

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Metode Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen kuantitatif. Metode ini dipilih karena pada pelaksanaannya dengan melalui penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium serta analisis kuantitatif bekerja dengan pengolahan statistik. Metode penelitian eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh *treatment* (perlakuan) tertentu. Metode penelitian kuantitatif dapat diartikan sebagai metode penelitian yang berlandaskan pada filsafat positivisme, digunakan untuk meneliti pada populasi atau sampel tertentu, teknik pengambilan sampel pada umumnya dilakukan secara *random*, pengumpulan data menggunakan instrumen penelitian, analisis data bersifat kuantitatif/statistik dengan tujuan untuk menguji hipotesis yang telah ditetapkan (Sugiyono, 2016, Hlm. 11-14).

#### **B. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian dengan menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium dan eksperimental survey. Eksperimental laboratorium RAL (Rancangan Acak Lengkap) yang merupakan rancangan paling sederhana yang memiliki syarat media atau bahan percobaan homogen atau seragam, penempatan perlakuan secara acak (*random*) dengan undian lort (Suhaerah, 2016, Hlm. 70) yang dimana pengujian dilakukan secara *in vitro*. Sedangkan eksperimental survey penelitian dilakukan dengan memberikan angket kepada masyarakat sebagai panelis dalam pengujian evaluasi sediaan salep.

Pada uji efektivitas ekstrak bawang putih menggunakan desain penelitian RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 6 perlakuan 4 pengulangan. Perlakuan yang digunakan adalah menggunakan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30% 35% dan kontrol dengan menggunakan DMSO 10% yang dilakukan secara *in vitro*. Adapun perhitungan dalam menentukan berapa

pengulangan yang harus dilakukan dengan menggunakan rumus Federer (1997).

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

Keterangan:

r = banyak pengulangan

t = perlakuan, dalam hal ini ada 6 perlakuan (15%, 20%, 25%, 30%, 35% dan kontrol dengan menggunakan DMSO 10%)

15 = derajat kebebasan umum, sehingga:

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

$$(r-1)(6-1) \geq 15$$

$$(r-1)(5) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r = 4$$

Jadi banyaknya pengulangan yang dilakukan dalam uji efektivitas ekstrak bawang putih pada penelitian ini adalah sebanyak 4 kali. Dari hasil tersebut maka jumlah keseluruhan sampel yang digunakan sebanyak 24 sampel, dan penempatan perlakuan yang dilakukan secara acak (random) pada seluruh percobaan. Sedangkan pengulangan pada uji efektivitas salep ekstrak bawang putih adalah:

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

Keterangan:

r = banyak pengulangan

t = perlakuan, dalam hal ini ada 3 perlakuan (kontrol negatif (PEG 400 dan PEG 4000/basis salep), produk salep ekstrak bawang putih, dan kontrol positif (tetrasiklin/antibiotik)).

15 = derajat kebebasan umum, sehingga:

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

$$(r-1)(3-1) \geq 15$$

$$(r-1)(2) \geq 15$$

$$2r - 2 \geq 15$$

$$2r \geq 17$$

$$r = 8.5 \text{ (Dibulatkan 8)}$$

Dari hasil perhitungan diatas jadi pengulangan yang dilakukan dalam uji efektivitas salep ekstrak bawang putih pada penelitian adalah sebanyak 8 kali. Dari hasil tersebut maka jumlah keseluruhan sampel yang digunakan sebanyak 24 sampel, dan penempatan perlakuan yang dilakukan secara acak (random) pada seluruh percobaan.

### **C. Subjek dan Objek Penelitian**

#### **1. Subjek Penelitian**

Subjek pada penelitian ini ialah bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab penyakit radang kulit dan panelis untuk uji organoleptik.

#### **2. Objek Penelitian**

Objek pada penelitian ini ialah penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* serta respon penerimaan produk dari panelis yang terpilih.

