

IV. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

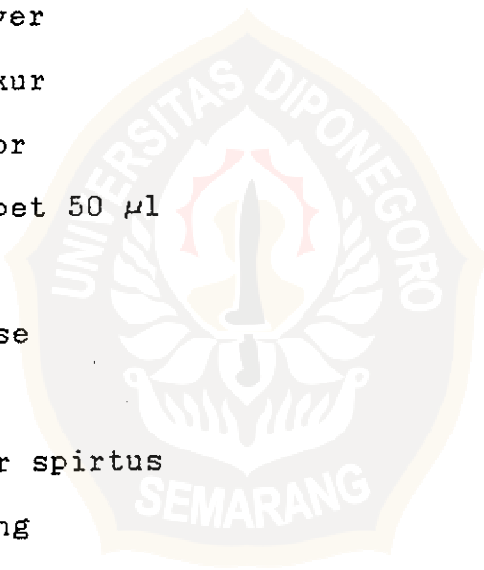
Alat dan bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Alat :

- autoklaf
- corong
- cylinder disk (diameter 1 cm)
- erlenmeyer
- gelas ukur
- inkubator
- mikropipet 50 μ l
- mortir
- jarum ose
- oven
- pembakar spirtus
- penyaring
- petridish
- pipet ukur 1 ml
- scalpel
- tabung reaksi dan rak
- timbangan

2. Bahan :

- alkohol 96%
- aquabidest



- aquadest
- biakan bakteri *Staphylococcus aureus* hasil isolasi laboratorium Mikrobiologi PS. Biologi BP MIPA Undip.
- biakan bakteri *Escherichia coli* hasil isolasi laboratorium Mikrobiologi PS. Biologi BP MIPA Undip.
- biakan bakteri *Bacillus subtilis* hasil isolasi laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi UGM.
- biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* hasil isolasi laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi ITB.
- daun Cocor bebek
- daun Sirih
- daun Ubi jalar
- garam fisiologis (NaCl 9%)
- HCl
- medium Nutrien Agar
- medium Nutrien Cair

B. Cara Kerja

1. Pengambilan Sampel.

Pengambilan bahan berupa daun tanaman dilakukan di beberapa tempat. Untuk daun Cocor Bebek, diambil dari daerah Pleburan dan Bangkong. Daun Sirih diambil dari daerah Tembalang dan Pedurungan.

Sedangkan daun Ubi Jalar diperoleh dari daerah Tembalang dan Bandungan. Daun diambil dalam keadaan segar.

2. Cara Ekstraksi

Untuk masing-masing tanaman obat, dibuat ekstrak dengan kadar 100%, 75%, 50% dan 25% (v/v) dengan cara sebagai berikut :

- menimbang 50 gr daun yang telah dibersihkan
- memotong-motong daun dan kemudian menghaluskannya dengan bantuan mortir dan penggerus
- menambahkan 50 ml pelarut, sambil terus digerus hingga tercampur dengan baik. Adapun pelarut yang dipergunakan adalah :
 - ~ alkohol 96% dan aquabidest untuk Cocor bebek dan Sirih
 - ~ alkohol yang diasamkan dengan HCl 1 M dan aquabidest untuk Ubi jalar (Harborne, 1987)
- menyaring ekstrak yang diperoleh
- mengencerkan ekstrak yang diperoleh dengan cara menambahkan pelarut hingga diperoleh ekstrak dengan kadar 75%, 50% dan 25% (v/v)

3. Pembuatan Medium

Medium yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah :

~ Medium Nutrien Cair

Bahan yang dipergunakan adalah :

- ekstrak daging : 3 gr
- pepton : 5 gr
- aquadest : sampai 1 l
- pH : 7,2

~ Medium Nutrien Agar

Bahan yang dipergunakan adalah :

- ekstrak daging : 3 gr
- pepton : 5 gr
- agar : 15-20 gr
- aquadest : sampai 1 l
- pH : 7,2

Untuk membuat medium, bahan-bahan tersebut dicampur dan kemudian dipanaskan hingga mendidih dan semua bahan larut. Kemudian medium tersebut disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121°C selama 15 menit.

4. Pengujian Agensia Kemoterapi

Untuk mengetahui besarnya zona hambatan yang dihasilkan ekstrak terhadap bakteri penguji, digunakan metode 'cylinder disk methode', yaitu dengan cara sebagai berikut :

- menanam biakan bakteri uji berumur 24 jam pada medium Nutrien Cair dengan kerapatan yang relatif sama.

- menginkubasikannya selama 24 jam pada temperatur 35°C .
- menanam 1 ml kultur di atas pada Medium Nutrien Agar dengan cara taburan pada petridish.
- meletakkan 3 cylinder disk steril yang berdiameter 1 cm pada petridish yang telah berisi Nutrien Agar dan biakan bakteri di atas.
- mengisi tiap cylinder disk dengan 50 μl ekstrak tanaman yang telah dibuat (untuk tiap petridish, digunakan 1 macam ekstrak dengan 1 kadar).
- menginkubasikannya selama 24 jam dan 48 jam pada temperatur 35°C .
- dilakukan pengamatan untuk mengukur luas zona hambatan yang terbentuk.

(Salle, 1961)

C. Model Analisis Data

Untuk menganalisa hasil penelitian dipergunakan Rancangan Acak Lengkap dengan Analisa Variansi pada taraf uji 0,05 dan 0,01. Jika F hitung lebih besar dari F tabel, maka H_0 ditolak, berarti ekstrak tanaman obat yang dipergunakan mengandung agensia kemoterapi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Untuk mengetahui perlakuan mana yang menimbulkan beda nyata, dilakukan Uji Range Berganda Duncan (Widasari, 1988).