

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen yaitu metode penelitian untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap perilaku yang timbul sebagai akibat perlakuan (Arikunto, 2010). Peneliti menggunakan penelitian eksperimen untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak daun lidah buaya sebagai antibiotik alami dengan cara membuat berbagai variasi konsentrasi kemudian diujikan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode sumuran.

3.2 Waktu dan tempat penelitian

3.2.1 Waktu penelitian

Waktu penelitian dimulai pada bulan Februari – April 2020.

3.2.2 Tempat Penelitian

Lokasi penelitian dilaksanakan di UPT Materia Medica Batu .

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, rotary vacuum evaporator, wadah maserasi, botol vial, pengaduk, kain saring, jarum ose, inkubator, *autoclave*, *laminar air flow* (LAF), erlemeyer, mikropipet, cawan petri, tissue, kertas label, stirrer, dan kompor gas.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun lidah buaya, isolate bakteri *staphylococcus aureus*, aquades, media, etanol 96%, dan kertas saring.

3.4 Variabel

3.4.1 Variabel Bebas (*Independent Variabel*)

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel dependen (terikat) (Sugiono, 2017).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun lidah buaya .

3.4.2 Variabel Terikat (*Dependent Variabel*)

Variabel dependen merupakan variabel konsekuen, kriteria, dan output. Variabel dependen juga disebut sebagai variabel terikat. Adanya variabel terikat dapat menjadi akibat dan pengaruh bagi variabel tersebut (Sugiyono, 2013). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan lebar zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.5 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Hasil ukur	Alat Ukur	Skala
Konsentrasi ekstrak daun Lidah Buaya (<i>Aloe Vera</i>)	Konsentrasi ekstrak daun lidah buaya merupakan larutan ekstrak daun lidah buaya yang telah dilakukan pengenceran dengan penambahan <i>Dimetil Sulfoksida</i> (DMSO) sehingga diperoleh beberapa variasi konsentrasi.	Terdapat berbagai variasi konsentrasi ekstrak daun Lidah Buaya 30%, 50%, 70%, 100%.	% Volume : (% W/V)	Rasio

Zona hambat pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Luas daerah sekitar sumuran yang tidak ditumbuhi oleh bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .	Besar zona hambat dapat diukur dalam satuan mm.	Jangka sorong skala mm.	Rasio
--	---	---	-------------------------	-------

3.6 Cara Kerja

3.6.1 Pengolahan Sampel

Sampel lidah buaya diambil dari daerah Sumber Rejo, Kecamatan Gunungsari, Kota Batu. Lidah buaya yang digunakan yaitu lidah buaya tua dengan umur panen 11 bulan. Pada penelitian ini menggunakan kulit daun lidah buaya segar sebanyak 13 Kg. pengolahan sampel diawali dengan sortasi basah yang meliputi pencucian sampel, pemisahan kulit dan daging lidah buaya, serta perajangan. Tahapan selanjutnya dilakukan pengeringan kulit daun lidah buaya dalam rumah kaca selama 2 minggu pada suhu 40-50°C dilanjutkan dengan pengovenan selama 2 hari pada suhu 50°C. kulit daun lidah buaya yang kering dapat ditandai dengan kadar air tidak melebihi dari 10%, hasil pengeringan dihaluskan dengan grinder menggunakan ayakan mesh ukuran 90, hasil siap untuk diekstraksi.

3.6.2 Pembuatan ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya

Hasil serbuk kulit daun lidah buaya yang didapatkan ditimbang sebanyak 300 gram, kemudian dilakukan maserasi pada bejana tertutup menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:5. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam diaduk dengan menggunakan *shaker* kecepatan 45rpm. Hasil maserasi selanjutnya dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain saring untuk memisahkan residu dan filtrat. Filtrat yang mengandung ekstrak dipisahkan dari pelarut menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 35°C sampai kental, kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak yang bebas etanol.

3.6.3 Sterilisasi Alat

Peralatan gelas seperti cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer dan pipet ukur dibungkus dengan kertas kemudian disterilkan dalam oven selama 2 jam pada suhu 180°C. Kemudian tip mikropipet, *cotton swap* dan media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Jarum ose dan pinset disterilkan dengan membakar langsung alat tersebut di atas api spirtus.

3.6.4 Penentuan konsentrasi ekstrak daun lidah buaya.

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dibuat dengan pengenceran berbagai variasi konsentrasi yang akan digunakan untuk uji DHM dari ekstrak *Aloe Vera* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* dan zona penghambatannya. Pada penelitian ini konsentrasi yang digunakan yaitu 30%, 50%, 70% dan 100%.

3.6.5 Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

Untuk membuat media *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 28 gram dalam 1000 ml aquadest, kemudian medium NA dimasukkan dalam erlenmeyer ukuran 500ml. media yang telah berisi *Nutrient Agar* (NA) dipanaskan dengan menggunakan *hot plate* dan dihomogenkan dengan stirrer hingga larut sempurna. Selanjutnya media di sterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.6.6 Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri yang telah diinokulasi diambil dengan menggunakan jarum ose steril lalu disuspensikan kedalam tabung yang berisi 0,5ml larutan NaCl 0,85% - 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standart kekeruhan larutan *Mc Farland*.

3.6.7 Pengujian Daya Hambat

Pengujian daya hambat ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe vera*) dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar menggunakan metode sumuran. Pada pengujian bakteri, disiapkan media *Nutrien Agar* (NA) steril sebanyak 15 ml. Dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Selanjutnya diinokulasikan

bakteri uji pada permukaan medium secara merata dengan menggunakan *cotton swap*. Pada masing-masing konsentrasi sampel yaitu konsentrasi 30%, 50%, 70%, dan 100% kemudian diletakkan di permukaan inokulum secara aseptik. Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam, lalu diamati dan diukur zona hambatan yang terbentuk dengan menggunakan penggaris.

(Novel, Wulandari dan Safitri h. 114).

3.7 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis data.

Analisis data disajikan dalam bentuk tabel dan dilanjutkan dengan diuji data statistik menggunakan metode *One-way ANOVA (Analysis of Variance)* dengan menggunakan program *Statistical Product and Service Solution (SPSS)* versi 16.