### **D. Populasi dan Sampel Penelitian**

#### **1. Populasi Penelitian**

Pada penelitian ini populasi penelitian terbagi menjadi dua berdasarkan subjek yang diamati:

- 1) Jumlah populasi dari subjek *Staphylococcus aureus* adalah total luas bakteri *Staphylococcus aureus* yang terdapat pada biakan NB sebanyak 7,5 ml.
- 2) Jumlah populasi dari subjek manusia adalah mahasiswa dari Universitas Pasundan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Jurusan Biologi Angkatan 2014, yang berjumlah 147 orang.

#### **2. Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi dua berdasarkan subjek yang diamati:

- 1) Bakteri *Staphylococcus aureus* yang akan digunakan sebagai sampel yaitu sebanyak 100 mikromili biakan bakteri per tiap cawan petri yang akan diamati dikali jumlah pengulangan.
- 2) Mahasiswa yang akan dijadikan sebagai sampel yaitu mahasiswa yang memenuhi kriteria panelis, adapun kriteria panelis yang diajukan adalah sebagai berikut: mahasiswa dari Universitas Pasundan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Jurusan Biologi Angkatan 2014 kelas, jenis kelamin laki-laki atau perempuan, rentang umur 20-22 tahun. Dalam penentuan panelis dipilih secara acak, dengan jumlah panelis yang akan dijadikan sampel yaitu 15% dari jumlah populasi, sehingga total sampel yang diperlukan yaitu 22 orang.

## **E. Lokasi dan Waktu Penelitian**

### **1. Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di dua tempat, yaitu:

- 1) Lokasi pertama penelitian dilakukan di Laboratorium Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasundan yang terletak di Jalan Tamansari No. 6 – 8 Bandung Jawa Barat 400116.
- 2) Lokasi kedua penelitian dilakukan di Labaratorium Lingkungan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Pendidikan Indonesia yang terletak di Jalan Doktor Setiabudhi No. 229, Isola, Sukasari, Kota Bandung, Jawa Barat 40154.

### **2. Waktu Penelitian**

Waktu penelitian dilakukan kurang lebih selama 2 minggu yaitu pada bulan 18-29 Juni 2018.

## **F. Pengumpulan Data dan Instrumen Penelitian**

### **1. Teknik Pengumpulan Data**

Pada penelitian ini, teknik pengumpulan data yang digunakan adalah observasi, yaitu suatu teknik pengumpulan data dengan mengamati secara

langsung objek yang diteliti, yaitu diameter zona hambat dari ekstrak bawang putih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang terdapat pada media NB yang telah tercampur dengan ekstrak bawang putih dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 15%, 20%, 25%, 30%, 35% dan kontrol dengan DMSO 10%, satuan pengamatan dalam sentimeter (cm). Selain itu mengamati diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* produk salep ekstrak bawang putih dengan pengujian 3 perlakuan yaitu kontrol negatif (PEG 400 dan PEG 4000/basis salep), produk salep ekstrak bawang putih, dan kontrol positif (tetrasiklin/antibiotik). Menurut Sutrisno Hadi (1986) mengemukakan bahwa, observasi merupakan suatu proses yang kompleks, suatu proses yang tersusun dari berbagai proses biologis dan psikologis. Dua di antara yang terpenting adalah proses-proses pengamatan dan ingatan (Sugiyono, 2016, Hlm.203).

Sedangkan pengumpulan data pada uji organoleptik dilakukan dengan cara penyebaran angket pada panelis dengan parameter yang diukur adalah respon penerimaan dan kesukaan dari panelis terhadap produk salep ekstrak bawang putih, dimana pengujian dilakukan selama 1 hari.

## 2. Instrumen Penelitian

Menurut Emory (1985) mengemukakan bahwa pada prinsipnya meneliti adalah melakukan pengukuran terhadap fenomena sosial maupun alam. Karena pada dasarnya adalah melakukan pengukuran, maka harus ada alat ukur yang baik. Alat ukur dalam penelitian biasanya dinamakan instrumen penelitian. Jadi instrumen penelitian adalah suatu alat yang digunakan mengukur fenomena alam maupun sosial yang diamati. Secara spesifik semua fenomena ini disebut variabel penelitian (Sugiyono, 2016, Hlm. 147-148). Pada penelitian ini instrumen yang digunakan adalah jangka sorong. Dimana instrumen penelitian ini diuji judgment expert terlebih dahulu untuk mengetahui kevalidan dari instrument penelitian. Adapun formatan dalam pengambilan data berupa tabel hasil pengamatan, adalah sebagai berikut:

