

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk penelitian murni (*Eksperimen*) didalam laboratorium dengan memberikan perlakuan terhadap objek penelitian. Penelitian eksperimen adalah suatu percobaan pada kondisi/lingkungan tertentu yang kemudian menjadi dasar penataan dan metode analisis statistik terhadap data hasilnya sehingga disebut rancangan percobaan (*Experimental Design*).⁶²

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama dua bulan, yaitu pada bulan Agustus sampai dengan bulan Oktober tahun 2014, di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Pendidikan MIPA, Program Studi Tadris Biologi Institut Agama Islam Negeri Palangka Raya.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah bakteri jenis *Staphylococcus aureus*.

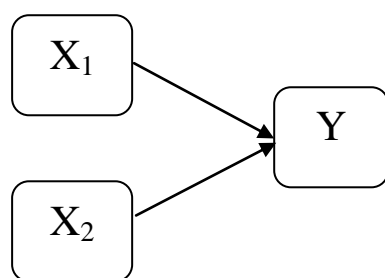
⁶² Kemas Al Hanafiah, *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*, Palembang: USB, 2010, h. 2.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditumbuhkan pada medium NA (*Nutrien agar*) yang berjumlah 32 cawan.

3. Paradigma Penelitian

Penelitian ini mengkaji hubungan sebab akibat antara dua variabel bebas dengan satu variabel terikat. Paradigma penelitian digambarkan dalam diagram pada Gambar 3.1 berikut:



Keterangan :

X : Variabel Bebas

X_1 : Variabel bebas (kapur)

X_2 : Variabel bebas (tawas)

Y : Variabel terikat yaitu (Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*)

Gambar 3.1 Paradigma penelitian

D. Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan untuk memperoleh data tentang pengaruh konsentrasi kapur dan tawas terhadap pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) meliputi alat dan bahan sebagai berikut:

1. Alat-alat yang digunakan adalah :

Tabel 3.1 Alat yang digunakan dalam penelitian

No.	Alat	Jumlah
1.	<i>Laminar Air Flow</i> (LAF)	1
2.	Autoklaf	1
3.	Neraca Digital	1
4.	Jarum inokulasi (berkolong)	5
5.	Korek api	1
6.	Kompor gas	1
7.	Kotak aseptis	1
8.	Labu erlenmeyer 500 ml dan 250 ml	2
9.	Penggaris (30 cm)	1
10.	Pisau	1
11.	Kulkas	1
12.	Tabung reaksi pendek dan panjang	10
13.	Rak tabung reaksi	1
14.	Beaker glass (50 ml, 100 ml, 200 ml, 500 ml)	4
15.	Pipet ukur (1 ml)	1
16.	Gelas ukur (10 ml, 25 ml, 50 ml, 100 ml)	4
17.	Hand sprayer (400 ml)	1
18.	Cawan petri (diameter 10 cm)	40
19.	Sapu tangan	1
20.	Lampu spritus	3
21.	Mikropipet	1
22.	Oven	1
23.	Hot Plate	1
24.	Magnetik stirer	1
25.	Pipet	16
26.	Pengaduk besi	2
27.	Gelas selai	3
28.	Tip mikropipet	1
29.	Gunting	1
30.	Nampan	5
31.	Timbangan	1
32.	Botol spesimen	16
33.	Cotton buds	Secukupnya

2. Bahan-bahan yang digunakan adalah :

Tabel 3.2 Bahan yang digunakan dalam penelitian :

No.	Bahan	Jumlah
1.	Kapur	0,5 kg
2.	Tawas	0,5 kg
3.	Alkohol 70%	1000 ml
4.	Bacto pepton	2,2 gram
5.	Beef extract	1.32 gram
6.	Agar powder	6 gram
7.	Aquadest	2 botol
8.	Kapas	2 gulung
9.	Karet gelang	100 buah
10.	Kertas saring	2 lembar
11.	Kertas kraf	10 lembar
12.	Kasa	2 pak
13.	Kertas tempel	4 pak
14.	Vaselin	Secukupnya
15.	Lysol	Secukupnya
16.	Kultur murni <i>Staphylococcus aureus</i>	1 tabung

E. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana, karena faktor-faktor kondisi lingkungan dapat dihomogenkan (diseragamkan), kecuali faktor perlakuan yang diberikan.⁶³

Rentangian pendahuluan konsentrasi kapur mulai dari 0–15%. Luas rentangannya hingga 15% ini dibuat karena belum adanya acuan taraf perlakuan yang pasti untuk perlakuan pemberian kapur. Adapun taraf-taraf perlakuan kapur disusun sebagai berikut:

⁶³ Kemas Al Hanafiah, *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*, Palembang: USB, 2010, h. 34.

