

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen kuantitatif. Metode ini dipilih karena pada pelaksanaannya dengan melalui penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium serta analisis kuantitatif bekerja dengan pengolahan statistik. Metode penelitian eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh *treatment* (perlakuan) tertentu. Metode penelitian kuantitatif dapat diartikan sebagai metode penelitian yang berlandaskan pada filsafat positivisme, digunakan untuk meneliti pada populasi atau sampel tertentu, teknik pengambilan sampel pada umumnya dilakukan secara *random*, pengumpulan data menggunakan instrumen penelitian, analisis data bersifat kuantitatif/statistik dengan tujuan untuk menguji hipotesis yang telah ditetapkan (Sugiyono, 2016, Hlm. 11-14).

B. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dan eksperimental survey. Eksperimental laboratorium dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). RAL merupakan rancangan paling sederhana yang memiliki syarat berupa media yang homogen atau seragam dan penempatan perlakuan secara acak dengan undian (Suhaerah, 2016, Hlm.70). Untuk melakukan eksperimental survey ini dilakukan dengan cara memberikan angket berupa *quisioner* kepada panelis.

Pada uji efektivitas *candy jelly* ekstrakjahe merah terdapat 3 perlakuan, yaitu *candy jelly* dengan ekstrak jahe merah 5 gr dengan konsentrasi 10% yang di dapat dari penelitian terdahulu oleh Priskilla Widhi Martiani (2015) , basis *candy jelly* sebagai kontrol negatif dan ampicilin sebagai kontrol positif.

Sehingga didapatkan pengulangan sebanyak 8 kali, berdasarkan perhitungan pengulangan menggunakan rumus Federer (Suhaerah, 2013, Hlm.73). Perhitungan Pengulangan uji efektivitas *candy jelly* ekstrak jahe merah:

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

Keterangan:

15 = Derajat kebebasan umum

r = Replikasi (pengulangan)

t = Treatment (perlakuan), dalam hal ini terdapat 3 perlakuan (10%, dan kontrol menggunakan DMSO)

Perhitungan Pengulangan:

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

$$(3-1)(r-1) \geq 15$$

$$2(r-1) \geq 15$$

$$2r \geq 15+2$$

$$r \geq 17/2 = 8.5$$

$$r \geq 8.5 \text{ (Dibulatkan menjadi 8)}$$

jadi banyaknya pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebanyak 8 kali. Dari hasil tersebut maka jumlah keseluruhan sampel yang digunakan sebanyak 24 sampel dan penempatan perlakuan yang dilakukan secara acak (*random*) pada seluruh percobaan.

C. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian yang dilakukan selama kurun waktu kurang lebih satu bulan terhitung mulai dari bulan Mei 2018 sampai dengan bulan Juni 2018.

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di dua lokasi, yaitu Laboratorium Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasundan yang terletak di Jalan Tamansari No. 6 – 8 Bandung Jawa Barat 400116 dan Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia yang terletak di Jl. Dr. Setiabudi No. 229, Isola Sukasari Kota Bandung, Jawa Barat 40154.

D. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah bakteri *Streptococcus mutans* penyebab karang dan karies gigi serta panelis uji organoleptik.

2. Objek Penelitian

Objek dalam penelitian ini yaitu penghambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* serta penerimaan produk di kalangan panelis yang terpilih.

3. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium mikrobiologi FMIPA Universitas Pendidikan Indonesia yang terletak di Jalan Setiabudhi No. 229, Isola, Sukasari, Kota Bandung Jawa Barat 40154 dan di Laboratorium Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasundan yang beralamat di Jalan Tamansari No. 6-8 Bandung Jawa Barat 400116. Penelitian dilakukan pada tanggal 19 Mei – 3 Juni 2018.

4. Populasi Penelitian

Pada penelitian ini populasi penelitian terbagi menjadi dua berdasarkan subjek yang diamati:

- 1) Jumlah populasi dari subjek bakteri *Streptococcus mutans* adalah total luas bakteri *Streptococcus mutans* yang terdapat pada mikrotub 7,5 ml.
- 2) Jumlah populasi dari subjek manusia adalah mahasiswa dari Universitas Pasundan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Program Studi Pendidikan Biologi angkatan 2014, yang berjumlah 147 orang.

5. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi dua berdasarkan objek yang diamati:

- 1) Bakteri *Streptococcus mutans* yang akan digunakan sebagai sampel yaitu sebanyak luas biakan bakteri yang diamati dikali jumlah pengulangannya. Yaitu luas biakan bakteri 100 mikroliter (m μ) bakteri *Streptococcus mutans* dikali 4 pengulangan, sehingga total sampel yaitu 400 m μ .
- 2) Mahasiswa yang dijadikan sebagai sampel yaitu hanya mahasiswa yang memenuhi kriteria sebagai panelis yang diajukan oleh peneliti, adapun kriteria panelis yang diajukan adalah sebagai berikut: mahasiswa dari Universitas Pasundan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Jurusan Biologi Angkatan 2014, jenis kelamin laki-laki atau perempuan, rentang umur 20-22 tahun. Adapun dalam penentuan panelis dipilih secara acak (*Random*), dengan jumlah panelis yang akan dijadikan sampel yaitu 15% dari jumlah populasi, sehingga total sampel yaitu 22 orang.

E. Pengumpulan Data dan Instrumen Penelitian

1. Teknik Pengumpulan Data

Adapun teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Observasi, yaitu suatu teknik pengumpulan data dengan mengamati secara langsung objek yang diteliti (Sugiyono, 2016 Hlm. 203). Teknik observasi atau pengamatan langsung adalah kegiatan pengumpulan data dengan melakukan

penelitian langsung terhadap kondisi lingkungan objek penelitian yang mendukung kegiatan penelitian, sehingga didapat gambaran secara jelas tentang kondisi objek penelitian tersebut (Siregar, 2017, hlm. 42).

Objek yang diteliti yaitu pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang terdapat pada media NA yang telah tercampur dengan ekstrak jahe merah dengan konsentrasi 10% yang di dapat dari penelitian terdahulu oleh Priskilla Widhi Martiani (2015) dan kontrol, sedangkan teknik pengumpulan data yang digunakan pada uji organoleptik adalah pemberian angket berupa *quisioner* pada panelis dengan parameter yang diamati adalah respon penerimaan dan kesukaan konsumen terhadap produk *Candy Jelly* jahe merah, dilakukan selama kurang lebih 1 hari. Satuan pengamatan dalam milimeter (mm). Menurut Sutrisno Hadi (1986) mengemukakan bahwa, observasi merupakan suatu proses yang kompleks, suatu proses yang tersusun dari berbagai proses biologis dan psikologis. Dua di antara yang terpenting adalah proses-proses pengamatan dan ingatan (Sugiyono, 2016 Hlm. 203).

2. Instrumen Penelitian

Menurut Emory (1985) mengemukakan bahwa pada prinsipnya meneliti adalah melakukan pengukuran terhadap fenomena sosial maupun alam. Karena pada dasarnya adalah melakukan pengukuran, maka harus ada alat ukur yang baik. Alat ukur dalam penelitian biasanya dinamakan instrumen penelitian. Jadi instrumen penelitian adalah suatu alat yang digunakan mengukur fenomena alam maupun sosial yang diamati. Secara spesifik semua fenomena ini disebut variabel penelitian (Sugiyono, 2016, hlm. 147-148). Pada penelitian ini instrumen yang digunakan adalah jangka sorong dan penggaris serta angket berupa *quisioner* untuk pengambilan data berupa pertanyaan-pertanyaan. Adapun formatan dalam pengambilan data berupa tabel hasil pengamatan, adalah sebagai berikut:

Tabel 3. 1
Instrumen Pengamatan Uji In Vitro *Candy Jelly* Ekstrak Jahe Merah

PENGULANGAN	PERLAKUAN		
	Kontrol (+) Ampicilin	Kontrol (-) Basis <i>Candy Jelly</i>	<i>Candy jelly</i> Jahe Merah 10%
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
RATA-RATA			

Tabel 3.2
Instrumen Pengamatan Uji pH *candy jelly* ekstrak jahe merah

Indikator warna stik universal pengamatan uji Ph	pH

Tabel 3.3
Instrumen Pengamatan Uji organoleptik *candy jelly* ekstrak jahe merah

Panelis	Evaluasi Sediaan <i>Candy Jelly</i> Ekstrak Jahe Merah																			
	Rasa					Warna					Aroma					Tekstur				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1																				
2																				
3																				
4																				
5																				
6																				
7																				
8																				
9																				
10																				
11																				
12																				
13																				
14																				
15																				
16																				
17																				
18																				
19																				
20																				
21																				
22																				
Total																				

F. Uji Validitas Instrumen

Pada penelitian ini peneliti melakukan *judgement expert* untuk menguji validitas instrumen dengan menggunakan pendapat para ahli, angket (*quisioner*) ini dikonsultasikan kepada dosen yang ahli dalam bidangnya. Dari hasil

Judgement expert tersebut diperoleh hasil bahwa instrumen sudah sesuai dan tidak ada yang direvisi.