**Tabel 3. 1. Instrumen Uji Efektivitas Ekstrak Bawang Putih**

Hari	Perlakuan	Pengulangan	Rata-rata
------	-----------	-------------	-----------

		1	2	3	4	
1 Hari	15%					
	20%					
	25%					
	30%					
	35%					
	DMSO 10%					

**Tabel 3. 2. Instrumen Uji Efektivitas Sediaan Salep Ekstrak Bawang Putih**

Hari	Perlakuan	Pengulangan								Rata-rata
		1	2	3	4	5	6	7	8	
1 Hari	Kontrol (-)									
	Salep Ekstrak Bawang Putih									
	Kontrol (+)									

**Tabel 3. 3. Evaluasi Sediaan Salep Uji pH**

Ekstrak	pH
Bawang Putih	

**Tabel 3. 4. Evaluasian Sediaan Salep Uji Homogenitas**

Ekstrak	Homogenitas	
	Tekstur	Sifat
Bawang Putih		

**Tabel 3. 5. Evaluasi Sediaan Salep Uji Organoleptik**

Panelis	Aroma						Tekstur						Kenampakan					
	Kenampakan			Respon Suka			Tekstur			Respon Suka			Aroma			Respon Suka		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1																		
2																		
3																		
4																		
5																		
6																		
7																		
Dst.																		

Adapun indikator daya kesukaan panelis pada uji organoleptik terhadap kenampakan, tekstur dan aroma pada sediaan salep diantaranya:

1. Daya suka panelis tinggi jika,  $\geq 75\%$  panelis memilih skor 3
2. Daya suka panelis sedang jika,  $25\% > 75\%$  panelis memilih skor 2
3. Daya suka panelis rendah jika,  $\leq 25\%$  panelis memilih skor 1

Indikator uji organoleptik terhadap kenampakan, tekstur dan aroma:

1. **Kenampakan**

- a. Skor 1, jika salep bawang putih nampak putih susu
- b. Skor 2, jika salep bawang putih nampak putih kekuningan
- c. Skor 3, jika salep bawang putih nampak kuning

2. **Tekstur**

- a. Skor 1, jika tekstur salep bawang putih cair
- b. Skor 2, jika tekstur salep bawang putih semi padat
- c. Skor 3, jika tekstur salep bawang putih padat

3. **Aroma**

- a. Skor 1, jika aroma salep bawang putih tidak berbau bawang putih
- b. Skor 2, jika aroma salep bawang putih berbau bawang putih
- c. Skor 3, jika aroma salep bawang putih berbau menyengat bawang putih

**G. Teknik Analisis Data**

Setelah pengamatan dilakukan data dianalisis menggunakan ANOVA *one-way* yang selanjutnya data di uji dengan menggunakan Duncan dengan tingkat kesalahan yang digunakan adalah 5% untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan yang diujikan pada bahan. Sebelumnya data yang diperoleh terlebih dahulu dilakukan uji prasarat normalitas dan homogenitas hal ini untuk

mengetahui apakah data sudah tersebar atau berdistribusi normal dan data yang dibandingkan sudah bersifat homogen. Dalam pengujiannya analisis data dengan menggunakan aplikasi SPSS24 dalam menguji statistika data.

