

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari-juni 2023

2. Tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia

Budi, Surakarta.

3.3 Populasi Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah Bajakah.

Sampel dalam penelitian ini adalah bajakah yang diperoleh dari Kalimantan.

3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas (variabel independen)

Variabel bebas merupakan variabel yang berpengaruh terhadap variabel terikat dan merupakan variabel yang diutamakan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak akar Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.).

2. Variabel terikat (variabel dependen)

Variabel yang nilainya berubah karena adanya pengaruh dari variabel bebas, variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona radikal dan radikal *C. albicans*

3.5 Alat dan Bahan

1. Alat
 - a. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: pisau, baskom, loyang, kemasan plastik, erlenmeyer, pipet, labu ekstraksi.
 - b. Alat untuk pengujian laboratorium adalah : pH meter, rotary evaporator, spektrofotometer, vortex, heating mantle, inkubator, desikator, neraca analitik, oven, centrifuge, hot plate, water bath, miropipet 10 μ l, pelat kaca ukuran 20 x 20 cm.
2. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

 - a. batang Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.) bagian kulit dan batang kayu

Bahan kimia yang digunakan:

 - a. Reagen *Follin ciocalteau*
 - b. Etanol
 - c. Asam galat
 - d. NaCl
 - e. KOH
 - f. FeCl₃
 - g. Na₂CO₃
 - h. Aquades
 - i. Gelatin
 - j. Reagen Dragendorff

k. Reagen Meyer

l. Jamur *C. albicans*

3.6 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan antara lain:

pengumpulan dan pengolahan sampel.

1. Persiapan sampel

a. Pengumpulan dan pengolahan sampel

b. Penyortiran dan pencucian akar bajakah

c. Pengeringan

d. Pemotongan dalam ukuran 1cm

e. Diserbuk

f. Ayak dengan saringan 80 mesh (Fitriani *et al.*,2020)

2. Uji fitokimia dilakukan dengan parameter

a. Fenolik

b. Flavonoid

c. Alkaloid

d. Dan aktivitas anti oksidan (Fitriani *et al.*,2020)

3.6.1 Tahap pengolahan sampel tanaman akar Bajakah

Pengolahan sampel tanaman akar Bajakah dapat dilakukan melalui tahapan-tahapan berikut (Fitriani *et al.*, 2020):

a. Sampel tanaman akar bajakah yang telah dikumpulkan, kemudian dibersihkan dengan cara dicuci dari kotoran benda asing yang menempel.

- b. Akar bajakah dipisahkan dari kulit dan batang kayunya dengan cara menyerut kulit akar bajakah sampai terlihat batang kayunya.
- c. Batang kayu kemudian diserut sampai menjadi serabut kayu.
- d. Serutan kulit dan batang kayu akar bajakah dikeringkan dibawah sinar matahari selama 3x24 jam dengan panas terik pada siang hari dan diangin-anginkan pada malam hari dengan suhu ruang hingga kering.
- e. Setelah kering, sampel dihaluskan dan disaring menggunakan saringan 80 mesh.
- f. Sampel akar bajakah siap untuk dilakukan pengujian metabolit sekunder.
- g. Bubuk kulit dan batang kayu akar Bajakah yang telah dipersiapkan akan digunakan sebagai sampel pada pengujian metabolit sekunder dengan parameter: kadar air, kadar fenolik, kadar flavonoid, kadar alkaloid dan aktivitas antioksidan.

3.6.2 Ekstraksi akar Bajakah

Serbuk akar Bajakah dimasukkan dalam bejana maserasi, ditambahkan pelarut etanol hingga serbuk terendam sempurna. Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Maserat kemudian dipisahkan dengan ampas. Hasil maserasi kemudian diuapkan menggunakan *Rotary Evaporator* dan dipekatkan menggunakan *waterbath* (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