K_0 = Konsentrasi kapur 0%

K_1 = Konsentrasi kapur 5%

K_2 = Konsentrasi kapur 10%

K_3 = Konsentrasi kapur 15%

Sedangkan rentangan perlakuan konsentrasi tawas pada penelitian ini mengacu pada hasil penelitian Ayu Fitria Helmiyati yaitu konsentrasi tawas 2% mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*.⁶⁴ Selanjutnya, rentangan perlakuan tawas diperluas hingga 6% dengan penyusunan taraf perlakuan sebagai berikut:

T_0 = Konsentrasi tawas 0%

T_1 = Konsentrasi tawas 2%

T_2 = Konsentrasi tawas 4%

T_3 = Konsentrasi tawas 6%

Kombinasi dari perlakuan konsentrasi kapur (4 taraf) dan konsentrasi tawas (4 taraf) adalah sebanyak 16 taraf perlakuan kombinasi. Susunan taraf-taraf kombinasi perlakuan kapur dan tawas disajikan pada tabel 3.3:

⁶⁴ Ayu Fitria Helmiyati, *Pengaruh Konsentrasi Tawas Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dan Negatif*, Jurnal, Tidak diterbitkan, Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang, 2010 (<http://digilib.unimus.ac.id/files/disk1/106/jtptunimus-gdl-ayufitriah-5262-1-abstrak.pdf> pada tanggal 26 Maret 2013).

Tabel 3.3 Susunan taraf-taraf kombinasi perlakuan kapur dan tawas :

No.	Perlakuan Kombinasi	Perlakuan Konsentrasi	
		Kapur	Tawas
1	K ₀ T ₀	0%	0%
2	K ₀ T ₁	0%	2%
3	K ₀ T ₂	0%	4%
4	K ₀ T ₃	0%	6%
5	K ₁ T ₀	5%	0%
6	K ₁ T ₁	5%	2%
7	K ₁ T ₂	5%	4%
8	K ₁ T ₃	5%	6%
9	K ₂ T ₀	10%	0%
10	K ₂ T ₁	10%	2%
11	K ₂ T ₂	10%	4%
12	K ₂ T ₃	10%	6%
13	K ₃ T ₀	15%	0%
14	K ₃ T ₁	15%	2%
15	K ₃ T ₂	15%	4%
16	K ₃ T ₃	15%	6%

Secara umum, jumlah ulangan (r) dapat ditentukan berdasarkan persamaan berikut:

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

Dimana: t = Perlakuan

$$r = \text{Ulangan}^{65}$$

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

$$(16 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$15r - 15 \geq 15$$

$$15r \geq 15+15$$

$$r \geq \frac{30}{15} = r \geq 2$$

⁶⁵ Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan Teori & Aplikasi*, Jakarta : Rajawali Pers, 2011, h. 9.

Berdasarkan perhitungan jumlah ulangan sebanyak 2 kali, maka jumlah total unit penelitian adalah $t \times r = 16 \times 2 = 32$ unit penelitian.

F. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan di dalam laboratorium mikrobiologi dengan tahapan penelitian sebagai berikut:

1. Sterilisasi medium dan alat menggunakan autoklaf yang langkah-langkahnya sebagai berikut:
 - a. Mengisi autoklaf dengan air kran sebatas sarangan.
 - b. Mengoleskan vaselin dengan tipis dan merata pada tepi autoklaf tutupnya.
 - c. Memasukkan semua alat dan bahan yang akan disterilkan ke dalam autoklaf. Sebelumnya semua alat dan bahan dibungkus menggunakan kertas sampul dan diikat menggunakan tali kasur. Memasukkan selang uap autoklaf pada bagian lubang yang ada pada wadah, kemudian memposisikan tanda panah pada tutup dan wadah autoklaf. Sebelumnya meratakan bagian tutup autoklaf sampai benar-benar rata dan seimbang, kemudian mengunci autoklaf dengan sempurna.
 - d. Mengatur posisi katup autoklaf dengan posisi tegak, Lalu mengatur api (jika menggunakan kompor gas).
 - e. Menunggu sampai ada keluar uap air pada lubang katup, kemudian melipat katup sampai pada posisi mendatar (menutup katup).
 - f. Menunggu sampai jarum manometer menunjukkan angka 1, berarti tekanan di dalam autoklaf telah mencapai 15 lbs, mengatur panas agar

tekanan tetap bertahan pada posisi 15 lbs selama 15 menit (dengan cara menaikkan atau menurunkan api).

- g. Setelah 15 menit, mematikan api/arus listrik. Kemudian menunggu sampai tekanan pada jarum manometer kembali normal atau pada posisi nol (0) kembali.
- h. Menegakkan posisi katup uap autoklaf, kemudian membuka tutup autoklaf dan mengeluarkan dengan secara perlahan semua alat dan bahan yang ada di dalam autoklaf.
- i. Meletakkan semua alat dan bahan dari dalam autoklaf ke atas nampan. Meletakkan pada posisi mendatar untuk memperoleh medium lempeng, dan meletakkan pada posisi miring untuk tabung reaksi sebagai medium miring, dengan menyandarkannya pada bagian tepi nampan.
- j. Menunggu sampai 1-3 hari. Jika medium tetap bersih dan tidak ditumbuhi jamur atau bakteri, maka medium dapat digunakan. Tapi jika medium telah ditumbuhi bakteri atau jamur maka medium tidak bisa digunakan. Jika medium belum dipakai dalam waktu dekat, medium dapat disimpan di dalam lemari es, dengan dibungkus menggunakan kertas sampul.⁶⁶

2. Menyiapkan medium lempeng Nutrient Agar (NA) yang langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

- a. Menyiapkan alat-alat yang bersih, kering dan steril.

⁶⁶ Noor Hujjatusnaini, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*, Palangka Raya : Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 2-3.

b. Menimbang komponen medium Nutrient Agar (NA) dengan menggunakan timbangan analitis dengan formula:

- *Beef extract* 1,2 gram
- *Bacto Peptone* 2 gram
- *Agar Powder* 6 gram
- *Aquadest* 400 ml

Perhitungan medium NA (*Nutrient Agar*) dengan menggunakan perbandingan :

- *Beef extract*.....3 gram
- *Bacto Peptone*.....5 gram
- *Agar Powder*.....15 gram

- c. Memasukkan medium tersebut ke dalam labu erlenmeyer 500 ml, kemudian memanaskan medium sampai larutan homogen.
- d. Menyiapkan 32 cawan petri dan tabung reaksi.
- e. Menuangkan 10 ml medium Nutrient Agar (NA) untuk setiap cawan petri dan menuangkan 5 ml medium ke dalam tiap tabung reaksi. Melakukan dengan cermat sebelum medium dingin.
- f. Menutup seluruh cawan petri menggunakan kertas sampul dan mengikat menggunakan karet gelang, menyumbat semua tabung reaksi menggunakan kapas, dan memasukkan ke dalam labu Erlenmeyer.
- g. Melakukan proses sterilisasi menggunakan autoklaf.

- h. Perlakuan khusus untuk medium miring dengan cara meletakkan tabung reaksi dalam keadaan miring dengan kemiringan 45° .
- i. Setelah proses sterilisasi selesai, selanjutnya bahan-bahan dibiarkan selama 2x24 jam. Tujuannya untuk melihat, apakah medium terkontaminasi atau tidak, jika terkontaminasi maka medium tidak bisa digunakan, dan jika medium tidak terkontaminasi maka medium siap digunakan.⁶⁷

3. Menyiapkan Medium Cair

Langkah-langkah dalam pembuatan medium NB (*Nutrient Broth*) adalah sebagai berikut:

- a. Menyiapkan alat-alat yang bersih, kering dan steril.
- b. Menimbang komponen medium dengan menggunakan neraca digital dengan komposisi sebagai berikut:

- *Beef extract* 0,12 gram.
- *Bacto peptone* 0,2 gram.
- Aquadest 40 ml.

Perhitungan medium NB (*Nutrient Broth*) dengan perbandingan :

- | |
|--------------------------------------|
| a) <i>Beef extract</i>3 gram. |
| b) <i>Bacto peptone</i>5 gram. |
| c) Aquadest.....1000 ml. |

⁶⁷ Noor Hujjatusnaini, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*, Palangka Raya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 2-3.

- c. Melarutkan *beef extract* dan *bacto peptone* ke dalam akuades.
- d. Mengaduk larutan *beef extract* dan *bacto peptone* secara konstan dan meletakkannya di atas *hot plate*.
- e. Mensterilkan medium kultur cair 100 ml ke dalam labu Erlenmeyer menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lb (pound) selama 30 menit.
- f. Setelah proses sterilisasi selesai kemudian memasukkan larutan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml per tabung setelah itu meletakkan semua tabung tersebut pada rak tabung reaksi.⁶⁸
- g. Selanjutnya bahan-bahan dibiarkan selama 2x24 jam. Jika medium terkontaminasi maka sterilisasi diulang kembali, sebaliknya jika medium tidak terkontaminasi maka medium telah siap untuk digunakan.⁶⁹

4. Membuat Kultur Stok

Langkah-langkah dalam pembuatan kultur stok adalah sebagai berikut:

- a. Menyediakan 1 buah medium lempeng dan 1 medium miring.
- b. Menyiapkan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang akan diremajakan.
- c. Menulis nama koloni bakteri pada tutup cawan medium lempeng dan medium miring yang telah dipersiapkan.
- d. Secara aseptik menginokulasikan koloni bakteri tersebut ke dalam:

⁶⁸ Tim Penyusun, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar*, Universitas Jenderal Sudirman: Purwokerto, 2008, h.18.

⁶⁹ Noor Hujjatusnaini, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*, Palangka Raya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 3.

- 1) Medium lempeng: dengan arah zig-zag menggunakan jarum inokulasi lurus (setiap medium hanya diinokulasikan dengan satu macam koloni bakteri).
 - 2) Medium miring: dengan arah lurus mulai dari permukaan medium miring bagian bawah menuju ke alas (tiap medium hanya diinokulasikan dengan satu macam koloni bakteri).
- e. Memasukkan kultur bakteri tersebut ke dalam inkubator pada suhu yang telah disesuaikan.⁷⁰

5. Menyiapkan kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus*

Langkah-langkah dalam menyiapkan kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

- a. Menyiapkan 2 medium NB (*Nutrient Broth*).
- b. Menyiapkan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang akan dikultur.
- c. Menulis nama koloni bakteri pada medium NB (*Nutrient Broth*) yang telah dipersiapkan.
- d. Membakar bagian ujung jarum inokulasi sampai memijar dan tunggu dingin (hitungan 15 kali).⁷¹
- e. Secara aseptik menginokulasikan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ke dalam medium NB (*Nutrient Broth*).⁷²

⁷⁰ Noor Hujjatusnaini, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*, Palangka Raya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 25.

⁷¹ Tim Penyusun, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar*, Universitas Jenderal Sudirman: Purwokerto, 2008, h. 23.

⁷² Fresti Yoesnita Affianti, *Uji Aktivitas AntiBakteri Ekstrak Daun Sombung (Blumea balsamifera (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Salmonella sp dan Escherichia coli*, Skripsi, Palangka Raya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 49. t. d.

- f. Setelah itu membakar ujung tabung reaksi NB, tujuannya agar kontaminan dari proses transfer hilang, lalu menutup kedua tabung menggunakan kapas yang dibungkus oleh kain kasa.
- g. Membakar kembali bagian ujung jarum inokulasi untuk membunuh bakteri sisa.⁷³
- h. Menyimpan koloni bakteri tersebut ke dalam lemari penyimpanan biakan mikroba dan melakukan pengamatan setelah biakan bakteri berumur 2x24 jam, setelah itu kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* siap untuk digunakan dalam penelitian.⁷⁴

6. Menyiapkan stok induk larutan kapur dan tawas

Adapun langkah-langkah dalam menyiapkan larutan kapur dan tawas menurut petunjuk praktikum mikrobiologi dan disesuaikan dengan penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

a. Menyiapkan stok induk larutan kapur

- 1) Menyiapkan 200 gram kapur, kemudian mencampurnya dengan aquades hingga semua kapur larut, perbandingan yang digunakan adalah 500 gram kapur dengan menambahkan air 20 ml.⁷⁵
- 2) Mendinginkan selama kurang lebih 1x24 jam, tujuannya agar larutan kapur terpisah dan mengendap dibawah.

b. Menyiapkan stok induk larutan tawas

⁷³ Tim Penyusun, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar*, Universitas Jenderal Sudirman: Purwokerto, 2008, h. 23.

⁷⁴ Noor Hujjatusnaini, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*, Palangka Raya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 25.

⁷⁵ Hasil wawancara dengan masyarakat desa wono agung. Sabtu, 15 februari 2014.

- 1) Menyiapkan 500 gram tawas, kemudian mencampurnya dengan aquades hingga semua tawas larut, perbandingan yang digunakan adalah 100 gram tawas dengan menambahkan air 20 ml.⁷⁶
 - 2) Mendinginkan selama kurang lebih 1x24 jam, tujuannya agar larutan tawas terpisah dan mengendap dibawah.
- c. Menyiapkan larutan kapur dengan konsentrasi 0%, 5%, 10% dan 15% sedangkan konsentrasi tawas 0%, 2%, 4% dan 6%.
 - d. Pemberitahuan di dalam perbandingan yang akan ditentukan diperoleh 10 ml setiap perlakuan.
 - e. Menimbang kapur dan tawas sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan, dengan menggunakan rumus : $V_1 M_1 = V_2 M_2$.⁷⁷
 - f. Perbandingan kapur dan tawas terlihat pada tabel 3.4 berikut:

⁷⁶ Hasil wawancara dengan masyarakat desa wono agung. Sabtu, 15 februari 2014.

⁷⁷ Fresti Yoesnita Affianti, *Uji Aktivitas AntiBakteri Ekstrak Daun Sombung (Blumea balsamifera (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Salmonella sp dan Escherichia coli*, Skripsi, Palangka Raya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 51, t.d.

Tabel 3.4 Perbandingan Kapur dan Tawas:

No .	Perlakuan Kombinasi	Perlakuan Konsentrasi		Kombinasi Perlakuan Konsentrasi (%)	
		Kapur	Tawas	Kapur	Tawas
1	K ₀ T ₀	0	0	0	0
2	K ₀ T ₁	0	2	0	2
3	K ₀ T ₂	0	4	0	4
4	K ₀ T ₃	0	6	0	6
5	K ₁ T ₀	5	0	5	0
6	K ₁ T ₁	5	2	5	2
7	K ₁ T ₂	5	4	5	4
8	K ₁ T ₃	5	6	5	6
9	K ₂ T ₀	10	0	10	0
10	K ₂ T ₁	10	2	10	2
11	K ₂ T ₂	10	4	10	4
12	K ₂ T ₃	10	6	10	6
13	K ₃ T ₀	15	0	15	0
14	K ₃ T ₁	15	2	15	2
15	K ₃ T ₂	15	4	15	4
16	K ₃ T ₃	15	6	15	6

g. Menghomogenkan larutan kapur dan tawas tersebut, dengan cara mengaduk menggunakan pengaduk.

h. Dari perbandingan yang telah ditentukan diatas, diperoleh 10 ml setiap perlakuan.

7. Tahapan perlakuan pada bakteri *Staphylococcus aureus*

a. Pemberian kapur dan tawas pada koloni biakan *Staphylococcus aureus*.

Langkah-langkah kerja dalam memberikan kapur dan tawas pada koloni *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

1) Menyiapkan 32 medium NA (*Nutrien Agar*) dan memberikan kode-kode perlakuan pada setiap cawan.⁷⁸

⁷⁸ Noor Hujjatusnaini, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*, Palangka Raya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 41.

- 2) Menyiapkan *Paper disc* dengan diameter 2 cm sebanyak 32 lembar, kemudian merendamnya ke dalam 9 beaker glass yang masing-masing beaker glass berisi 10 ml kombinasi larutan kapur dan tawas sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan, kapur yaitu 0%, 5%, 10%, 15%. Sedangkan untuk konsentrasi tawas yaitu 0%, 2%, 4%, dan 6%. Pada konsentrasi 0% yang berfungsi sebagai kontrol. Perendaman dilakukan selama 30 menit.
- 3) Menggoyang-goyangkan kultur murni *Staphylococcus aureus* secara perlahan selama 3 menit, sehingga penyebarannya merata.⁷⁹
- 4) Menginokulasikan secara merata biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah berumur 2x24 jam ke 32 medium NA. Caranya dengan mencelupkan ujung cotton bud dalam medium cair NB (*Nutrient Broth*), kemudian mengoleskan pada permukaan 32 medium lempeng NA sampai rata secara aseptik.
- 5) Meletakkan masing-masing 1 buah *paper disc* yang telah direndam selama 30 menit tersebut ke bagian tengah permukaan cawan yang berisi medium NA (*Nutrien Agar*) secara aseptik menggunakan pinset steril, sesuai dengan kode perlakuan yang diberikan pada 32 cawan.⁸⁰
- 6) Menyimpan semua cawan petri ke dalam inkubator dengan suhu kamar (37°).

⁷⁹ Fresti Yoesnita Affianti, *Uji Aktivitas AntiBakteri Ekstrak Daun Sombung (Blumea balsamifera (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Salmonella sp dan Escherichia coli*, Skripsi, Palangka Raya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 52. t.d.

⁸⁰ Noor Hujjatusnaini, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*, Palangka Raya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 41.

- 7) Melakukan pengambilan data pada saat kultur *Staphylococcus aureus* berumur 1 x 24 jam, 2 x 24 jam, 3 x 24 jam dan 4 x 24 jam setelah pemberian perlakuan.⁸¹

G. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini adalah teknik observasi langsung terhadap objek penelitian, melalui kegiatan pengukuran. Pengukuran data dilakukan berjumlah 32 cawan petri berumur 1 x 24 jam, 2 x 24 jam, 3 x 24 jam, dan 4 x 24 jam setelah pemberian perlakuan.

Data diambil dari semua unit penelitian, yaitu berupa hasil pengukuran lebar zona hambat (dengan satuan mm), yang di maksud dengan zona hambat pada penelitian ini adalah jarak terluar pada sisi terluar *paper disc* yang mengandung larutan kapur dan tawas dengan koloni biakan *Staphylococcus aureus* di permukaan medium lempeng NA. Dalam hal ini yang diukur adalah jarak koloni biakan *Staphylococcus aureus* yang terdekat dengan *paper disc*.⁸²

H. Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan untuk menguji kebenaran dari 3 hipotesis penelitian (H_a) yang diajukan, maka data yang dikumpulkan selanjutnya dianalisis dengan menggunakan sidik ragam untuk percobaan

⁸¹ Fresti Yoesnita Affianti, *Uji Aktivitas AntiBakteri Ekstrak Daun Sombung (Blumea balsamifera (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Salmonella sp dan Escherichia coli*, Skripsi, Palangka Raya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 52-53. t.d.

⁸² *Ibid*, h. 42-43.t.d.

faktorial sederhana.⁸³ Adapun langkah-langkahnya yang dapat disederhanakan sebagai berikut:

1. Menyusun data ke dalam tabel

Data yang telah dikumpulkan seluruhnya, selanjutnya dimasukkan ke dalam tabel hasil penelitian seperti disajikan dalam tabel 3.5 :

Tabel 3.5 Tabel Data Hasil Penelitian :

Perlakuan	Unit Sampel		Total \bar{X}
	1	2	
K ₀ T ₀	X _{a1}	X _{a2}	X _{tot.a}
K ₀ T ₁	X _{b1}	X _{b2}	X _{tot.b}
K ₀ T ₂	X _{c1}	X _{c2}	X _{tot.c}
K ₀ T ₃	X _{d1}	X _{d2}	X _{tot.d}
K ₁ T ₀	X _{e1}	X _{e2}	X _{tot.e}
K ₁ T ₁	X _{f1}	X _{f2}	X _{tot.f}
K ₁ T ₂	X _{g1}	X _{g2}	X _{tot.g}
K ₁ T ₃	X _{h1}	X _{h2}	X _{tot.h}
K ₂ T ₀	X _{i1}	X _{i2}	X _{tot.i}
K ₂ T ₁	X _{j1}	X _{j2}	X _{tot.j}
K ₂ T ₂	X _{k1}	X _{k2}	X _{tot.k}
K ₂ T ₃	X _{l1}	X _{l2}	X _{tot.l}
K ₃ T ₀	X _{m1}	X _{m2}	X _{tot.m}
K ₃ T ₁	X _{n1}	X _{n2}	X _{tot.n}
K ₃ T ₂	X _{o1}	X _{o2}	X _{tot.o}
K ₃ T ₃	X _{p1}	X _{p2}	X _{tot.p}
Total	X _{tot.1}	X _{tot.2}	X _{tot.}

2. Menghitung Faktor Korelasi (FK):⁸⁴

$$\text{Faktor Korelasi (FK)} = \frac{(\sum X_{\text{total}})^2}{n}$$

3. Menghitung Jumlah Kuadrat (JK):⁸⁵

⁸³ Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan Teori & Aplikasi*, Jakarta: Rajawali Pers, 2011, h. 111.

⁸⁴ *Ibid*, h. 36.

$$JK_{\text{total}} = (\sum X_{\text{total}})^2 - FK$$

$$= (x_{a1})^2 + (x_{a2})^2 + \dots + (x_{p2})^2 - FK$$

$$JK_{\text{Perlakuan kombinasi}} = \frac{(X_{\text{total}.a})^2 + (X_{\text{total}.b})^2 + \dots + (X_{\text{total}.p})^2}{n (\text{ulangan})} - FK$$

JK perlakuan kombinasi dapat diuraikan menjadi :⁸⁶

1. JK_{kapur}
2. JK_{tawas}
3. $JK_{\text{interaksi kapur x tawas}}$

Untuk mencari kedua JK perlakuan kombinasi tersebut, terlebih dahulu dibuat tabel “two way table” untuk faktor kapur dan tawas, sebagai berikut:

Tabel 3.6 “two way table” untuk faktor kapur dan tawas:

Kapur (K)	Tawas (T)				Total (Kapur)
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	
K ₀	X _{tot.a}	X _{tot.b}	X _{tot.c}	X _{tot.d}	X _{tot.K0}
K ₁	X _{tot.e}	X _{tot.f}	X _{tot.g}	X _{tot.h}	X _{tot.K1}
K ₂	X _{tot.i}	X _{tot.j}	X _{tot.k}	X _{tot.l}	X _{tot.K2}
K ₃	X _{tot.m}	X _{tot.n}	X _{tot.o}	X _{tot.p}	X _{tot.K3}
Total Tawas	X _{tot.T0}	X _{tot.T1}	X _{tot.T2}	X _{tot.T3}	X _{total}

$$JK_{\text{Kapur}} = \frac{(\sum X_{\text{total}.K0})^2 + (\sum X_{\text{total}.K1})^2 + (\sum X_{\text{total}.K2})^2 + (\sum X_{\text{total}.K3})^2}{n (\text{ulangan}) \times \text{Tawas}} - FK$$

$$JK_{\text{Tawas}} = \frac{(\sum X_{\text{total}.T0})^2 + (\sum X_{\text{total}.T1})^2 + (\sum X_{\text{total}.T2})^2 + (\sum X_{\text{total}.T3})^2}{n (\text{ulangan}) \times \text{Kapur}} - FK$$

$$JK_{\text{interaksi KxT}} = JK_{\text{Perlakuan Kombinasi}} - JK_{\text{Kapur}} - JK_{\text{Tawas}}$$

⁸⁵ Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan Teori & Aplikasi*, Jakarta: Rajawali Pers, 2011, h. 36.

⁸⁶ *Ibid*, h. 130.

$$JK_{Acak} = JK_{total} - JK_{perlakuan\ kombinasi}$$

4. Menentukan Derajat Bebas (db) :

$$Db_{Perlakuan\ Kombinasi} = (t - 1)$$

$$Db_{Kapur} = t_a - 1$$

$$Db_{Tawas} = t_b - 1^{87}$$

$$Interaksi_{Kapur \times Tawas} = (t_a - 1) (t_b - 1)$$

$$Db_{Acak} = t (r - 1)$$

$$Db_{Total} = (t \cdot r) - 1^{88}$$

5. Menentukan Kuadrat Tengah (KT)⁸⁹

$$KT_{Kapur} = \frac{JK_{kapur}}{db_{kapur}}$$

$$KT_{Tawas} = \frac{JK_{Tawas}}{db_{Tawas}}$$

$$KT_{Interaksi\ KxT} = \frac{JK_{Interaksi\ KxT}}{db_{Interaksi\ KxT}}$$

$$KT_{Acak} = \frac{JK_{acak}}{db_{acak}}$$

6. Menghitung Harga F-Hitung :

$$F_{Hitung} = \frac{KT_{Kapur}}{KT_{acak}}$$

$$F_{Hitung} = \frac{KT_{Tawas}}{KT_{acak}}$$

⁸⁷ Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan Teori & Aplikasi*, Jakarta: Rajawali Pers, 2011, h. 38

⁸⁸ Drs. Akhmedi, *Analisis Data Berdasarkan Rancangan Percobaan*, Makalah disampaikan dalam kegiatan Program Bantuan Penyelesaian Tugas Akhir Mahasiswa (PROBAPENTA) FKIP Universitas Palangka Raya, 20-23 September 1999, h, 15, t.d.

⁸⁹ Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan Teori & Aplikasi*, Jakarta: Rajawali Pers, 2011, h. 37.

$$F_{\text{Hitung}} = \frac{KT_{\text{Interaksi Kapur x Tawas}}}{KT_{\text{acak}}}$$

7. Menghitung Harga Koefisien Keragaman (KK) :

$$KK = \frac{\sqrt{KT_{\text{Acak}}}}{\bar{x}} \times 100\%$$

8. Membuat Tabel Ringkasan Analisis Varians (Anava)

Tabel 3.7 Tabel Ringkasan Analisis Varians (Anava) :⁹⁰

Sumber Keragaman (SK)	db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel	
					5%	1%
Perlakuan Kombinasi Kapur Tawas Interaksi Acak						
Total						

9. Kriteria Pengujian Hipotesis

Hipotesis penelitian ini disusun dalam bentuk hipotesis statistik, yaitu:

1) H_0 = Perlakuan kapur (CaCO_3) tidak mempunyai pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*).

H_a = Perlakuan kapur (CaCO_3) mempunyai pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*).

2) H_0 = Perlakuan tawas ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$) tidak mempunyai pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan bakteri gram positif

⁹⁰ Drs. Akhmadi, *Analisis Data Berdasarkan Rancangan Percobaan*, Makalah disampaikan dalam kegiatan Program Bantuan Penyelesaian Tugas Akhir Mahasiswa (PROBAPENTA) FKIP Universitas Palangka Raya, 20-23 September 1999, h, 15, t.d.

(*Staphylococcus aureus*).

H_a = Perlakuan tawas ($Al_2(SO_4)_3$) mempunyai pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*).

3) H_0 = Perlakuan kombinasi kapur ($CaCO_3$) dan tawas ($Al_2(SO_4)_3$) tidak mempunyai pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*).

H_a = Perlakuan kombinasi kapur ($CaCO_3$) dan tawas ($Al_2(SO_4)_3$) mempunyai pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*).

Perlakuan akan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata apabila F_{hitung} lebih besar dari pada F_{tabel} , pada taraf signifikan 5%. Demikian juga perlakuan tidak menunjukkan adanya perbedaan pengaruh yang nyata apabila $F_{hitung} \leq F_{tabel}$, pada taraf signifikan 5%. Hipotesis statistik ini diuji dengan cara membandingkan harga F_{hitung} dengan F_{tabel} . Adapun kriteria pengujian hipotesis adalah sebagai berikut :

- a. Jika harga $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ 1% atau 5 % berarti H_0 diterima, sedangkan H_1 ditolak dan dinyatakan bahwa perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh nyata.
- b. Jika harga $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ 1% atau 5 % berarti H_0 ditolak, sedangkan H_1 diterima dan dinyatakan bahwa perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata atau diterima.

Apabila hasil sidik ragam menunjukkan adanya pengaruh yang nyata, maka akan ditunjukkan dengan uji BNT, demikian pula jika perbedaan pengaruh tersebut sangat nyata. Adapun rumus BNT untuk kedua faktor (faktor kapur dan tawas), serta untuk perlakuan kombinasi (interaksi faktor kapur dan tawas) adalah sebagai berikut :

a. BNT untuk kapur

$$\text{BNT } 5 \% = t.5\% (\text{db. acak}) \times \sqrt{\frac{2 \text{KTacak}}{\text{perlakuan} \times \text{tawas}}}$$

$$\text{BNT } 1 \% = t.1\% (\text{db. acak}) \times \sqrt{\frac{2 \text{KTacak}}{\text{perlakuan} \times \text{tawas}}}$$

b. BNT untuk tawas

$$\text{BNT } 5 \% = t.5\% (\text{db. acak}) \times \sqrt{\frac{2 \text{KTacak}}{\text{perlakuan} \times \text{kapur}}}$$

$$\text{BNT } 1 \% = t.1\% (\text{db. acak}) \times \sqrt{\frac{2 \text{KTacak}}{\text{perlakuan} \times \text{kapur}}}$$

c. BNT untuk perlakuan kombinasi kapur dan tawas

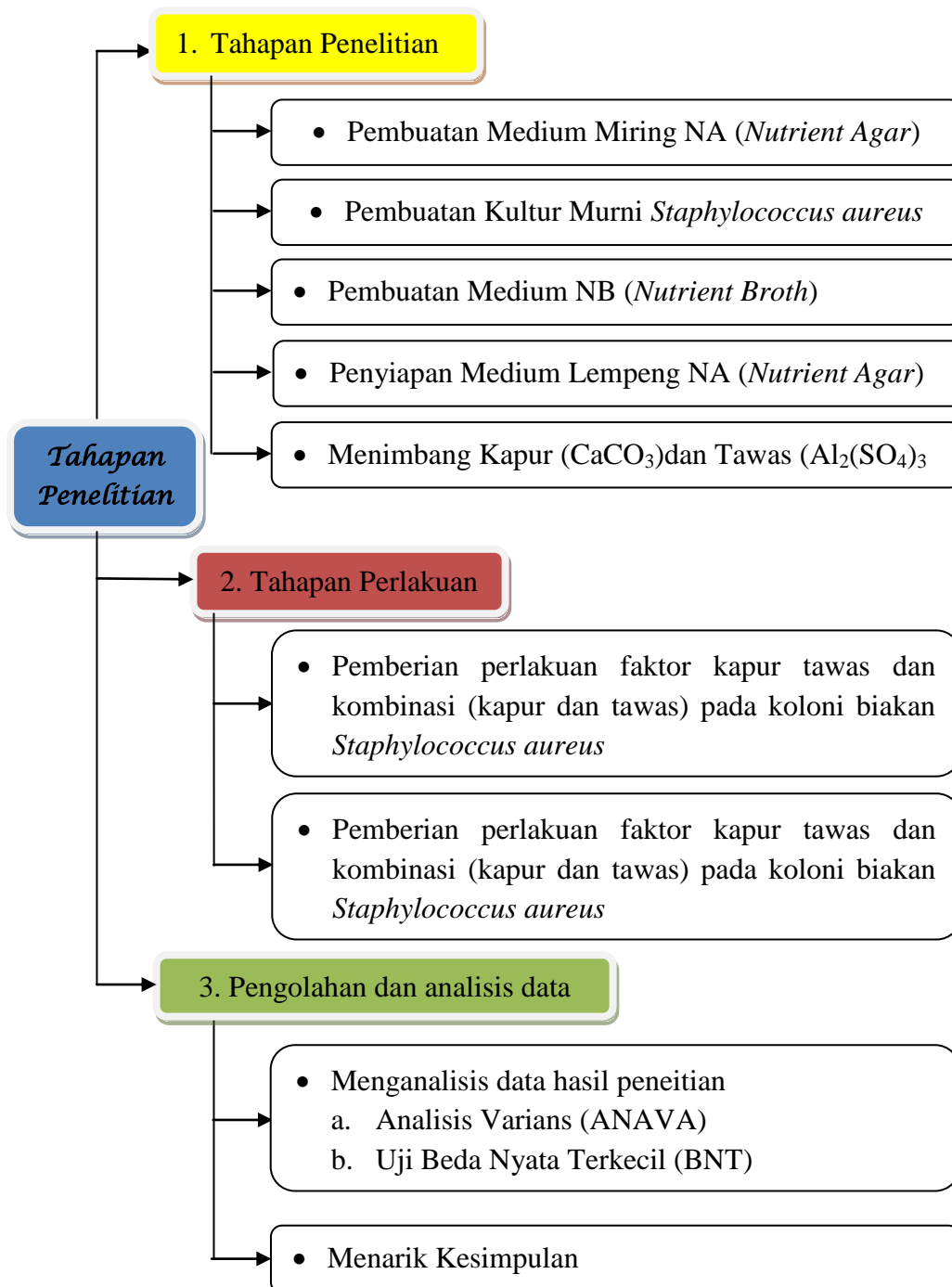
$$\text{BNT } 5 \% = t.5\% (\text{db. acak}) \times \sqrt{\frac{2 \text{KTacak}}{\text{perlakuan}}}$$

$$\text{BNT } 1 \% = t.1\% (\text{db. acak}) \times \sqrt{\frac{2 \text{KTacak}}{\text{perlakuan}}}$$

Jika selisih nilai rata-rata antara masing-masing taraf perlakuan lebih besar dari pada nilai BNT 5%, berarti antara masing-masing perlakuan tersebut terdapat perbedaan pengaruh yang nyata, dan jika selisihnya lebih besar dari nilai BNT 1%, maka perbedaannya adalah sangat nyata. Sedangkan jika selisih nilai rata-rata antara masing-masing perlakuan

nampak lebih kecil dari nilai BNT 5%, berarti antara masing-masing perlakuan tidak terdapat perbedaan pengaruh yang nyata.

I. Diagram Alur Penelitian



Gambar 3.2 Diagram Alur Penelitian.

J. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama dua bulan, yaitu pada bulan Agustus sampai dengan bulan Oktober tahun 2014, di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Pendidikan MIPA, Program Studi Tadris Biologi Institut Agama Islam Negeri Palangka Raya.

Jadwal kegiatan penelitian disusun dalam tabel sebagai berikut:

Tabel 3.8 Jadwal Kegiatan Penelitian

No	Kegiatan	Bulan / Tahun																											
		2014														2015													
		Mei		Juni				Juli		Agustus				September		Juli				Agustus				September				November	
		3	4	1	2	3	4	1	2	1	2	3	4	1	2	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2
1	Persiapan a. Seminar proposal b. Revisi Proposal c. Perijinan	X	X																										
2.	Pelaksanaan Penelitian a. Uji Pendahuluan b. Pelaksanaan Penelitian c. Pengambilan data									X	X																		
3.	Penyusunan laporan a. Analisis data b. Pembuatan laporan (pembahasan) c. Munaqasah d. Revisi																		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