## H. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri dari tiga tahap kegiatan yang meliputi tahap persiapan, tahap pelaksanaan dan tahap akhir yaitu pengolahan data dan analisis data. Adapun prosedur penelitian yang dilakukan sebagai berikut:

### 1. Tahap Persiapan

- a. Menyusun proposal penelitian
- b. Menyusun surat perizinan pembelian bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.
- c. Menyusun surat perizinan melakukan penelitian di Laboratorium Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasundan Bandung dan di Laboratorium Lingkungan dan Labrotarium Bioteknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Pendidikan Indonesia.
- d. Melakukan observasi alat dan bahan yang digunakan. Mencari bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan tanaman bawang putih. Bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh dari laboratorium FMIPA UPI, sedangkan bawang putih diperoleh di kebun Panen Lestari daerah Lembang, yang selanjutnya bawang putih diidentifikasi agar dapat dipastikan bahwa bawang putih yang diperoleh merupakan komoditas yang sejenis.
- e. Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian, yaitu:

**Tabel 3. 6. Alat dan Bahan**

No.	Nama Alat dan Bahan	Fungsi	Jumlah
1.	Petri Disk	Untuk inokulasi biakan bakteri	7 Buah



No.	Nama Alat dan Bahan	Fungsi	Jumlah
2.	Autoclave	Untuk mensterilkan alat yang akan digunakan	1 Buah
3.	Neraca	Untuk menimbang bahan-bahan	1 Buah
4.	Inkubator	Untuk menyimpan biakan bakteri	1 Buah
5.	Nampan	Untuk menyimpan bawang putih yang telah di iris	1 Buah
6.	Pisau	Untuk mengiris bawang putih	1 Buah
7.	Oven	Untuk mengeringkan bawang putih	1 Buah
8.	Blender	Untuk menghaluskan bawang putih yang sudah di oven	1 Buah
9.	Saringan mes 100	Untuk menyaring serbuk bawang putih agar mendapat hasil yang lebih halus	1 Buah
10.	Plastik	Untuk menyimpan bawang putih yang sudah halus	Secukupnya
11.	Kertas cakram	Media rendaman ekstrak untuk uji efektivitas	Secukupnya
12.	Beker glass 2000 mL	Untuk merendam serbuk bawang putih dengan etanol 90%	2 Buah
13.	Gelas Ukur	Untuk mengukur bahan cair yang diperlukan	1 Buah
14.	Sendok pengaduk	Untuk mengaduk rendaman bawang putih agar homogen	1 Buah
15.	Rotatory vacuum evaporator	Untuk membuat ekstrak murni bawang putih	1 Buah
16.	Tabung reaksi	Untuk menyimpan KNA cair	10 Buah
17.	Kain kasa	Untuk menutup tabung reaksi berisi KNA	Secukupnya
18.	Rapping	Untuk menutup bahan agar tidak terkontaminasi bakteri lain	Secukupnya
19.	Kertas Saring	Untuk menyaring ekstrak bawang putih yang sudah direndam selama 24 jam	Secukupnya
20.	Botol	Untuk menyimpan air hasil rendaman bawang putih	2 Buah
21.	Mikropipet	Untuk mengambil bahan cair dalam skala kecil	1 Buah
22.	Gelas arloji	Untuk mengupas bawang putih.	3 Buah
23.	Botol Kecil	Untuk menyimpan hasil ekstraksi bawang putih	6 Buah
24.	Spatula	Untuk memindahkan ekstrak yang sudah jadi juga mengambil bahan-bahan yang diperlukan	1 Buah
25.	<i>Magnetic heated stirer</i>	Untuk mengaduk bahan agar tercampur merata.	1 Buah

