

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis penelitian : Penelitian *True Eksperimen*, merupakan penelitian yang mencari hubungan sebab akibat antara variabel bebas dengan variabel terikat, dimana variabel bebas dikontrol dan dikendalikan untuk dapat menentukan pengaruh yang ditimbulkan variabel terikat. Dengan pendekatan observasi laboratorium untuk mengetahui efektivitas *antibakteri* ekstrak daun lidah buaya sebagai *antibiotik* alami pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram.

3.2 Desain penelitian : Desain penelitian adalah *true eksperimen* dengan pendekatan *Posttest Only Design*, jumlah ulangan akan dihitung menggunakan rumus *Federer* yaitu :

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

Dengan t = jumlah kelompok perlakuan yaitu dua belas (Ekstrak alami 25%, Ekstrak kemasan 25%, Ekstrak kombinasi 25%, Ekstrak alami 50%, Ekstrak kemasan 50%, Ekstrak kombinasi 50%, Ekstrak alami 75%, Ekstrak kemasan 75%, Ekstrak kombinasi 75%, Kontrol positif 25%, Kontrol positif 50% dan Kontrol positif 75%) dan n = jumlah ulangan. Maka :

$$(n-1)(12-1) \geq 15$$

$$-12n \geq 15$$

$$n \geq 15 + 12$$

$$n \geq 27/12 = 2,25$$

jadi, berdasarkan rumus diatas dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

3.3 Populasi dan sampel yakni :

- Populasi : Populasi pada penelitian ini adalah Lidah buaya (*Aloe vera L*) yang didapat dari daerah Kiaracondong Kota Bandung dan Lidah buaya kemasan merk *THE FACE*.
- Sampel : Sampel pada penelitian ini adalah Lidah buaya (*Aloe vera L*) yang didapat dari daerah Kiaracondong Kota Bandung sebanyak 1000 gram dan dibuat konsentrasi menjadi 25%, 50%, 75%, Lidah buaya kemasan merk *THE FACE* yang didapat dari Supermarket sebanyak 1000 gram dan dibuat konsentrasi menjadi 25%, 50%, 75%. Kombinasi ekstrak lidah buaya alami dan kemasan 1:1 dan dibuat konsentrasi menjadi 25%, 50%, 75%. Dan bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapat dari Laboratorium SMKN 5 Bandung.

3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2024 di laboratorium Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih Kota Bandung.

3.5 Alat, Bahan, dan Metode

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : Oven, Blender, Toples, Kain saring, Jarum ose, Cawan petri, Tabung reaksi, Pinset,

Bahan yang digunakan antara lain : Tanaman lidah buaya, Lidah buaya kemasan merk *The Face*, Etanol 96%, Isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Nutrient Agar* (NA), NaCl fisiologis, *Mueller Hinton Agar* (MHA), Kertas cakram (Disk), Antibiotik *Eritromisin*, Aquades,

Cara kerja :

3.5.1 Pembuatan Ekstrak Lidah Buaya

Tumbuhan lidah buaya yang didapat dari pekarangan rumah dicuci lalu dikupas sehingga didapat gel/daging nya saja. Kemudian gel Lidah Buaya (*Aloe Barbadensis Miller*) ditimbang sebanyak 1000 gram dan di blender. Setelah itu gel Lidah Buaya (*Aloe Barbadensis Miller*) dimasukkan kedalam toples dan direndam dengan larutan *Etanol 98%* dengan perbandingan 2 : 1 lalu didiamkan selama 3-5 hari.(Arjuna, Wahyu Putra, 2020)

3.5.2 Pembuatan Medium *Nutrient Agar* (NA)

Medium *Nutrient Agar* (NA) ditimbang sebanyak 0.84 gram, kemudian dimasukkan kedalam *Erlenmeyer* Bersama dengan aquades sebanyak 20 ml. Selanjutnya media diaduk hingga tercampur sambil dipanaskan diatas penangas air. (Siti dan Wulan, 2018)

3.5.3 Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri uji diambil satu ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. (Yusmaini dan Bahar, 2018)

3.5.4 Pembuatan Media MHA

Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dimulai dengan menimbang MHA sebanyak 9.5 gram dan dilarutkan kedalam labu *Erlenmeyer* dengan aquades sebanyak 250 ml sambil dipanaskan diatas penangas air. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Lalu media dituangkan kedalam cawan petri sekitar 15 ml dan dibiarkan hingga memadat. (Lilih, Nadhira, dan Akhmad, 2020)

3.5.5 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Suspensi koloni uji *staphylococcus aureus* dibuat dengan cara mengambil satu ose koloni dari media NA padat tabung reaksi berisi 5 ml NaCl fisiologis, kekeruhan pada suspensi koloni uji disesuaikan dengan standar *McFarland* (sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL). (Lilih, Nadhira, dan Akhmad, 2020)

3.5.6 Penyiapan Ekstrak Lidah Buaya (*aloe vera*)

Ekstrak lidah buaya dibagi dalam tabung, masing – masing A = 2,5 ml; B = 5 ml; C = 7,5 ml. kemudian ditambahkan aquades kedalam tabung masing – masing A = 7,5 ml; B = 5 ml; C = 2,5 ml. Selanjutnya larutan dihomogenkan kurang-lebih selama 5 menit.

3.5.7 Pengujian Daya Hambat

Pengujian daya hambat dilakukan dengan metode difusi agar. Medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) steril disiapkan lalu dimasukkan kedalam cawan petri secara aseptis sebanyak 10 ml dan dibiarkan membeku. Mengambil suspensi bakteri uji cair dari tabung dengan *cotton swab* steril, *cotton swab* ditekan sedikit pada tepi tabung kemudian dioleskan pada *Muller Hinton Agar* (MHA). Disiapkan kertas disk yang sudah direndam selama kurang lebih 10 menit dan ditentukan konsentrasinya (25%, 50% dan 75%) lalu diletakkan pada permukaan agar beku menggunakan pinset steril. Media tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, setelah itu diukur zona hambat dengan menggunakan penggaris (Novel, Wulandari dan Safitri 2014 h. 114).

3.5.8 Pembacaan Daya Hambat

Diamati zona hambatan yang berupa zona bening di sekeliling disk dan diukur diameternya menggunakan penggaris. Jika terdapat daya hambat disekeliling disk berarti ekstrak gel lidah buaya memiliki kandungan zat aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.5.8.1 Kategori Zona Hambat

Diameter	Kekuatan daya hambat
≤ 5	Lemah
6-10	Sedang
11-20	Kuat
≥ 21	Sangat kuat

Sumber : Wahyu, 2020 (Kriteria *Davis & Stout*, 2009)

3.5.9 Pengolahan & Analisis Data

Data yang dikumpulkan adalah data hasil penelitian yang diperoleh dengan memberikan perlakuan langsung pada medium yang telah ditanami oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Tahap penelitian dimulai dari pembuatan ekstrak atau perasan air lidah buaya hingga pengamatan zona bening pada media yang kemudian diukur diameternya dengan jangka sorong. Analisa data pada penelitian ini adalah *One-way ANOVA* karena variabel pada penelitian ini adalah variabel numerik dan lebih dari 2 kelompok.