan tahapan pengujian secara difusi cakram :

- a. *Paper disk* dicelupkan ke dalam wadah yang berisi ekstrak kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*), kemudian diletakkan secara simetris di atas cawan petri dengan jumlah 4 kertas cakram. Larutan uji yang digunakan adalah ekstrak kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*) dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, serta kontrol (Gambar 3.4 a);

- b. Setiap *paper disk* diinokulasi dengan jarak tertentu secara teratur, untuk menghindari adanya overlapping zona hambat (Gambar 3.4 c);
- c. Memberi label pada setiap *paper disk* dan pada dasar cawan petri. Lakukan inkubasi selama 24 jam;
- d. Setelah inkubasi selama 24 jam, perhatikan area keruh dan jernih di sekitar *paper disk* dengan jangka sorong atau penggaris.



Gambar 3. 4 Uji ekstrak kapulaga hijau terhadap bakteri (a) Melakukan pelarutan ekstrak, (b) Inokulasi bakteri, (c) Melakukan metode difusi cakram

Sumber : Dokumentasi Pribadi

3.5.3 Tahapan Penyelesaian

- a. Melakukan pengolahan dan analisis data terkait hasil penelitian mengenai efektivitas antibakteri ekstrak kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*.
- b. Menyusun hasil penelitian dan dikonsultasikan dengan pembimbing 1 dan pembimbing 2.
- c. Melaksanakan seminar hasil penelitian.
- d. Melaksanakan sidang skripsi.

3.6 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan metode observasi, yang merupakan suatu metode di mana data diperoleh melalui pengamatan dan pencatatan yang dilakukan secara sistematis terhadap suatu gejala yang muncul pada objek penelitian (Lubis, 2018). Objek yang diamati pada penelitian ini yaitu diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus* yang terdapat pada media.

Berbagai konsentrasi ekstrak kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*) digunakan yaitu 5%, 10%, 15%, 20% dan kelompok kontrol.

3.7 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian atau instrumen pengumpulan data merupakan alat bantu yang dipilih dan digunakan oleh peneliti dalam kegiatan pengumpulan data agar kegiatan tersebut menjadi sistematis dan dipermudah olehnya. Berikut (Tabel 3.3) merupakan instrumen yang digunakan dalam penelitian :

Tabel 3. 3 Instrumen Uji Daya Hambat Ekstrak

Konsentrasi	Ulangan				Total Diameter Zona Hambat (mm)
	1 (mm)	2 (mm)	3 (mm)	4 (mm)	
0% (Kontrol)					
5%					
10%					
15%					
20%					

3.8 Teknik Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian yang telah dilakukan, yaitu data primer berupa hasil pengukuran diameter zona hambat dari pengaruh ekstrak Kapulaga Hijau (*Elettaria cardamomum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Data tersebut akan dianalisis melalui aplikasi SPSS versi 25. Berikut merupakan langkah-langkah yang akan digunakan untuk mengolah dan menganalisis data :

3.8.1 Uji Prasyarat Analisis

a) Uji Normalitas

Uji normalitas merupakan uji yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah hasil penelitian yang telah dilakukan berdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu Uji Shapiro-Wilk.

3.8.2 Uji Hipotesis

Uji hipotesis pada penelitian ini menggunakan uji non-parametrik yaitu uji Kruskal-Wallis karena data tidak berdistribusi normal. Tujuan dari uji ini adalah untuk membandingkan setiap perlakuan dengan kelompok kontrol.

3.8.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Dasar Universitas Siliwangi yang beralamat di Jl. Siliwangi No.24, Kahuripan, Kec. Tawang, Kab. Tasikmalaya, Jawa Barat untuk menguji efektivitas antibakteri *Escherichia coli*. Sedangkan untuk menguji efektivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan pembuatan ekstrak kapulaga hijau (*Elettaria cardamomum*) dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia Universitas BTH Tasikmalaya.

Tabel 3. 4 Jadwal Rencana Penelitian

No	Kegiatan Penelitian	2024				2025											
		8	9	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Bimbingan perdana bersama dosen pembimbing I dan II																
2	Konsultasi topik bersama dosen pembimbing I																
3	Konsultasi topik bersama dosen pembimbing II																
4	Penetapan topik bersama dosen pembimbing I dan dosen pembimbing II																
5	Pengajuan topik penelitian ke Dewan Bimbingan Skripsi																
6	Menerima Surat Keputusan Pembimbing																
7	Menyusun proposal penelitian																
8	Mengajukan permohonan seminar proposal ke DBS																
9	Melaksanakan ujian proposal																
10	Revisi ujian seminar proposal																
11	Mengajukan surat permohonan izin penelitian																
12	Mulai melaksanakan penelitian																
13	Menganalisis dan mengolah data yang telah didapatkan																

No	Kegiatan Penelitian	2024				2025											
		8	9	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
14	Daftar ujian seminar hasil																
15	Revisi ujian seminar hasil																
16	Daftar ujian skripsi																
17	Melaksanakan ujian skripsi																
18	Revisi ujian skripsi																