No.	Nama Alat dan Bahan	Fungsi	Jumlah
26.	Karet	Untuk mengikat plastik agar rapat dan tidak ada udara.	Secukupnya
27.	Tissue	Untuk mengelap bagian-bagian yang kotor.	Secukupnya
28.	Jangka Sorong	Untuk mengukur diameter zona hambat	1 Buah
29.	Pinset	Mangambil kerts cakram	3 Buah
30.	Corong	Tempat menyaring atau meletakkan kertas saring	1 Buah
31.	Tips	Sebagai ukuran dalam menggunakan mikropipet	Secukupnya
32.	Buku catatan	Untuk mencatat data hasil pengamatan.	1 Buah
33.	Stik Indikator Universal	Untuk mengukur pH	1 Buah
34.	Beker glas 500 mL	Untuk menyimpan bahan-bahan yang digunakan	6 Buah
35.	Botol kecil salep	Untuk menyimpan produl salep yang sudah jadi	1 Buah
36.	Bawang putih	Sebagai bahan subjek penelitian	2 kg
37.	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Sebagai objek yang diamati.	2 cawan petri.
38.	Etanol 95%	Sebagia campuran ekstrak bawang putih dan untuk memisahkan zat yang terkandung di dalam ekstrak bawang putih.	4 Liter
39.	Alkohol 70%	Agar tetap steril	Secukupnya
40.	<i>Nutrient Broth (NB)</i>	Sebagai media untuk pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	60 ml
41.	KNA (Kaldu Nutrien Agar)	Media untuk isolasi dan pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	60 ml
42.	Aquades	Sabagai campuran PDA dan ekstrak bawang putih untuk pembuatan konsentrasi.	1000 ml
43.	Polietelin Glikol (PEG 400)	Serbuk	17,48 gram
44.	Polietelin Glikol (PEG 4000)	Serbuk	7,46 gram
45.	Tetrasiklin	Sebagai antibiotik	100 ppm
46.	Larutan DMSO 10%	Sebagai kontrol	Secukupnya
47.	Spirtus	Cair	Secukupnya

## 2. Tahap Pelaksanaan

Tahap kedua yaitu tahap pelaksanaan penelitian yang didalamnya mencakup metode cakram difusi agar, sterilisasi alat, ekstraksi bawang putih, pembuatan medium (KNA, dan NB), uji *in vitro* penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

### 1. Metode Cakram Difusi Agar

Metode cakram difusi agar (*Agar Disk Diffusion Test*) merupakan cara untuk menentukan sensitivitas bakteri terhadap antimikroba juga antibiotik, yaitu dengan cara menginokulasi biakan pada pelat agar dan membiarkan antibiotik berdifusi pada medium agar. Cakram yang telah mengandung antibiotik diletakkan di permukaan pelat agar yang mengandung organisme yang diuji. Efektivitas dapat terlihat dengan adanya zona hambat. Zona hambatan tampak sebagai area jernih atau bersih yang mengelilingi cakram tempat zat dengan aktivitas antimikroba terdifusi. Diameter zona dapat diukur dengan jangka sorong.

### 2. Sterilisasi Alat Dan Bahan.

Alat dan bahan yang sudah disediakan dimasukan kedalam plastik anti panas dan diikat dengan karet agar kedap udara dan rapih. Isi *Autoclave* dengan air secukupnya. Kemudian masukan alat dan bahan yang sudah diikat rapih karet kedalam *autoclave* yang berada di Laboratorium Lingkungan Bioteknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Pendidikan Indonesia dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit. Setelah 15 menit keluarkan alat dan bahan dari dalam *autoclave* dan siap untuk digunakan.

### 3. Ekstraksi Bawang Putih

Bawang putih diperoleh di pasar sebanyak 2 kg kemudian dikupas lalu diiris. Setelah dikupas bawang putih kemudian di jemur selama 3 hari lalu di oven selama 30menit dengan suhu 150<sup>0</sup>C sampai kering. Setelah kering blender bawang putih hingga halus, kemudian serbuk bawang putih disaring dengan menggunakan saringan mes 100. Timbang serbuk sebanyak 250 gr kemudian

direndam dalam etanol 95% sebanyak 1750 ml selama 24 jam dengan perbandingan 1:5. Setelah 24 jam, air rendaman bawang putih disaring dengan menggunakan kertas saring agar serbuk dengan airnya terpisahkan, setelah penyaringan selesai dilakukan, kemudian ekstrak bawang putih di uapkan memakai alat *Rotatory vacuum evaporator* yang berada di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

Setelah ekstrak bawang putih selesai di *rotatory vacuum evaporator* kemudian dibuatkan konsentrasi menjadi beberapa konsentrasi dengan rumus:

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

Keterangan :

$V_p$  = Volume larutan pekat

$K_p$  = Konsentrasi larutan pekat

$V_e$  = Volume larutan encer

$K_e$  = Konsentrasi larutan encer

(Suhara, 2014).

1) Pembuatan konsentrasi 15%

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

$$100.K_p = 15.2$$

$$= 30/100$$

$$= 0.3 \text{ ml ekstrak bawang putih } 1.7 \text{ ml DMSO } 10\%$$

2) Pembuatan ekstrak 20%

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

$$100.K_p = 20.2$$

$$= 40/100$$

$$= 0.4 \text{ ml ekstrak bawang putih } 1.6 \text{ ml DMSO } 10\%$$

3) Pembuatan ekstrak 25%

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

$$100.K_p = 25.2$$

$$= 50/100$$

$$= 0.5 \text{ ml ekstrak bawang putih } 1.5 \text{ ml DMSO } 10\%$$

4) Pembuatan ekstrak 30%

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

$$100.K_p = 30.2$$

$$= 60/100$$

$$= 0.6 \text{ ml ekstrak bawang putih } 1.4 \text{ ml DMSO } 10\%$$

5) Pembuatan ekstrak 35%

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

$$100.K_p = 35.2$$

$$= 70/100$$

$$= 0.7 \text{ ml ekstrak bawang putih } 1.3 \text{ ml DMSO } 10\%$$

4. Pembuatan KNA (Kaldu Nutrisi Agar)

Pertama buatlah ekstrak daging sebanyak 0,5 kg direbus dalam air 1000 ml. Ekstrak daging direbus hingga volume air menjadi setengahnya atau kurang lebih ekstrak daging direbus selama 1 – 2 jam. Setelah itu saring ekstrak daging dengan menggunakan kertas saring, kemudian tambahkan aquades hingga volume menjadi 1000 ml. Masukkan pepton 10 g, NaCl 5 gr, dan agar-agar 15 gr kemudian panaskan hingga mendidih selama 15 menit dengan menggunakan *magnetic stirrer with hotplate*. Ukur pH, usahakan pH menjadi 6,8 – 7,3. Setelah itu buatlah agar diri dan agar miring dengan menggunakan tabung reaksi. Untuk agar diri setiap tabung reaksi diisi suspensi agar sebanyak 12 – 15 ml. Sedangkan untuk agar miring setiap tabung reaksi diisi dengan suspensi agar sebanyak 3 -5 ml. Kemudian tutup tabung reaksi dengan kapas sebaik mungkin, sterilkan tabung dan cawan petri dengan menggunakan autoclave selama 15 – 20 menit pada suhu 121<sup>0</sup>C. Setelah disterilkan, untuk agar diri dibiarkan dalam keadaan tegak dan untuk agar miring diletakan dalam keadaan miring, biarkan sampai dingin (Ammi, Yanti, & Kusnadi, n.d.).

5. Pembuatan *Nutrient Broth (NB)*

Campurkan ekstrak daging dan pepton sebanyak 2 gr, lalu tambahkan aquades sampai 250 ml kemudian didihkan di *magnetic stirrer hotplate*. Setelah

itu masukkan ke dalam Erlenmeyer ukur pH , usahakan pH menjadi 6,8 – 7,3. Setelah itu masukkan kedalam tabung reaksi, 12 – 15 ml untuk agar diri dan 3 – 5 ml untuk agar miring. Tutup tabung dengan kapas yang dibungkus dengan pembungkus. Kemudian sterilkan suspensi dalam media *autoclave* selama 15 – 20 menit pada suhu 121<sup>0</sup>C. Setelah disterilkan biakan bakteri pada suspensi tersebut dan simpan pada *magnetic heated stirer*.

#### 6. Uji *in vitro* Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Ekstrak Bawang Putih

Pengujian dilakukan dengan menyiapkan medium KNA cair dan seri konsentrasi yang akan diujikan untuk uji *in vitro*. Seri konsentrasi yang digunakan yaitu 15%, 20%, 25%, 30%, 35% dan kontrol dengan DMSO 10%. Setelah itu KNA dicairkan lalu dituangkan ke dalam cawan petri dan selanjutnya bakteri diinokulasi dengan menggunakan ose. Kemudian dihomogenkan dengan cara menggosokkan ose pada media KNA agar bakteri tersebar merata keseluruhan permukaan media KNA yang telah memadat. Setelah itu, pada cawan petri diberi label pada setiap area dan diletakan kertas cakram yang sudah direndam dengan ekstrak bawang putih. Setelah itu cawan petri dibungkus dengan plastik dan direkatkan dengan karet. Kemudian diinkubasi pada suhu 22 – 30<sup>0</sup>C selama 1 X 24 jam. Parameter yang diamati adalah diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan jangka sorong.

