

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif laboratorik dengan metode difusi *Kirby bauer*.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan juli 2012 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi fakultas Kedokteran Universitas lampung.

C. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan Uji

Bahan penelitian adalah ekstrak sambiloto yang didapatkan dari laboratorium MIPA Kimia Organik Universitas Lampung.

2. Bakteri Uji

Bakteri uji yang dipergunakan adalah bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*) sebagai bakteri uji yang berasal dari Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung.

3. Media Kultur

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah *Nutrient Agar*, lempeng agar darah dan *MacConkey*. Bakteri gram positif akan tumbuh pada media perbenihan lempeng agar darah dan bakteri gram negatif akan tumbuh pada perbenihan agar *MacConkey* (Steven dkk.,2004).

4. Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : pipet hisap, mikropipet, tabung reaksi, beaker glass, cawan petri, inkubator, autoklaf, rak, ose, neraca ukur, *stir plate*, tabung Erlenmeyer dan *hot plate*.

D. Prosedur Penelitian

1. Ekstrak sambiloto

Ekstrak sambiloto sebanyak 50gram didapatkan dari sambiloto kering dengan berat 2kg, yang dibuat ekstrak dengan tehnik maserasi. Ekstrak sambiloto didapatkan dari Laboratorium Kimia Organik Universitas Lampung.

2. Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian dibersihkan terlebih dahulu kemudian dibungkus dengan kertas, selanjutnya di autoklaf pada suhu 121⁰C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu dimasukan oven suhu 100⁰C selama 1 jam untuk mengeringkan alat (Dewi,2010).

3. Pembuatan MHA (Muller Hinton Agar)

Timbang 3,8 gram Muller Hinton Agar (38 gr/L) dengan komposisi medium (Beef Infusion 300 gr, Casamino acid 17,5 gr, Starch 1,5 gr, Agar 17 gr) dilarutkan dalam 100 ml aquadest lalu dipanaskan hingga mendidih kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan tekanan udara 1 atm suhu 121⁰C (Dewi,2010).

4. Aktivitas antimikroba

Adapun urutan pengujian efek antimikroba adalah sebagai berikut.

a) Pembuatan sumuran

Pembuatan sumuran dilakukan dengan meletakkan pipet steril pada cawan petri steril dengan menggunakan pinset sebelum bakteri dan agar dimasukkan. Setelah agar dan bakteri di masukan ditunggu sampai memadat. Setelah agar memadat angkat pipet yang telah kita taruh pada masing-masing label pada cawan (Dewi,2010).

b) Persiapan suspensi bakteri

Biakan bakteri diambil sebanyak 1-2 ose dan disuspensikan kedalam larutan NaCL 0,9% sampai diperoleh kekeruhan yang sesuai dengan standar 0,5 *Mac Farland* atau sebanding dengan jumlah bakteri 10^8 (CFU)/mL. Suspensi bakteri ditetaskan sebanyak 50 μ l kemudian diratakan lalu dimasukan agar yang sudah kita buat (Yulina,2011).

c) Pengisian sumuran dengan ekstrak sambiloto

Sumuran yang telah kita buat setelah agar mengeras kita isi sumuran-sumuran yang sudah terbentuk dari pipet tadi dengan ekstrak sambiloto sesuai dengan konsentrasi yang telah kita tentukan dengan menggunakan *micro pipet* sebanyak 100 μ l. Setelah itu, media dimasukkan kedalam inkubator pada suhu 37⁰ C dan diamati setelah 24 jam kemudian diukur zona hambat dengan kaliper geser atau penggaris (Dewi,2011)

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Ekstrak sambiloto dengan lima tahap pemberian konsentrasi, yaitu konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25% dan 0%.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat untuk penelitian ini adalah diameter zona hambat ekstrak sambiloto terhadap pertumbuhan bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*).

F. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi operasional penelitian

Variabel	Definisi	Skala
Konsentrasi ekstrak sambiloto	Pemberian ekstrak sambiloto yang digunakan pada penelitian ini adalah: Kelompok I: ekstrak sambiloto dengan konsentrasi 100% Kelompok II: ekstrak sambiloto dengan konsentrasi 75% Kelompok III: ekstrak sambiloto	Numerik

	dengan konsentrasi 50%	
	Kelompok IV: ekstrak sambiloto	
	konsentrasi 25%	
	Kelompok V: ekstrak sambiloto	
	dengan konsentrasi 0%	
Zona hambat yang terbentuk	Diameter zona hambat pada pertumbuhan bakteri uji (mm)	Numerik

G. Analisis Data

Analisis data yang didapatkan dari penelitian ini dilakukan secara deskriptif laboratorik. Deskriptif yang dimaksud adalah dengan menerangkan dan memaparkan hasil dari penelitian yang didapat.