G. Teknik Analisis Data

Setelah pengamatan dilakukan data dianalisis menggunakan ANOVA *one-way*. *One-Way* ANNOVA biasanya digunakan untuk menguji rata-rata/pengaruh perlakuan dari suatu percobaan yang menggunakan 1 faktor, dimana 1 faktor tersebut memiliki 3 atau lebih kelompok. *One-Way* ANNOVA dapat disajikan dalam dua bentuk, yaitu perhitungan secara manual dan perhitungan menggunakan bantuan *software* SPSS 17 (Siregar, 2017, hlm 269). yang selanjutnya data di uji dengan menggunakan Duncen dengan tingkat kesalahan yang digunakan adalah 5% untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan yang diujikan pada bahan. Dalam pengujiannya analisis data dengan menggunakan aplikasi SPSS24 dalam menguji statistika data.

H. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri dari tiga tahap kegiatan yang meliputi tahap persiapan, tahap pelaksanaan dan tahap akhir yaitu pengolahan data dan analisis data. Adapun prosedur penelitian yang dilakukan sebagai berikut:

1. Tahap Persiapan

a. Studi Lapangan

Pada penelitian ini diawali dengan studi lapangan terlebih dahulu, pertama dimulai dengan penyusunan proposal penelitian, kemudian dilanjutkan dengan menyusun surat perizinan pembelian bakteri *Streptococcus mutans* di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Pendidikan Indonesia, Jahe merah diperoleh dari tempat khusus budidaya jahe merah yaitu di kebun Elus kecamatan Ciledug Kabupaten Cirebon yang kemudian mengidentifikasi jahe merah agar dapat dipastikan bahwa jahe merah yang dipilih merupakan sejenis. setelahnya yaitu dilakukan dengan menyusun surat perizinan untuk melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas

Pendidikan Indonesia Kota Bandung. Selanjutnya mengecek dan menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian.

b. Menyiapkan Alat dan Bahan

Mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan serta akan digunakan, pada tahap persiapan alat, alat akan disterilkan terlebih dahulu menggunakan autoclave dengan suhu 1210C selama 15-20 menit., adapun daftar alat dan bahan yang digunakan sebagai berikut:

Tabel 3.4 Nama Alat

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1.	Autoclave	Tembaga	1 buah
2.	Incubator	Tembaga	1 buah
3.	Rotary vacuum evaporator	Kaca dan tembaga	1 buah
4.	Oven	Kaca dan tembaga	1 buah
5.	Blennder	Plastik dan Besi	1 buah
6.	Nampan	Plastik	2 buah
7.	Pisau	Tembaga	1 buah
8.	Alumunium Foil	Alumunium	secukupnya
9.	Saringan mesh 100	Jaringan baja yang terbuat dari kawat	1 buah
10.	Sendok	Stainless	2 buah
11.	Beaker glass 2000 ml	Kaca	2 buah
12.	Beaker glass 250 ml	Kaca	2 buah
13.	Gelas Ukur 100 ml	kaca	1 buah
14.	Gelas Ukur 10 ml	Kaca	1 buah
15.	Kain Kasa	Kain	Secukupnya
16.	Karet	Dapan getah pohon karet	Secukupnya
17.	Corong	Kaca	1 buah
18.	Kertas Saring	Kertas	Secukupnya

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
19.	Gunting	Logam	1 buah
20.	Sendok Pengaduk	Kayu	1 buah
21.	Batang Pengaduk	Kaca	2 buah
22.	Spatula	Besi	3 buah
23.	Tabung Reaksi	Kaca	6 buah
24.	Rak Tabung Reaksi	Kayu	1 buah
25.	Tabung Erlenmeyer	Kaca	2 buah
26.	Botol	Kaca	2 buah
27.	Kaca arloji	Kaca	1 buah
28.	Magnetic heated stirrer	Besi	1 buah
29.	Pinset	Besi anti karat	secukupnya
30.	Pipet tetes	Kaca dan karet	8 buah
31.	Mikro pipet	Banyak pilihan dalam mikropipet tergantung kebutuhan volume yang dibutuhkan dalam volume yang sangat sedikit	2 buah
32.	Tip	Terbuat dari plastik digunakan untuk volume bahan cair	Secukupnya
33.	Pembakar bunsen	Kaca dan Api	1 buah
34.	Kertas Cakram	Kertas berdiameter 0,6 cm	Secukupnya
35.	Batang Ose	Kaca dan kawat	1 buah
36.	Cawan Petri	Plastik	3 buah
37.	Pulpen	Tinta	1 buah
38.	Spidol	Tinta	1
39.	Penggaris	Plastik	1
40.	Buku catatan	Lembaran kertas	
41.	Tissue	Serat pohon	Sesuai kebutuhan
42.	Botol	Plastik	2 buah

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
43.	Jangka Sorong	Logam berukuran cm	1 buah
44.	Rapping	Plastik perekat	Secukupnya
45.	Stik Indikator Universal	Kertas warna-warna yang menunjukkan derajat keasaman	1 buah
46.	Timbangan Digital	Tembaga	1 buah
47.	Masker	Kain (bahan pelindung)	1 buah
48.	Sarung tangan	Berbahan karet digunakan untuk pelindung tangan	1 pasang
49.	Cetakan Agar	Plastik yang memiliki bentuk indah	1 buah

Tabel 3.5 Nama Bahan

No	Nama Bahan	Spesifikasi	Jumlah
1.	Jahe Merah	Tanaman rempah indonesia yang dijadikan ekstrak	2 kg
2.	Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	Bakteri penyebab utama karies gigi yang digunakan pada penelitian ini	10 µl
3.	Alkohol 70%	Bahan antiseptic yang digunakan untuk mencegah kontaminasi bakteri	Sesuai kebutuhan
4.	Etanol 96	Sebagai pelarut	Sesuai kebutuhan
5.	Sukrosa	Serbuk putih rasa manis	20gr
6.	Gelatin	Serbuk berwarna kuning zat kimia padat namun tak berwarna, tembus cahaya	4,5gr
7.	Agar-agar	zat yang biasanya berupa gel	0,35gr
8.	Essense	Pemanis pada produk <i>candy jelly</i>	Secukupnya
9.	Asam sitrat	suatu asam organik yang memiliki formula $C_6H_8O_7$	0,15gr
10.	KNA (Kaldu Nutrient Agar)	Media untuk isolasi dan pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus mutans</i> pada cawan petri	60 ml

No	Nama Bahan	Spesifikasi	Jumlah
11.	NB (<i>Nutrient Broth</i>)	Media untuk pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	60 ml
12.	Aquadest	Pelarut bahan	Sesuai kebutuhan
13.	Ekstrak jahe merah	Serbuk jahe merah	5gr

2. Tahap Pelaksanaan

Tahap kedua yaitu tahap pelaksanaan penelitian yang didalamnya mencakup metode cakram difusi agar, sterilisasi alat, ekstraksi jahe merah, pembuatan medium (KNA dan NB), uji *in vitro* penghambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

a. Metode cakram difusi agar

Metode cakram difusi agar (Agar Disk Diffusion Test) merupakan cara untuk menentukan sensitivitas bakteri terhadap antimikroba antibiotik. Metode cakram difusi agar merupakan cara mudah untuk menetapkan kerentanan organisme terhadap antibiotik, yaitu dengan cara menginokulasi biakan pada pelat agar dan membiarkan antibiotik berdifusi pada medium agar. Cakram yang telah mengandung antibiotik diletakkan di permukaan pelat agar yang mengandung organisme yang diuji. Konsentrasi menurun sebanding dengan luas bidang difusi. Efek aktivitas antibiotik ditunjukkan oleh zona penghambat. Zona hambatan tampak sebagai area jernih atau bersih yang mengelilingi cakram tempat zat dengan aktivitas antimikroba terdifusi. Diameter zona dapat diukur dengan penggaris. Metode difusi agar telah digunakan secara luas dengan menggunakan cakram kertas saring yang tersedia secara komersial. Efektifitas relatif antibiotik yang berbeda menjadi dasar bagi spektrum sensitivitas suatu organisme. Ukuran zona hambatan dapat dipengaruhi oleh kepadatan pada cakram filter, sensitivitas organisme terhadap antibiotik, dan interaksi antibiotik dengan media. Metode cakram difusi mewakili prosedur sederhana untuk menyelidiki zat dalam menentukan apakah zat tersebut signifikan dan mempunyai aktivitas antibiotik yang berguna (Harmita dan Radji, 2008).

b. Ekstraksi Jahe Merah

Membuat ekstrak Jahe merah diawali dengan membeli jahe merah yang diperoleh di pasar Ciledug Cirebon Jawa Barat sebanyak 2 kg kemudian membersihkan rimpang jahe merah dengan menggunakan air bersih sebanyak 3 kali sampai terpisah dari tanah. Setelah jahe merah benar-benar bersih kemudian dikupas lalu diiris menggunakan pisau. Setelah dikupas jahe merah kemudian dijemur di bawah sinar matahari selama 3 hari. Setelah kering, jahe merah dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk kasar, selanjutnya oven serbuk kasar tersebut selama 20 menit dengan suhu 150⁰C. Selanjutnya disaring hingga diperoleh serbuk halus, sisa serbuk kasar kembali di blender kemudian disaring untuk kedua kalinya. Semua serbuk halus disaring menggunakan saringan MES dengan ukuran kerapatan 100. Timbang serbuk sebanyak 150gr, lakukan pengukuran ethanol 96% sebanyak 1.350 ml, tuangkan ethanol ke ekstrak 150gr tadi lalu homogenkan, diamkan selama 1x24 jam. Tutup ekstrak dengan menggunakan plastik perekat, simpan pada suhu kamar. Setelah 24 jam, air rendaman jehe merah disaring dengan menggunakan kertas saring agar serbuk dengan airnya terpisahkan, setelah penyaringan selesai dilakukan kemudian ekstrak jahe merah di uapkan memakai alat *Rotatory evaporator* yang berada di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Pendidikan Indonesia. Proses ekstrak jahe merah di *rotatory evaporator* selama kurun waktu 2 jam sampai ekstrak jahe merah murni benar-benar terpisah dari etanol, setelahnya hasil penguapan, kembali diuapkan dengan dihangatkan dalam air hingga ekstrak menjadi bentuk yang lebih kental seperti selai, kemudian dibuatkan konsentrasi menjadi beberapa konsentrasi dengan rumus:

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

Keterangan :

V_p = volume larutan pekat

K_p = konsentrasi larutan pekat

V_e = volume larutan encer

K_e = konsentrasi larutan encer

(Suhara. 2013: 44).

1) Pembuatan konsentrasi 10%

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

$$100.K_p = 10.2$$

$$= 200/100$$

$$= 0,2 \text{ ml ekstrak jahe merah } 1,8 \text{ ml DMSO}$$

c. Pembuatan KNA (Kaldu Nutrisi Agar)

Pertama buatlah ekstrak daging sebanyak 0,5 kg direbus dalam air 1000 ml. Ekstrak daging direbus hingga volume air menjadi setengahnya atau kurang lebih ekstrak daging direbus selama 1 – 2 jam. Setelah itu saring ekstrak daging dengan menggunakan kertas saring, kemudian tambahkan aquades hingga volume menjadi 1000 ml. Masukkan pepton 10 g, NaCl 5 gr, dan agar-agar 15 gr kemudian panaskan hingga mendidih selama 15 menit dengan menggunakan *magnetic stirrer with hotplate*. Ukur pH, usahakan pH menjadi 6,8 – 7,3. Setelah itu buatlah agar diri dan agar miring dengan menggunakan tabung reaksi. Untuk agar diri setiap tabung reaksi diisi suspensi agar sebanyak 12 – 15 ml. Sedangkan untuk agar miring setiap tabung reaksi diisi dengan suspensi agar sebanyak 3 -5 ml. Kemudian tutup tabung reaksi dengan kapas sebaik mungkin, sterilkan tabung dan cawan petri dengan menggunakan autoclave selama 15 – 20 menit pada suhu 121⁰C. Setelah disterilkan, untuk agar diri dibiarkan dalam keadaan tegak dan untuk agar miring diletakan dalam keadaan miring, biarkan sampai dingin (Ammi, Yanti, & Kusnadi, n.d.).

d. Pembuatan *Nutrient broth (NB)*

Campurkan ekstrak daging dan pepton sebanyak 2 gr, lalu tambahkan aquades sampai 250 ml kemudian dididihkan di *magnetic stirrer hotplate*. Setelah itu masukkan ke dalam Erlenmeyer ukur pH, usahakan pH menjadi 6,8 – 7,3. Setelah itu masukkan ke dalam tabung reaksi, 12 – 15 ml untuk agar diri dan 3 – 5 ml untuk agar miring. Tutup tabung dengan kapas yang dibungkus dengan pembungkus. Kemudian sterilkan suspensi dalam media *autoclave* selama 15 – 20 menit pada suhu 121°C.

e. Pembuatan Produk *candy jelly* Ekstrak Jahe Merah

Campurkan ekstrak jahe merah sebanyak 5 gr dengan konsentrasi 10% konsentrasi di dapat dari penelitian terdahulu oleh Priskilla Widhi Martiani (2015) dan di campurkan dengan sukrosa 20gr, panaskan atau di TIM pada suhu 100°C sambil diaduk atau dihomogenkan, setelah itu tambahkan gelatin sebanyak 4,5gr dan agar-agar 0,35gr yang telah dilarutkan dengan aquades 20 ml lalu campurkan essence secukupnya sesuai dengan kebutuhan. Aduk sampai mengental, lalu dinginkan dan tambahkan 0,15gr asam sitrat dan tuangkan dalam cetakan dan tunggu sampai mengeras dalam freezer kulkas selama 1x24 jam.

f. Inokulasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Langkah ini dimulai dengan menyediakan cawan petri yang telah disterilkan setelah itu memberi garis pada bagian bawah cawan petri dengan menggunakan spidol permanen sebagai tanda pemisah yang akan dibagi menjadi 3 bagian, sesuai 3 perlakuan yaitu *candy jelly* ekstrak jahe merah 10%, kontrol positif, dengan menggunakan amplicilin dan control negatif dengan menggunakan basis *candy jelly*. Setelahnya siapkan terlebih dahulu pembakar bunsen untuk mencegah kontaminasi dari luar, masukan cairan NA sebanyak 9 mikroliter (μl) menggunakan mikropipet ke dalam cawan petri lalu ratakan agar NA terisi ke dalam ruang cawan petri. Tunggu hingga mengendap dan kering. Ambil bakteri *Streptococcus mutans* yang berada di inokulum dengan menggunakan mikropipet sebanyak 100 mikroliter (μl) ke dalam cawan petri, ratakan dengan ose agar bakteri

merata. Kemudian masukan kertas cakram menggunakan pinset letakan di tengah-tengah pada setiap posisi konsentrasi yang telah ditentukan.

- g. Uji Zona Hambat *Candy Jelly* Ekstrak Jahe Merah terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yang diuji secara *in-vitro*

Masukan *candy jelly* yang sudah dicairkan terlebih dahulu menggunakan aquadest ke dalam cawan petri dimulai dari menggunakan mikropipet sebanyak 75 mikro liter. Lalu pada kontrol negatif tetesi basis *candy jelly* dan kontrol positif tetesi dengan amplicilin, cawan petri yang sudah terisi bahan-bahan tadi dibungkus plastik dan direkatkan dengan menggunakan karet. Setelah selesai kemudian diinkubasi pada suhu 22 – 30°C selama 1 X 24 jam dalam inkubator. Parameter yang diuji yaitu diameter zona hambat dengan menggunakan alat jangka sorong dan penggaris.

- h. Uji pH *Candy Jelly* Ekstrak Jahe Merah

Uji pH dilakukan dengan menggunakan indikator kertas universal yang dimaksudkan untuk mengukur kelayakan pH mulut. pH mulut yang biasa kita ketahui berkisar antara 4-7. Timbang *candy jelly* jahe merah sebanyak yang diperlukan kemudian dilarutkan dalam aquadest secukupnya, selanjutnya masukan stik indikator kertas universal, kemudian ukur pH *candy jelly*. Lihat angka yang ditunjukkan oleh indikator pada kertas universal tersebut.

- i. Uji Organoleptik *Candy Jelly* Ekstrak Jahe Merah

Diamati sifatnya yaitu diantaranya pada rasa, warna, aroma serta tekstur dari produk *Candy Jelly* Ekstrak Jahe Merah tersebut yang dilakukan dengan cara menyebar angket berupa *quisioner* kepada para panelis yang memenuhi kriteria yang dilakukan dalam waktu 1 hari. Parameter yang diamati adalah daya penerimaan dan kesukaan konsumen melalui angket berupa *quisioner* yang diberikan kepada panelis.

I. Tahap Akhir

Tahap ini merupakan tahap pengolahan dan tahap analisis data, kegiatan yang dilakukan sebagai berikut

- a. Mengolah dan menganalisis data
- b. Membuat kesimpulan dan hasil.