#### 7. Pembuatan Produk Salep Ekstrak Bawang Putih

Setelah konsentrasi ekstrak bawang putih diketahui efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, maka konsentrasi tersebut dijadikan sebagai acuan dalam pembuatan produk antibakteri alami dari ekstrak bawang putih untuk mengobati radang kulit salah satunya penyakit bisul yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. PEG 4000 dilelehkan di atas pemanas air sebanyak 7,48 gram. Setelah cair, PEG 4000 dituangkan ke dalam mortir hangat dan ditambahkan PEG 400 sebanyak 17,46

gram sedikit demi sedikit. Basis salep ditambahkan dengan ekstrak bawang putih sebanyak 0.1 gram ke dalam campuran basis. Campuran tersebut diaduk sampai terbentuk massa salep yang dan homogen, salep dikemas dalam wadah yang tertutup.

8. Uji *in vitro* Sediaan Salep Ekstrak Bawang Putih Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pengujian dilakukan dengan menyiapkan medium KNA cair dan seri konsentrasi yang akan diujikan untuk uji *in vitro*. Sediaan salep yang digunakan dengan menggunakan ekstrak konsentrai yang paling efektif pada pengujian ekstrak bawang putih. Setelah itu KNA cair dan masukan 100 mikromili biakan bakteri ke dalam cawan petri. Kemudian dihomogenkan dengan cara diputar dengan pola angka 8. Setelah pada cawan petri diberi label pada setiap area dan diletakan kertas cakram yang sudah direndam dengan sediaan salep ekstrak bawang putih yang sebelumnya telah dilarutkan dengan aquades. Setelah itu cawan petri dibungkus dengan plastik dan direkatkan dengan karet. Kemudian diinkubasi pada suhu 22 – 30<sup>0</sup>C selama 1 X 24 jam. Parameter yang diamati adalah diameter koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan jangka sorong.

9. Evaluasi Sediaan Salep Ekstrak Bawang Putih (Uji pH, Uji Homogenitas, dan Uji Organoleptik)

a. Uji pH

Sediakan sediaan salep sebanyak 0,5 gram pada gelas arloji. Setelah itu larutkan dengan aquades sebanyak 5 ml. Setelah sediaan salep larut, uji dengan menggunakan stik indikator universal. Dan lihat hasilnya.

b. Uji Homogenitas

Oleskan sediaan salep pada sekeping kaca transparan, dimana sediaan salep diambil bagian atas, tengah dan bawah. Lalu amati apakah pada sediaan salep tersebut terdapat bulir-bulir atau tidak.

c. Uji Organoleptik

Diamati kenampakan, warna dan aroma dari salep ekstrak bawang putih melalui respon hasil wawancara dengan subjek, dilakukan dalam waktu 1 hari.

#### 10. Pengambilan Data

Parameter pertama yang diamati adalah diameter daya hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*, dengan satuan pengamatan cm. Dalam pengamatan digunakan jangka sorong. Selanjutnya data hasil pengamatan ditulis dalam tabel instrumen penelitian. Parameter kedua yang diamati adalah daya penerimaan masyarakat, data hasil wawancara ditulis dalam tabel instrumen penelitian.

### **3. Tahap Akhir**

#### 1. Pengolahan dan Analisis Data

Setelah diketahui efektivitas ekstrak bawang putih serta salep ekstrak bawang putih terhadap potensi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* serta telah diketahui respon dari penerimaan masyarakat terhadap produk salep ekstrak bawang putih maka dilakukan pengolahan data menggunakan teknik analisis data yang sebelumnya telah ditentukan.

#### 2. Membuat Kesimpulan dan Hasil

Hasil dan pengolahan analisis data selanjutnya dibuat menjadi sebuah kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan.