

BAB 3 PROSEDUR PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Metode penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif karena data yang diperoleh berupa angka dan dianalisis secara statistik. Menurut Sugiyono (2020), penelitian kuantitatif berlandaskan positivisme, meneliti populasi atau sampel tertentu dengan instrumen terukur, dan hasilnya dianalisis secara statistik. Hal ini sejalan dengan Creswell (2018) yang menyatakan bahwa penelitian kuantitatif bertujuan menguji teori objektif melalui pengukuran variabel dan analisis dengan prosedur ketat. Metode yang digunakan adalah eksperimen (*true experimental research*) dengan desain rancangan acak lengkap (RAL).

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas (Independent variable)

Variabel bebas (*independent variable*) yaitu konsentrasi air sadapan batang *W. compacta* (25%, 50%, 75%, dan 100%), yang ditetapkan berdasarkan modifikasi dari penelitian terdahulu mengenai uji aktivitas antifungal ekstrak tanaman Zingiberaceae, di mana variasi konsentrasi bertingkat digunakan untuk mengamati hubungan antara peningkatan konsentrasi bahan aktif dengan daya hambat mikrobial (Khusnul *et al.*, 2019; Khusnul & Indri, 2019). Rentang 25–100% juga dipilih untuk memastikan cakupan dari konsentrasi rendah hingga konsentrasi murni guna menentukan titik efektivitas optimal terhadap *C. albicans*.

3.2.2 Variabel Terikat (*dependent variable*)

Variabel terikat (*dependent variable*) berupa pertumbuhan koloni *C. albicans* yang diukur berdasarkan diameter zona hambat pertumbuhan (mm).

3.2.3 Variabel Kontrol (*control variable*)

Variabel kontrol (*control variables*) berupa aquades (kontrol negatif) dan obat azole (kontrol positif, sebagai obat lini pertama antifungal).

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah kultur murni jamur *C. albicans* (ATCC, 14053) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.

3.3.2 Sampel

Sampel penelitian berupa subkultur *C. albicans* pada cawan petri yang ditentukan dengan teknik sampling jenuh. Setiap perlakuan dilakukan dalam tiga kali replikasi untuk menjamin keandalan hasil penelitian.

3.4 Desain Penelitian

Desain penelitian adalah suatu kerangka sederhana yang menggambarkan pola hubungan antar variabel penelitian atau langkah-langkah yang diambil oleh peneliti untuk mengatasi masalah penelitian. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen murni (*true experimental research*) dengan menerapkan rancangan acak lengkap (RAL). Rancangan ini dipilih karena semua unit percobaan dianggap homogen sehingga perlakuan dapat dibagi secara acak.

Metode ini memungkinkan penelitian untuk mengontrol variabel-variabel yang mempengaruhi hasil penelitian, sehingga dapat memperoleh data yang akurat dan valid. Dalam rancangan acak lengkap, setiap subjek atau unit eksperimen memiliki kesempatan yang sama untuk dipilih dan ditempatkan dalam kelompok perlakuan yang berbeda, sehingga meminimalkan bias dan memastikan bahwa hasil penelitian dapat digeneralisasi.

Penetapan jumlah pengulangan untuk setiap konsentrasi didasarkan pada perhitungan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

t = Perlakuan

r = Pengulangan

15 = Faktor nilai derajat kebebasan umum

Dengan menggunakan rumus diatas, apabila jumlah perlakuan (t) adalah 6, maka jumlah pengulangan dapat dihitung sebagai berikut:

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

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

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$r \geq 20/5$$

$$r \geq 4$$

Sehingga, dalam penelitian ini, setiap konsentrasi diulang sebanyak 4 kali. Penentuan konsentrasi dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang diperoleh dari program Microsoft Excel. Detail lengkapnya dapat dilihat pada tabel 3.1 berikut.

Tabel 3. 1 Rancangan Acak Lengkap

ULANGAN 1	ULANGAN 2	ULANGAN 3	ULANGAN 4
P0	P4	P5	P4
P2	P1	P1	P5
P5	P1	P2	P2
P3	P0	P4	P2
P5	P0	P3	P4
P3	P1	P0	P3

Keterangan:

P0= Kontrol negatif (konsentrasi air sadapan 0%)

P1= Kontrol positif (Konsentrasi obat azole)

P2= Konsentrasi 25%

P3= Konsentrasi 50%

P4= Konsentrasi 75%

P5= Konsentrasi 100%

3.5 Langkah-langkah Penelitian

Secara umum, penelitian ini terdiri dari 2 tahap, yaitu:

3.5.1 Tahap perencanaan atau persiapan, yaitu meliputi:

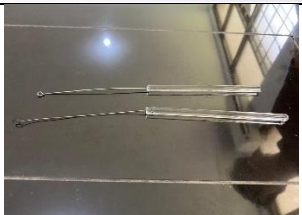
- 1) Tanggal 23 Juli 2025 mendapatkan informasi mengenai penetapan pembimbing skripsi
- 2) Tanggal 08 Agustus 2025 pengajuan judul dan proposal usulan disetujui oleh pembimbing I dan II
- 3) Melakukan bimbingan proposal penelitian dengan pembimbing I dan II pada Agustus – Oktober 2025
- 4) Melaksanakan seminar proposal pada November 2025
- 5) Melaksanakan penyempurnaan proposal penelitian pada November- Desember 2025

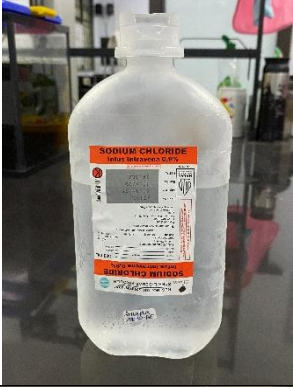
- 6) Melakukan penelitian di Laboratorium jurusan pendidikan biologi FKIP Unsil pada Januari 2026
 - 7) Melakukan pengolahan hasil penelitian pada Januari-Februari 2026
 - 8) Menyusun hasil penelitian dan melakukan bimbingan secara berkala dengan Dosen pembimbing I dan Dosen pembimbing II pada Februari 2026
 - 9) Melaksanakan seminar hasil penelitian pada Februari 2026
 - 10) Melakukan penyempurnaan hasil penelitian pada Februari-Maret 2026.
- a) Tahap pelaksanaan, yang meliputi:
- 1) Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian, alat dan bahan yang dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3.2 Alat dan Bahan

No.	Alat & Bahan	Spesifikasi & Kegunaan	Jumlah	Gambar
1	Autoklave	Autoklave GEA (Untuk mensterilisasikan alat yang akan digunakan)	1 Buah	
2	Inkubator	Memmert (Untuk menyimpan jamur yang dibiakan)	1 Buah	
3	<i>Laminar Air Flow</i> (LAF)	Meja kerja steril untuk inokulasi	1 Buah	
4	Cawan Petri (UK Besar)	Normax (Untuk inokulasi biakan jamur)	5 Buah	

5	Timbangan analitik	Untuk menimbang media, dan bahan lainnya yang digunakan	1 Buah	
6	Pinset	Untuk mengambil paper disc	6 Buah	
7	Magnetic Strirer	D-LAB/ Tipe MX-S (Untuk menghomogenkan suspensi sampel)	1 Buah	
8	Bunsen	Pudak (Untuk mensterilkan jarum ose)	1 Buah	
9	Gelas Kimia 1000 ml	Pyrex (Untuk membuat media pertumbuhan dan mengembangkan jamur)	1 Buah	

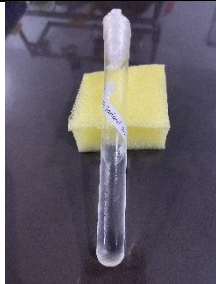
10	Jangka Sorong	Buterfly (Untuk mengukur zona hambat)	1 Buah	
11	Jarum Ose	USBK (Untuk memindahkan biakan jamur ke media baru)	1 Buah	
12	Paper disc	Untuk menguji air sadapan batang kapulaga jawa	35 Buah	
13	Akuades Steril	Akuades UFSA (Bahan untuk membuat konsentrasi)	700 ml	
14	Media SDA	Biokar (Media yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangkan jamur)	30,7 gram/500 ml Akuades	

15	Kultur <i>Candida albicans</i> ATCC 14053	Bahan yang akan diujikan	1 tabung reaksi	
16	Obat azole	Bahan yang akan diuji	10 ml	
17	NaCl Fisiologis 0,9%	Menyiapkan suspensi jamur setara Mc Farland 0,5	20 ml	
18	Tabung reaksi	Menjadi tempat subkultur jamur	3 Buah	

19	Kapas Steril	Penutup Tabung Reaksi	Secukupnya		
20	Alkohol 70%	Sterilisasi Area dan Alat Kecil	Secukupnya		
21	Erlenmeyer 500 ml	Membuat Media	2 Buah		
22	Alumunium Foil	Pembungkus Alat untuk Autoklaf	1 Gulung		
23	Kertas Payung	Pembungkus Alat untuk Autoklaf	1 Gulung		
24	Plastik Tahan Panas	Pembungkus Alat untuk Autoklaf	1 Pack (UK Besar)		

25	Plastik Wrap	Pembungkus Alat	1 Gulung	
26	Karet Gelang	Mengunci Alat pada Plastik	Secukupnya	
27	Gunting		1 Buah	
28	Tisu	Membersihkan dan mengeringkan alat dalam penelitian	1 Pack	
29	Botol	Untuk pengambilan sampel	3 Buah	

30	Mikropipet	Mengambil suspense jamur yang akan ditanam pada media SDA	1 Buah	
31	Spirtus	Isian bunsen	Secukupnya	
32	Korek Api	Menyalakan bunsen	Secukupnya	
33	Label	Memberikan label pada media	Secukupnya	

34	Batang Bengkok	Meratakan suspensi jamur pada media SDA	1 Buah	
35	Batang Pengaduk	Mengaduk media SDA	1 Buah	
36	Kompor	Memanaskan media yang dibuat	1 Buah	
37	Larutan Mc Farland 0,5	Larutan Standar 0,5	10 ml	
38	Pisau	Memotong batang saat proses peyadapan	1 Buah	
39	Patok kayu	Membantu saat merundukan batang kapulaga Jawa	10 Buah	

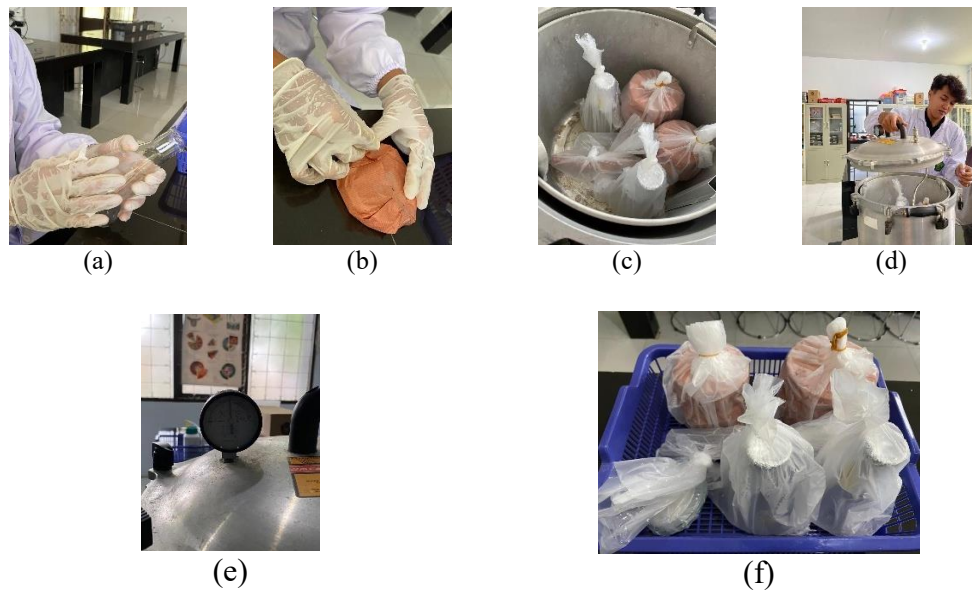
40	Tali rapia	Mengikat batang kapulaga Jawa saat proses penyadapan	3 m			
41	Tip steril	Tip digunakan untuk pengambilan suspensi jamur	8 Buah			
42	Lumpang alu	Menghaluskan obat	1 Buah			

3.5.2 Pelaksanaan penelitian, meliputi;

1) Persiapan Sterilisasi Alat

Semua alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini sebelumnya disteril dalam autoclave. Sterilisasi dalam autoclave dilakukan dalam suhu 121°C selama 15 menit. Berdasarkan buku petunjuk praktikum mikrobiologi prosedur sterilisasi menggunakan autoclave sebagai berikut :

Membersihkan dengan alkohol alat yang akan disterilkan dan dikeringkat dengan tisu (Gambar 3.1a), selanjutnya bungkus semua alat menggunakan kertas payung dan dibungkus menggunakan plastic tahan panas (Gambar 3.1b), lalu masukkan alat dan bahan yang akan disteril kedalam bejana dan pasang pengunci autoclave (Gambar 3.1c), tutup dan nyalakan autoclave serta menutup klep angin dan pertahankan dalam suhu 121°C selama 15 menit (Gambar 3.1d), setelah itu matikan pemanas, biarkan suhu turun dan membuka klep angin agar tekanan udara didalam autoclave turun (Gambar 3.1e), dan buka autoclave saat suhunya tepat pada 0°C (Gambar 3.1f).



Gambar 3.1 Berbagai tahapan ketika melakukan sterilisasi alat dan bahan
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2026

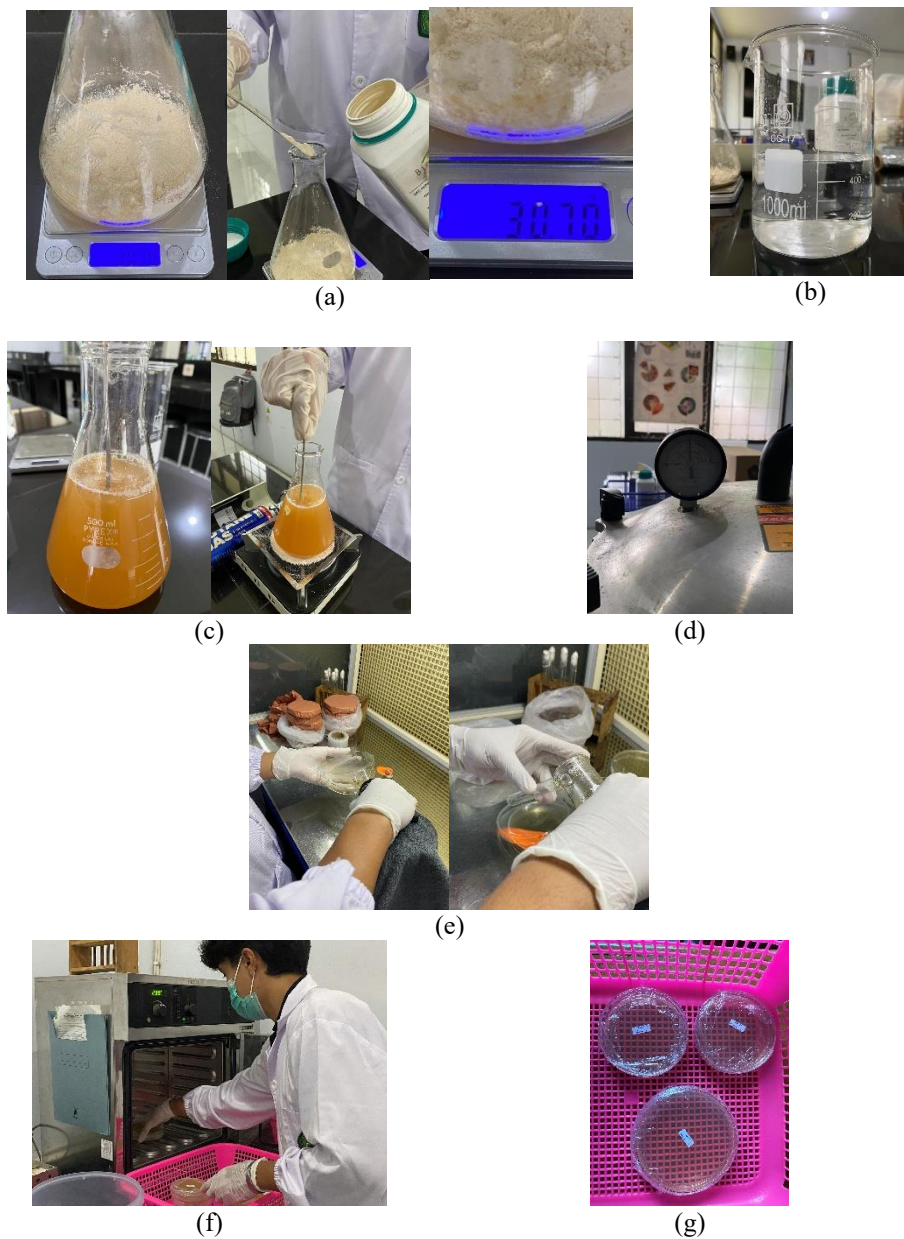
1) Pembuatan Media

a. Alat yang digunakan:

Alat yang digunakan dalam pembuatan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) adalah Erlenmeyer, Gelas Kimia, Timbangan analitik, Pipet, Autoclave, Hotplate dan Cawan Petri.

b. Bahan yang digunakan:

Bahan yang digunakan dalam pembuatan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) adalah Reagen Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Tahapannya meliputi, menimbang terlebih dahulu media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) sebanyak 30,7 gram (Gambar 3.2a), kemudian melarutkan dalam 500 ml akuades (Gambar 3.2b), Diaduk sambil dipanaskan sampai media larut dan didinginkan sampai kurang lebih suhu $+ 25^{\circ}\text{C}$ (Gambar 3.2c), setelah suhu $+ 25^{\circ}\text{C}$, kemudian mensteril media SDA dengan autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit (Gambar 3.2d), setelah mensteril media SDA kemudian menuang media SDA ke cawan petri dan tabung reaksi yang sudah terlebih dahulu disteril (Gambar 3.2e), setelah media dituangkan pada cawan petri dan tabung reaksi, kemudian diinkubasi selama 2×24 jam didalam incubator (Gambar 3.2f). Melakukan pengecekan media setelah diinkubasi (Gambar 3.2g).



Gambar 3.2 Berbagai tahapan ketika melakukan pembuatan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2026

2) Pembuatan Konsentrasi Air Sadapan Batang Kapulaga Jawa (*W. compacta*)

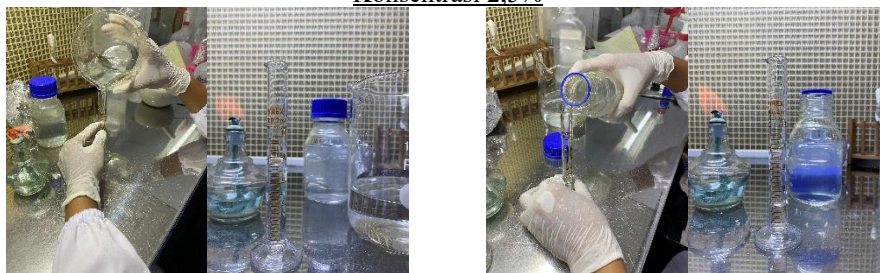
a. Alat yang digunakan:

Alat yang digunakan dalam Pembuatan konsentrasi air sadapan batang Kapulaga Jawa (*W. compacta*) adalah Mikropipet, dan tabung reaksi.

b. Bahan yang digunakan:

Bahan yang digunakan dalam Pembuatan konsentrasi air sadapan batang Kapulaga Jawa (*W. compacta*) adalah air sadapan batang Kapulaga Jawa (*W. compacta*) dan akuades steril. Berikut tahapan konsentrasi air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*) membuat konsentrasi 25% Menuangkan akuades sebanyak 7,5 ml lalu menuangkan juga air sadapan Kapulaga Jawa sebanyak 2,5 ml (Gambar 3.3a), membuat konsentrasi 50% Menuangkan akuades 5 ml dan menuangkan Air sadapan Kapulaga Jawa sebanyak 5 ml (Gambar 3.3b), membuat konsentrasi 75% menuangkan akuades 2,5 ml dan menuangkan Air sadapan Kapulaga Jawa sebanyak 7,5 ml (Gambar 3.3c), membuat konsentrasi 100% Menuangkan Air sadapan Kapulaga Jawa sebanyak 10 ml (Gambar 3.3d), dan membuat control (-) akuades dengan menuangkan 10 ml akuades (Gambar 3.3e), dan membuat kontrol (+)azole menghaluskan obat dengan lumpang, menimbang obat yang sudah halus menggunakan bantuan timbangan analitik, dan menuangkan 8 ml akudes (Gambar 3.3f).

Konsentrasi 2,5%



(a)

Konsentrasi 50%

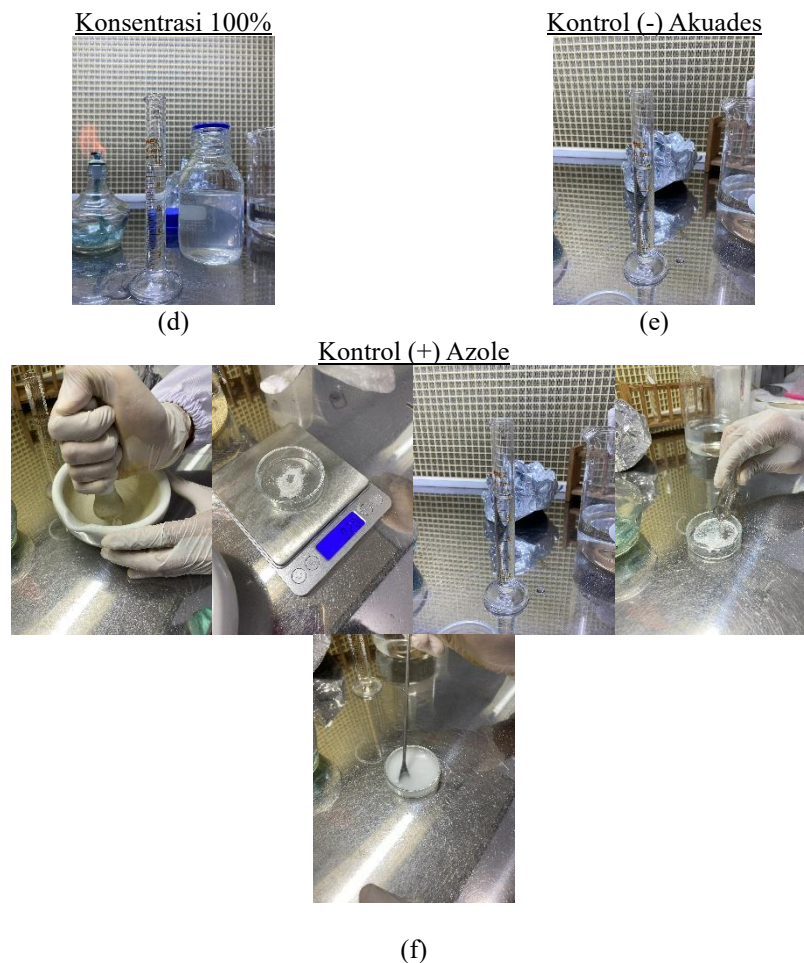


(b)

Konsentrasi 7,5%



(c)



Gambar 3.3 Tahapan pembuatan konsentrasi air sadapan batang kapulaga Jawa (*W. compacta*)

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2026

3) Pembuatan Suspensi Jamur *Candida albicans*

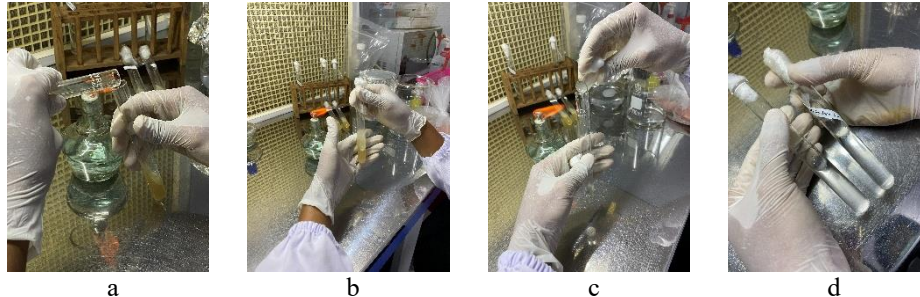
a. Alat yang digunakan:

Alat yang digunakan dalam Pembuatan Suspensi Jamur *C. albicans* adalah tabung reaksi, ose bulat dan pipet.

b. Bahan yang digunakan:

Bahan yang digunakan dalam Pembuatan Suspensi Jamur *C. albicans* adalah Koloni biakan murni jamur *C. albicans* dan PZ steril. Berikut tahapan pembuatan suspensi jamur *C. albicans*. Mengisi tabung reaksi dengan 10 ml PZ steril (Gambar 3.4a), lalu menambahkan 1 mata ose biakan murni Jamur *C. albicans* (Gambar 3.4b), bila suspensi jamur lebih keruh dari standart Mac Farland 0,5 maka ditambah PZ steril (Gambar 3.4c), jika suspensi jamur kekeruhannya kurang dari

standart Mac Farland 0,5 maka ditambah koloni biakan murni jamur *C. albicans* (Gambar 3.4d).



Gambar 3.4 Tahapan pembuatan suspensi jamur *C. albicans*

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2026

4) Penanaman Jamur *C. albicans* pada Media SDA dengan Cara Tebar (*Spread plate methode*)

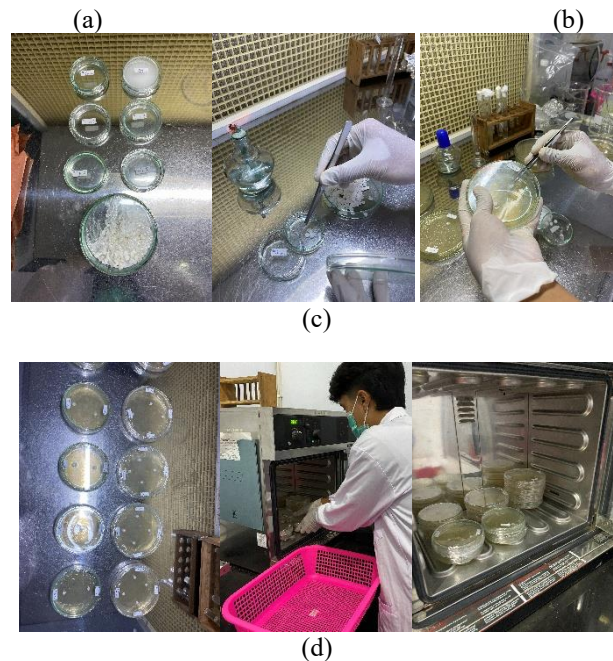
a. Alat yang digunakan:

Alat penanaman jamur *C. albicans* pada Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) adalah Api bunsen, spatula bengkok dan mikropipet.

b. Bahan yang digunakan:

Bahan penanaman jamur *C. albicans* pada Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) adalah Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) suspensi jamur *C. albicans* yang sudah setara dengan standart Mac Farland 0,5. Berikut tahapan penanaman jamur *C. albicans* pada media SDA. Memipet 0,2 ml suspensi jamur *C. albicans* yang sudah setara dengan standart Mac Farland 0,5 dan letakkan di permukaan media SDA (Gambar 3.5a), lalu meratakan suspensi jamur *C. albicans* dengan spatula bengkok dengan cara memutar spatula bengkok di permukaan media SDA (Gambar 3.5b), selanjutnya meletakkan cakram kertas yang sudah mengandung Air Sadapan Batang Kapulaga Jawa (*W. compacta*) 25%, 50 %, 75% dan 100 % diatas permukaan media *Sadaroud Dektrose Agar* (SDA) (Gambar 3.5c), Kemudian diinkubasi dengan inkubator pada suhu 37° C selama 24 jam (Gambar 3.5d).





Gambar 3.5 Tahapan penanaman jamur *C. albicans* pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2026

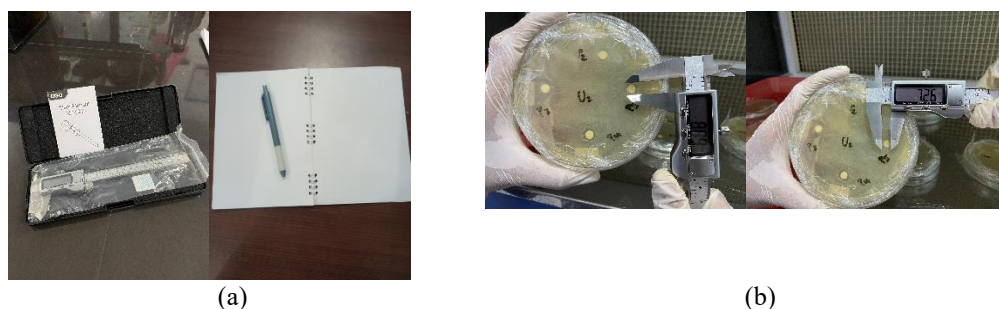
5) Pengukuran Zona Hambat Jamur *C. albicans*

a. Alat yang digunakan:

Alat yang digunakan untuk pengukuran zona hambat jamur *C. albicans* adalah jangka sorong digital dan bolpoin.

b. Bahan yang digunakan:

Bahan yang diukur adalah zona hambat jamur *C. albicans* adalah koloni jamur yang sudah diberi air sadapan batang Kapulaga Jawa (*W. compacta*) 25%, 50%, 75% dan 100%. Berikut tahapan pengukuran zona hambat pertumbuhan jamur *C. albicans*. Siapkan jangka sorong digital, buku catatan dan bolpoin (Gambar 3.6a), mengukur diameter zona hambat jamur *C. albicans* secara horizontal dan vertikal (Gambar 3.6b), lalu menjumlah hasil pengukuran horizontal dan vertikal kemudian dibagi dua sehingga didapat nilai rata – rata dari zona hambat jamur *C. albicans*, serta mencatat hasil pengukuran zona hambat pertumbuhan jamur *C. albicans*.



Gambar 3.6 Tahapan pengukuran zona hambat pertumbuhan jamur *C. albicans*
Sumber: Dokumentasi Peneliti, 2026

3.6 Teknik Pengumpulan Data

Data dikumpulkan dari hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan koloni *C. albicans* di sekitar cakram pada setiap kelompok perlakuan. Zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram diukur dengan diameter vertikal dan diameter horizontal dengan satuan mm menggunakan jangka sorong. Nilai diameter zona hambat diperoleh dari rata-rata hasil pengukuran kedua sumbu tersebut guna meningkatkan akurasi dan meminimalkan kesalahan pengamatan (Balouiri et al., 2016; Toy et al., 2015).

3.7 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian atau instrument pengumpulan data adalah alat bantu yang dipilih dan digunakan oleh peneliti dalam kegiatannya mengumpulkan data agar kegiatan tersebut menjadi sistematis dan dipermudah olehnya. Berikut ini merupakan instrument yang digunakan dalam penelitian.

Tabel 3.3 Instrumen pengumpulan data

Perlakuan (Konsentrasi)	Ulangan 1 (mm)	Ulangan 2 (mm)	Ulangan 3 (mm)	Ulangan 4 (mm)	Rata-rata	Ket
(-) Akuades						
(+) Obat azole						
25%						
50%						
75%						
100%						

3.8 Teknik Pengolahan dan Analisis Data

Setelah mendapatkan data dari penelitian, langkah-langkah analisis data dilakukan dengan menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) sebagai berikut.

3.8.1 Uji Prasyarat Analisis

1) Uji normalitas data

Uji normalitas digunakan untuk menentukan apakah data mengikuti distribusi normal atau tidak. Dalam penelitian ini, Uji *Shapiro-Wilk* digunakan untuk menilai normalitas data. Jika kedua kelompok data berasal dari populasi yang memiliki distribusi normal, maka analisis selanjutnya akan melibatkan uji homogenitas.

2) Uji homogenitas data

Uji homogenitas varians dilakukan untuk menginvestigasi apakah populasi memiliki varians yang serupa atau tidak. Dalam penelitian ini, uji homogenitas varians menggunakan uji *Levene* guna memastikan kesamaan varians antar kelompok perlakuan. Apabila hasilnya kelompok data mempunyai varians yang homogen maka dilanjutkan dengan analisis ANOVA satu jalur. Tetapi apabila sebaliknya maka dilanjutkan dengan uji alternatif Welch's ANOVA. Uji ini merupakan pengembangan dari ANOVA satu jalur yang tidak mensyaratkan kesamaan varians.

3) Uji hipotesis

Uji hipotesis dilakukan setelah memperoleh data hasil uji prasyarat analisis. Pengujian statistik dilakukan melalui ANOVA satu jalur untuk mengevaluasi apakah terdapat pengaruh yang signifikan di antara perlakuan. Jika terdapat pengaruh, analisis lanjutan menggunakan uji Tukey HSD (*Honestly Significant Difference*). Uji ini bertujuan untuk membandingkan setiap perlakuan yang diberikan dengan kelompok normal. Namun apabila kelompok data berdistribusi normal tetapi varians tidak homogen, maka dilanjutkan dengan analisis statistika menggunakan uji Welch's ANOVA, untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Games-Howell. Pemilihan Welch's ANOVA dan uji lanjut Games-Howell dilakukan untuk memastikan bahwa analisis statistik tetap valid.

