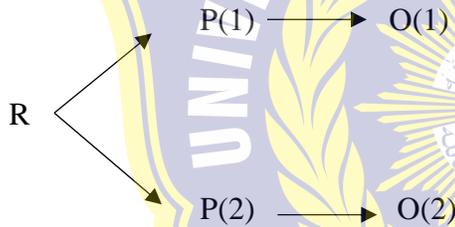


BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu Deskriptif Analitik yaitu suatu metode yang memberikan gambaran, penjelasan, serta validasi terhadap suatu fenomena yang diteliti. Penelitian ini membuat deskripsi atau gambaran tentang ekstrak atau perasan kombinasi bawang putih dengan thiamphenicol sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella* dengan mengamati terbentuknya zona hambat. Rancangan penelitian ini adalah dengan *Post Test Only Control Design*



Keterangan :

R : Random

P(1) : Perlakuan dengan pemberian antibiotik

P(2) : Perlakuan dengan pemberian ekstrak perasan bawang putih 50% dengan kombinasi antibiotic

O(1) : Observasi pertumbuhan *Salmonella thypi* pada perlakuan dengan pemberian antibiotik

O(2) : Observasi pertumbuhan *Salmonella thypi* pada perlakuan dengan pemberian ekstrak perasan bawang putih 50%

3.2. Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah bakteri murni *Salmonella thypi* yang dapat tumbuh di media *Mueller Hinton Agar*.

3.2.2 Sampel

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah bakteri murni *Salmonella thypi* yang sudah dilakukan peremajaan.

3.3. Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi D3 Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

3.3.2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2022 sampai dengan Juni 2023, sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan Mei 2023.

3.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1. Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini adalah aktivitas antibakteri thiamphenicol dan kombinasi ekstrak bawang putih dengan thiamphenicol.

3.4.2. Definisi Operasional Variabel

Aktivitas antibakteri yang tunjukkan dengan angka sebagai zona hambat pertumbuhan *Salmonella typhi*, dengan menggunakan metode difusi cakram, yaitu dengan cara menempelkan kertas cakram yang telah direndam pada lauratan

thiamphenicol dan campuran ekstrak bawang putih dengan thiamphenicol yang dinyatakan dengan satuan mm

3.5. Teknik Pengumpulan Data

3.5.1. Prinsip Pemeriksaan

Prinsip pemeriksaan ini adalah pengamatan yaitu dengan cara Media *Mueller Hinton* ditanami dengan bakteri biakan murni *Salmonella tyhpii* melalui proses suspensi bakteri dengan cara perhitungan Mac Farland 0,5 kemudian kertas cakram kosong direndam selama 30 menit agar dapat menyerap senyawa antibakteri pada ekstrak bawang putih dengan larutan antibiotic thiamphenicol setelah itu dengan menempelkan cakram tersebut di media *Mueller Hinton* yang diukur dengan menyatakan satuan mm.

3.5.2. Alat dan Bahan

a. Alat

Beaker Glass, ose jarum, erlenmeyer, incubator, cawan petri, autoklaf, batang pengaduk, bunsen, kaki tiga, kasa asbes, pipet kaca, lidi kapas steril, gelas arloji, tabung reaksi, kertas saring, blender, alcohol swab.

b. Bahan

Isolat murni bakteri *Salmonella thypi*, media MH, ekstrak perasan bawang putih, kertas cakram kosong, aquades, antibiotic thiamphenicol, media TSIA, Mc Farland 0,5

3.5.3. Prosedur

a. Sterilisasi Alat

Sterilisasi dilakukan untuk seluruh alat yang bertujuan untuk menghilangkan atau membunuh mikroorganisme yang ada pada peralatan laboratorium yang akan digunakan, serta untuk menghindari terjadinya kontaminasi yang dapat mempengaruhi hasil. Proses sterilisasi dilakukan menggunakan autoclave selama 15-20 menit dengan suhu 121°C.

b. Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

1. Melakukan penimbangan media MHA sebanyak 34,2 gr

Jumlah aquades yang dibutuhkan : $45 \times 20 = 900\text{ml}$

$$\frac{38}{1000} \times 900 \text{ ml} = 34,2 \text{ gr}$$

2. Melarutkan dalam aquadest sebanyak 900ml
3. Memanaskan menggunakan api bunsen sampai media terlarut sempurna
4. Mengukur pH dengan menggunakan pH meter jika kurang asam maka tambahkan HCL. Namun jika kurang basa tambahkan NaOH. pH pada media *Mueller Hinton Agar* sekitar 7,4
5. Mensterilkan menggunakan autoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C
6. Suam-suam media diatas waterbath
7. Menuang media pada cawan petri
8. Menunggu hingga media memadat kemudian simpan dikulkas

c. Peremajaan bakteri *Salmonella*

1. Mengambil bakteri *Salmonella thypi* dengan jarum ose steril
2. Menanamkan pada media TSIA dengan cara menusuk kemudian digoreskan

3. Menginkubasi media dengan alat incubator selama 1x24 jam dengan suhu 37°C

d. Pembuatan ekstrak perasan bawang putih

1. Menimbang bawang putih sebanyak 500gr (Pasaribu *et al.*, 2020).
2. Mengupas bawang putih, dicuci sampai bersih
3. Menghaluskan menggunakan blender atau juice extract
4. Memeras sari-sari bawang putih menggunakan alat saringan atau kertas saring

e. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Perasan Bawang Putih

Konsentrasi 50% = 50 ml ekstrak perasan bawang putih ditambah dengan 50 ml aquades steril

f. Pembuatan Larutan Antibiotik Thiamphenicol 500mg

1. Menyiapkan alat dan bahan
2. Menyalakan api spiritus untuk mempertahankan sterilitas
3. Melarutkan 2 kapsul antibiotic ditambahkan dengan aquades steril sebanyak 10ml.
4. Menghomogenkan larutan sampai merata

g. Pembuatan Larutan Kombinasi Bawang Putih dengan Thiamphenicol

1. Mengambil 10 ml dari ekstrak bawang putih konsentrasi 50%
2. Mencampurkan dengan 10 ml larutan antibiotic thiamphenicol
3. Menghomogenkan larutan sampai merata

h. Pembuatan Standar Mc Farland 0,5

1. Menyiapkan alat dan bahan yang sudah steril

2. Memipet 0,05 ml BaCl₂ 1%
3. Memipet 9,95 ml H₂SO₄ 1%
4. Mencampurkan kedua bahan tersebut kemudian menghomogenkan sampai tercampur

i. Pembuatan suspensi bakteri

1. Menyiapkan isolat bakteri murni *Salmonella thypi*
2. Mengambil koloni bakteri *Salmonella thypi* dengan ose bulat steril dan memasukan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% dan homogenkan
3. Melakukan perbandingan kekeruhan dengan standart Mc Farland 0,5
4. Jika kurang keruh maka menambahkan bakteri
5. Jika kurang jernih maka menambahkan NaCl

j. Uji aktivitas antibakteri

1. Menyiapkan media MHA yang sudah padat
2. Menyiapkan suspense bakteri *Salmonella thypi*
3. Ambil suspense bakteri menggunakan lidi swab steril kemudian digoreskan atau streaking rata pada media *Muller Hinton Agar* (MHA)
4. Rendam kertas cakram kosong pada ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 50% beserta larutan thiamfenikol selama 30 menit. Kemudian letakkan diatas media MHA beserta kertas cakram yang sudah berisi antibiotic thiamfenikol
5. Kemudian media diinkubasi dalam incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

6. Mengamati adanya zona hambat atau zona bening disekitar kertas cakram dan diukur menggunakan penggaris
7. Pada tahap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 20

3.5.4 Tabulasi Data

Tabel 3. 1 Data hasil pengukuran zona hambat

Kode	Diameter Zona Hambat	
	Thiamphenicol dan Bawang Putih	Thiamphenicol
1		
2		
3		
4		
5		
Dst.		
Jumlah		
Rata-rata		
Kategori		

3.6. Teknik Analisa Data

Penelitian ini menggunakan analisa data statistic deskriptif. Ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 50% yang diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella thypi* (Pasaribu *et al.*, 2020). Terdapat zona bening yang dihasilkan dari konsentrasi 50% pada kombinasi bawang putih dan thiamphenicol kemudian dengan thiamphenicol dirata-rata sehingga mendapatkan nilai akhir. Nilai akhir tersebut ditunjukkan dengan skala pengukuran ordinal apakah sangat kuat,kuat, sedang, atau lemah.