3.6.3 Pengujian fitokimia

a. Uji polifenol

Sejumlah ekstrak akar bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.) yang telah dilarutkan dengan etanol ditambah dengan pereaksi FeCl_3 sebanyak 5 tetes. Warna hijau biru menunjukkan adanya polifenol (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

b. Uji alkaloid

Sejumlah ekstrak akar Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.) yang telah dilarutkan dengan etanol, dimasukkan dalam dua tabung. Tabung pertama ditambahkan reagen Dragendorff dan pada tabung kedua ditambahkan reagen Meyer (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

c. Uji alkaloid

Sejumlah ekstrak akar Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.) yang telah dilarutkan dengan etanol, ditambahkan larutan gelatin 1%. Terbentuknya endapan menunjukkan adanya alkaloid (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

d. Uji saponin

Sejumlah ekstrak akar Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.) yang telah dimasukkan dalam tabung dan ditambahkan akuades. Tabung tersebut diguncang selama 30 detik, jika menunjukkan buih pada tabung dengan tinggi $\pm 3\text{cm}$ maka menunjukkan adanya saponin (Ayuchecaria *et al.*, 2020).

3.6.4 Pengujian Anti Jamur *C. albicans*.

Pengujian antijamur dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan tahapan-tahapan sebagai berikut (Tortora *et al* 2010) :

a. Preparasi Media SGA

Dalam penelitian ini menggunakan media *Sabouraud Glucose Agar* yang dimasukkan secara aseptis ke dalam cawan petri steril dalam keadaan hangat kemudian didiamkan hingga memadat dan dingin.

b. Pembuatan Suspensi Jamur

Mengambil biakan jamur *Candida albicans* satu ose dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan SGC steril dihomogenkan. Jamur tersebut distandardkan dengan standar Mc. Farland 0,5. Hasil pengenceran digunakan untuk pengujian antifungi *Candida albicans*.

c. Penanaman Pada Media SGA

Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi jamur yang sudah distandarisasi kekeruhannya, ditunggu sebentar hingga cairannya dapat meresap ke dalam kapas lidi, kemudian diangkat dan ditiriskan dengan menekannya pada dinding tabung bagian dalam. Lalu diratakan pada media *Sabouraud Glucose Agar* hingga rata kemudian dibiarkan selama 15 menit supaya suspensi jamur meresap ke dalam agar.

d. Uji Efektifitas Anti Jamur

Uji efektivitas antifungi dilakukan menggunakan metode cakram. Media SGA (*Sabouraud Glucose Agar*) yang sudah ditambahkan suspensi jamur dibiarkan memadat. Cakram yang sudah direndam pada masing-masing sampel serta kontrol positif flukonazole dan kontrol negatif aquadest selama 15 menit diletakkan pada permukaan media SGA yang telah diinokulasi jamur uji kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

e. Hasil Pengamatan

Pembacaan hasil dilakukan setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C dengan melakukan pengamatan ada tidaknya zona hambat di sekitar cakram disk pada cawan petri dan diukur diameter zona hambat dalam satuan milimeter (mm) menggunakan penggaris. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan jamur terhadap sampel uji akar bajakah.

f. Interpretasi Hasil Pengamatan

Apabila didapatkan zona bunuh (radikal) berupa daerah jernih yang sama sekali tidak ditumbuhi jamur dan zona hambat (irradikal) berupa daerah yang terdapat pertumbuhan jamur yang dihambat berarti infusa akar Bajakah memiliki aktivitas membunuh dan menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Bila didapatkan pertumbuhan pada cawan petri penuh berarti infusa akar Bajakah tidak dapat menghambat

pertumbuhan *Candida albicans*. Berdasarkan klasifikasi respon hambatan pertumbuhan jamur (Puthera *et al*,2007) dikategorikan sebagai berikut :

- 1) Diameter zona bening >20 mm maka zona hambatnya sangat kuat.
- 2) Diameter zona bening 16-20 mm adalah zona hambat kuat.
- 3) Diameter zona bening 10-15 mm adalah zona hambat sedang.
- 4) Diameter zona bening <10 mm adalah zona hambat lemah.

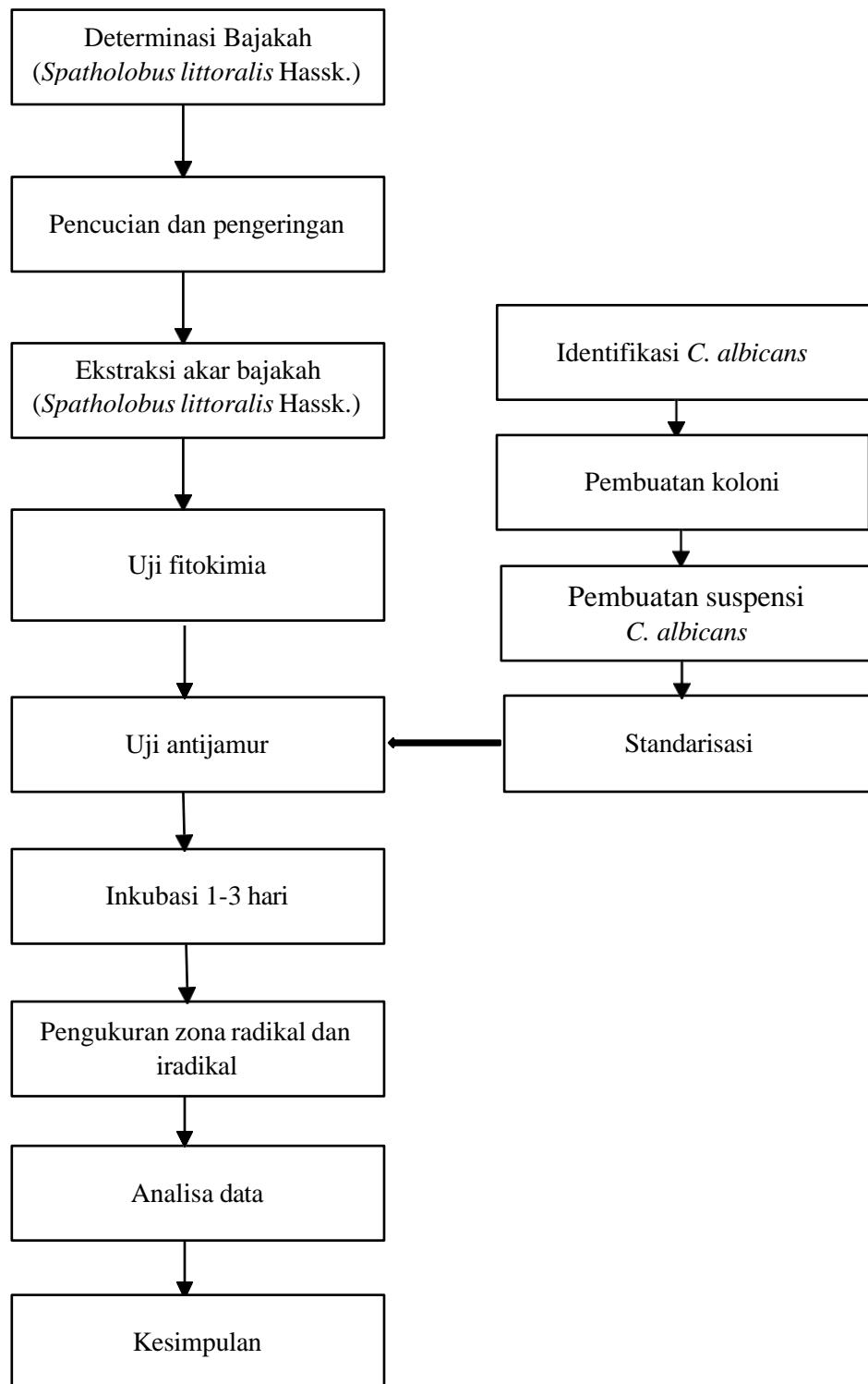
3.7 Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan memperoleh data dari zona radikal dan iradikal dan data primer hasil yang diperoleh dari pengujian di laboratorium berupa media SGA sebagai media yang ditumbuhi *C.albicans*. Data yang telah didapat, kemudian dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan dengan tujuanhasil dari data primer valid dan dapat dipertanggung jawabkan.

3.8 Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji triplo efektifitas antijamur ekstrak akar bajakah terhadap *candida albicans* secara difusi dan untuk melihat konsentrasi mana yang lebih efektif menghambat pertumbuhan *candida albicans*.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian