

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini termasuk jenis penelitian deskriptif eksploratif dengan metode survey dan teknik wawancara semi terstruktur (*semi-structural interview*) melalui pendekatan PEA (*Participatory Ethnobotany Appraisal*) yakni kegiatan yang melibatkan partisipasi peneliti dan masyarakat dalam penelitian. Selanjutnya tumbuhan sebagai obat keputihan diuji daya hambatnya terhadap jamur *Candida albicans*.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian etnobotani tumbuhan berpotensi obat keputihan dilakukan pada bulan Maret sampai April 2012 yang bertempat di 3 desa yaitu Desa Kamal, Desa Banyuajuh dan Desa Gili Timur Kecamatan Kamal Kabupaten Bangkalan Madura. Alasan pemilihan tiga desa tersebut adalah berdasarkan survey pendahuluan ditemukan 70 % masyarakat di setiap desa masih menggunakan tumbuhan sebagai obat keputihan dan masih membuat ramuan sebagai obat keputihan. Penelitian mikrobiologi dilakukan pada bulan Maret sampai Mei 2012 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dalam bentuk uji secara *In Vitro* melalui difusi padat dengan metode *Kirby-Bauer*.

### 3.3 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah masyarakat Kecamatan Kamal Kabupaten Bangkalan Madura, sedangkan sampel dalam penelitian ini berjumlah 60 orang responden termasuk informan kunci dari tiga desa yaitu Desa Kamal, Desa Banyuajuh dan Desa Gili Timur. Informan kunci (*key informant*) merupakan seseorang yang dianggap memahami tumbuhan obat secara luas atau orang yang mengetahui secara mendalam permasalahan yang diteliti. Pengambilan sampel dalam penelitian ini dengan cara *purposive sampling* yaitu pemilihan sampel dengan pertimbangan khusus, yakni sampel adalah seseorang yang memahami tentang tumbuhan obat untuk keputihan meliputi penjual jamu atau obat tradisional Madura, dukun beranak serta masyarakat sekitar yang memahami tentang tumbuhan obat untuk keputihan. Penetapan sampel dibagi menjadi 3 golongan, yakni: a) Pembuat dan penjual (*komersial*) tumbuhan obat berjumlah 4 responden b) Pembuat dikonsumsi sendiri (*non komersial*) berjumlah 54 responden, dan c) Dukun beranak (memberikan saran) berjumlah 2 responden. Penetapan sampel juga dibantu oleh sesepuh yang memahami tumbuhan obat setiap desa

Adapun responden yang diwawancarai pada penelitian ini yang mewakili ke tiga desa tersebut yaitu, 60 orang responden termasuk 10 informan kunci. 25 orang untuk desa Kamal termasuk 5 informan kunci yang terdiri dari golongan a (*komersial*) 2 orang, golongan b (*non komersial*) 2 orang dan golongan c (dukun beranak) 1 orang, 15 orang desa Banyuajuh termasuk 3 informan kunci yang terdiri dari golongan a 2 orang dan golongan b 1 orang, dan 20 orang desa Gili

timur termasuk 2 informan kunci yang terdiri dari golongan a 1 orang dan golongan c 1 orang.

### **3.4 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.4.1 Alat Penelitian**

##### **3.4.1.1 Penelitian Etnobotani**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Camera digital *EasyShare C743*, pedoman wawancara serta peralatan tulis.

##### **3.4.1.2 Penelitian Mikrobiologi**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunsen, pengaduk kaca, timbangan analitik, penggaris, hot plate, oven, *Laminar air flow* (LAF), botol flakon, pinset, cawan petri, tabung reaksi, Erlenmeyer, rak tabung reaksi, gelas ukur, *blue tip*, *yellow tip*, mikro pipet, autoklaf, inkubator, jarum ose, kapas, kain kasa dan aluminium foil.

#### **3.4.2 Bahan Penelitian**

##### **3.4.2.1 Penelitian Etnobotani**

Bahan penelitian yang digunakan adalah semua jenis tumbuhan berpotensi obat keputihan, yang digunakan oleh masyarakat Desa Kamal, Desa Banyuajuh dan Desa Gili Timur Kecamatan Kamal Kabupaten Bangkalan Madura.

### 3.4.2.2 Penelitian Mikrobiologi

Bahan penelitian yang digunakan adalah daun sirih (*Piper bettle* L.), delima putih (*Punica granatum* L.), pinang (*Areca catechu* L.), jamur *C. albicans*, kertas cakram (*Whatman*), plastik wrap, tissue, kentang, dextrose, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), aquades dan alkohol 70 %.

## 3.5 Prosedur Penelitian

### 3.5.1 Studi Pendahuluan

Studi pendahuluan dilakukan untuk mengetahui desa yang akan dijadikan sebagai lokasi penelitian dan penentuan informan kunci atau *key informant*. Informan kunci merupakan orang yang lebih memahami tumbuhan sebagai obat serta membuat/meracik jamu dibandingkan dengan pengetahuan masyarakat lokal tentang tumbuhan obat. Untuk pemilihan lokasi penelitian terlebih dahulu harus mengetahui bahwa masyarakat desa tersebut masih menggunakan tumbuhan sebagai obat tradisional untuk keputihan.

### 3.5.2 Survey Etnobotani

Menurut Manjang (2000) dalam Adfa (2005), survey etnobotani meliputi survey lapangan, wawancara dan pengambilan sampel. Untuk mengetahui kearifan masyarakat di Kecamatan Kamal terhadap tumbuhan obat tradisional untuk keputihan, maka dilakukan wawancara dengan penduduk etnik Madura di Kecamatan Kamal Kabupaten Bangkalan, baik berupa nama lokal tumbuhan,

bagian atau organ tumbuhan yang digunakan, cara perolehan serta cara pemanfaatan.

### 3.6 Pengumpulan Data

#### 3.6.1 Data Etnobotani

Pengumpulan data tentang pemanfaatan tumbuhan berpotensi obat keputihan oleh masyarakat di Desa Kamal, Desa Banyuajuh dan Gili Timur Kecamatan Kamal Kabupaten Bangkalan Madura dengan menggunakan teknik wawancara semi terstruktur yang berpedoman pada daftar pertanyaan seperti: nama lokal tumbuhan, bagian yang dimanfaatkan, cara perolehan tumbuhan serta cara pemanfaatan. Setiap tumbuhan yang digunakan sebagai obat keputihan difoto dan data direkam menggunakan data rekam sebagaimana disajikan pada tabel 3.1 sebagai berikut:

Tabel 3.1 Perakam Data Hasil Penelitian

No	Nama Tumbuhan			Organ yang digunakan	Cara perolehan	Cara pemanfaatan
	Indonesia	Ilmiah	Lokal			

Bahasa yang digunakan dalam wawancara adalah bahasa Madura dan bahasa Indonesia disesuaikan dengan kemampuan responden. Data yang didapatkan kemudian di hitung menggunakan rumus sebagai berikut:

1. Persentase tingkat penggunaan jenis tumbuhan berpotensi obat keputihan

$$\text{Jenis tumbuhan} = \frac{\sum \text{Responden yang menyebutkan suatu jenis tumbuhan}}{\sum \text{Total responden}} \times 100 \%$$

2. Persentase organ tumbuhan berpotensi obat keputihan

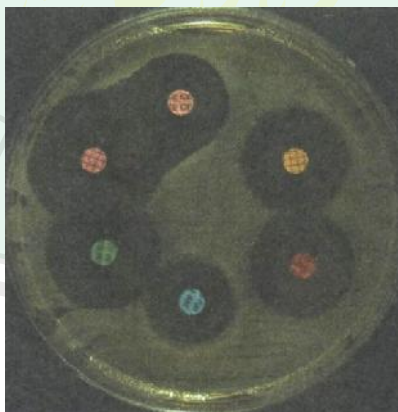
$$\text{Organ tumbuhan} = \frac{\sum \text{Organ tumbuhan jenis (i) yang disebutkan responden}}{\sum \text{Total seluruh organ tumbuhan yang disebutkan responden}} \times 100 \%$$

3. Persentase sumber perolehan tumbuhan berpotensi obat keputihan

$$\text{Sumber perolehan} = \frac{\sum \text{Sumber perolehan jenis (i) yang disebutkan responden}}{\sum \text{Total seluruh sumber perolehan yang disebutkan responden}} \times 100 \%$$

### 3.6.2 Data Mikrobiologi

Data uji daya hambat terhadap jamur *C. albicans* dilaksanakan sebagai berikut: mengukur diameter zona hambat dengan menggunakan penggaris. Diameter zona hambat ditunjukkan adanya zona radikal ataupun irradikal disekeliling kertas cakram, seperti gambar 3.1 berikut ini:



Gambar 3.1 Metode *Kirby-Bauer* (Sumber: Pratiwi, 2008)

### **3.7 Uji Daya Hambat terhadap Jamur *Candida albicans***

#### **3.7.1 Preparasi Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian, yaitu autoklaf, inkubator, spatula, cawan petri, tabung reaksi, Erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 100 ml, 50 ml, pipet mikro, *blue tip*, *yellow tip*, tabung bor dan jarum ose. Semua alat dibungkus dengan kertas dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 psi (*per square inchi*) selama 15 menit dan untuk alat yang tidak tahan terhadap panas disterilkan dengan alkohol 70%.

#### **3.7.2 Pembuatan Media**

##### **1. Media *Potato Dextrose Broth* (PDB)**

Pembuatan media dilakukan dengan cara menimbang kentang sebanyak 20 gram, dextro 4 gram kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 100 mL dalam beaker glass dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Larutan PDB dimasukkan kedalam Erlenmeyer 100 mL dan menutupnya dengan kapas. Kemudian disterilisasi ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi. Membiarkan media tersebut selama 24 jam pada suhu kamar sebelum digunakan.

##### **2. Media PDA *Potato Dextrose Agar* (PDA)**

Pembuatan media dilakukan dengan cara menimbang media *Potato Dextrose Agar* (PDA) sebanyak 19,5 gram kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 500 mL dalam beaker glass 1000 mL sambil diaduk sampai homogen.

Media PDA dituang ke dalam tabung reaksi 10 buah masing-masing 5 ml dan sisanya dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL. Kemudian di sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. kemudian media PDA dalam tabung reaksi dimiringkan dan PDA dalam Erlenmeyer setelah tidak terlalu panas dimasukkan ke kulkas.

### **3.7.3 Peremajaan Biakan Jamur**

Biakan murni *C. albicans* diremajakan pada media PDA miring dengan cara mengambil jamur 1 oose lalu jarum oose yang mengandung *C. albicans* digoreskan secara aseptis pada PDA miring dengan mendekati media pada api bunsen. Kemudian PDA miring ditutup dengan kapas dan plastik wrap dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

### **3.7.4 Cara Pembuatan Sampel Jamu Keputihan**

#### **1. Jamu Segar**

Tumbuhan (daun sirih, delima putih, pinang) dihaluskan, diperas untuk diambil sarinya.

#### **2. Jamu Godog**

Tumbuhan (daun sirih, delima putih, pinang) ditambahkan air 2 gelas, direbus hingga tersisa 1 gelas.

#### **3. Jamu Seduh**

Tumbuhan (daun sirih, delima putih, pinang) dikeringkan, dihaluskan hingga menjadi serbuk, diambil serbuk 2 sendok teh dan ditambahkan air 1 gelas.



#### 4. Jamu Pil

Tumbuhan (daun sirih, delima putih, pinang) dikeringkan, dihaluskan, ditambahkan air hangat secukupnya, diplintir, dikeringkan, diambil 7 butir pil (10 gram/butir) dilarutkan pada 10 ml aquades.

#### **3.7.5 Uji Daya Hambat Tumbuhan Obat Keputihan terhadap Jamur *Candida albicans***

Medium yang digunakan untuk uji aktivitas antifungi yaitu medium PDA yang telah ditanam biakan jamur *Candida* sebanyak 25  $\mu$ l (homogenkan). Uji daya hambat aktivitas *C. albicans* dilakukan dengan *Kirby-Bauer* menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dibuat dari kertas Whatman dan membuat bulatan dengan alat pelubang kertas cakram dengan diameter 6 mm.

Secara aseptik, kertas cakram yang sudah disterilkan direndam selama 30 menit di dalam sampel tumbuhan obat keputihan dengan cara racikan yang berbeda sesuai cara pembuatan jamu oleh masyarakat Kecamatan Kamal. Kertas cakram diambil dengan menggunakan pinset steril dan diletakkan diatas medium uji aktivitas antifungi (medium PDA). Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Apabila ada potensi antibiotik, maka di sekitar kertas cakram akan terlihat zona hambat terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*. Potensi antibiotik diperoleh dengan mengukur diameter zona hambat di sekitar kertas cakram.

### 3.8 Teknik Analisis Data

#### 3.8.1 Penelitian Etnobotani

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan teknik analisis deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Analisis ini merupakan analisis isi (*content analysis*) berdasarkan data pengetahuan responden terhadap tumbuhan sebagai obat keputihan. Data kualitatif didapat dari hasil wawancara masyarakat untuk mengetahui jenis tumbuhan, organ yang digunakan, sumber perolehan dan cara pemanfaatan tumbuhan yang digunakan sebagai obat keputihan. Sedangkan analisis kuantitatif mengetahui persentase dengan menggunakan *Microsoft Office Excel* berupa organ tumbuhan, sumber perolehan tumbuhan dan tingkat penggunaan jenis tumbuhan yang digunakan sebagai obat keputihan.

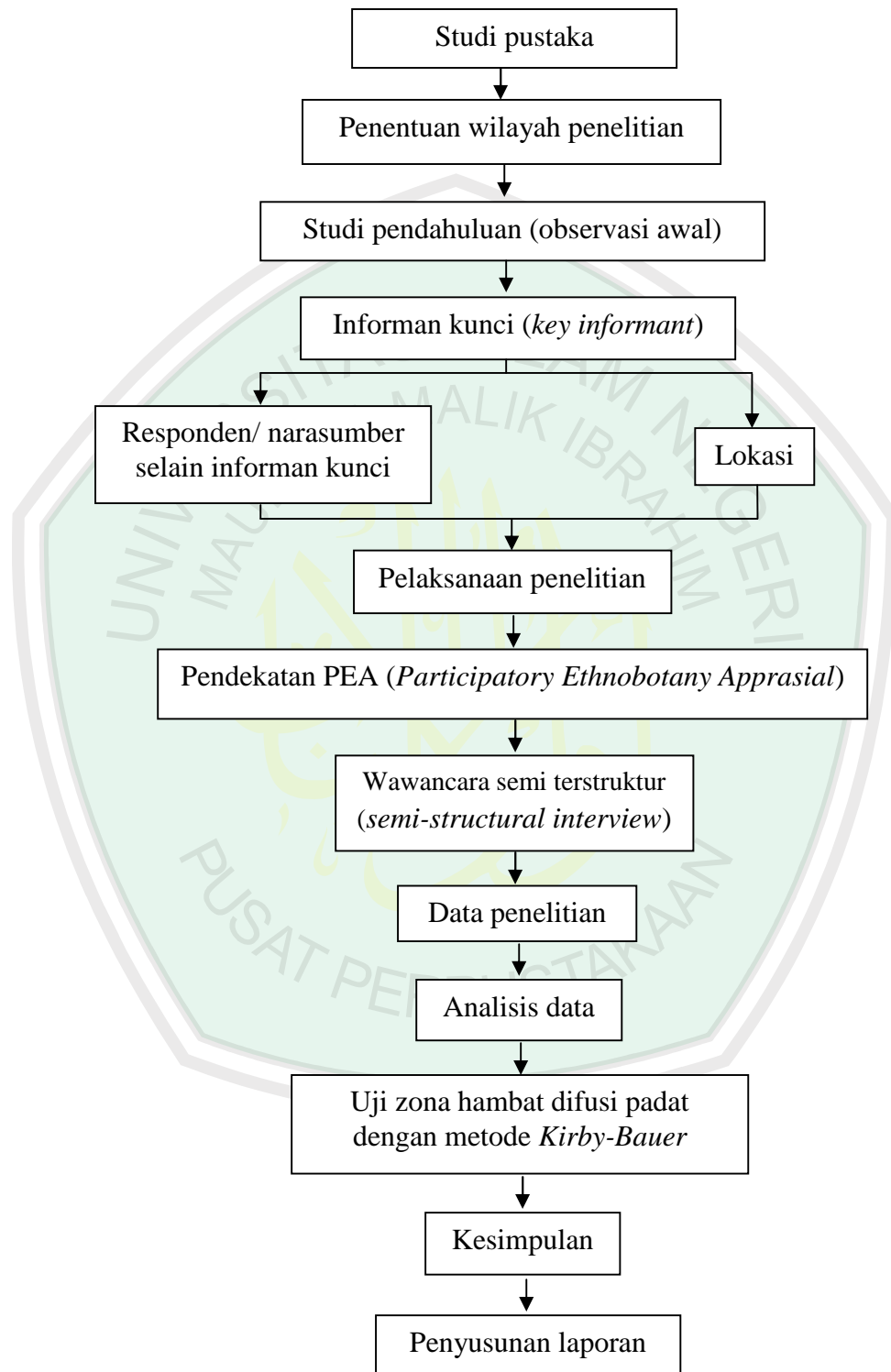
#### 3.8.2 Penelitian Mikrobiologi

Analisis data pada uji data hambat tumbuhan obat keputihan terhadap *C. albicans* adalah deskriptif kuantitatif berdasarkan zona hambat yang dihasilkan disekitar piper disk. Diameter zona hambat pertumbuhan jamur diukur dalam satuan mm dan dijadikan ukuran kuantitatif untuk ukuran zona hambat. Efektivitas dari bahan aktif, ditentukan oleh perbandingan diameter zona hambat dengan nilai standart. Potensi antibiotik nilai standart tersebut mengacu pada ketentun David Stout (2003), sebagaimana terangkum pada tabel 3.2 yaitu:

Tabel 3.2 Potensi Antibiotik Nilai Standart Ketentuan David Stout

Daerah hambat (mm)	Potensi antibiotik
20 atau lebih	Sangat kuat
10-20	Kuat
5-10	Sedang
Kurang dari 5	Lemah

### 3.9 Diagram Kerja



Gambar 3.2 Diagram Kerja Pelaksanaan Penelitian