

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen, yaitu penelitian yang dilakukan dengan memberikan perlakuan terhadap objek penelitian serta adanya kontrol penelitian. Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan apa-apa yang akan terjadi bila variabel-variabel tertentu dikontrol atau dimanipulasi secara tertentu. Fokus penelitian pada ukuran antar variabel.⁵⁵ Sedangkan rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), karena faktor kondisi lingkungan dapat diseragamkan (*homogen*), kecuali faktor perlakuan yang diberikan. Oleh karena dasar teoritis penyusunan jarak dan tingkat perlakuan belum ada, berdasarkan hasil uji pendahuluan pada umur 1 x 24 jam dengan konsentrasi 70% terlihat bahwa daerah hambat yang tampak sebesar 1,05 mm, daerah yang tampak tersebut merupakan daerah hambat tertinggi dari hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan. Maka dari itu berdasarkan teori perancangan himpunan perlakuan bahwa perlakuan yang diperkirakan akan berpengaruh paling baik selaras dengan hipotesis yang diajukan sebelum penelitian harus diletakkan di antara minimal 2 perlakuan lain yang bertaraf lebih rendah dan lebih tinggi, tetapi diperkirakan mempunyai pengaruh kurang baik dibanding perlakuan

⁵⁵Mardalis, *Metode Penelitian suatu pendekatan proposal*, Jakarta : Bumi Aksara, 2004, h. 26

hipotesis tersebut.⁵⁶ Oleh sebab itu konsentrasi ekstrak daun panamar gantung pada penelitian ini disusun menjadi 7 taraf, yaitu :

- S₀ = aquades steril tanpa ekstrak daun panamar gantung 0%
- S₁ = konsentrasi ekstrak daun panamar gantung 40%
- S₂ = konsentrasi ekstrak daun panamar gantung 50%
- S₃ = konsentrasi ekstrak daun panamar gantung 60%
- S₄ = konsentrasi ekstrak daun panamar gantung 70%
- S₅ = konsentrasi ekstrak daun panamar gantung 80%
- S₆ = konsentrasi ekstrak daun panamar gantung 90%

Sedangkan jumlah ulangan ditentukan berdasarkan rumus Federer yaitu : $(t-1)(r-1) \geq 15$, dimana t adalah perlakuan dan r adalah ulangan.⁵⁷ Berdasarkan hal tersebut maka diperoleh jumlah ulangan sebanyak 3 kali, sehingga total unit penelitian ini adalah 7 taraf x 3 ulangan = 21 unit. Tujuan dilakukannya ulangan ini yaitu untuk memperkecil tingkat kesalahan yang akan terjadi. Adapun perhitungan ulangan adalah sebagai berikut :

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

$$(7 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$6r - 6 \geq 15$$

$$6r \geq 15 + 6$$

$$r \geq \frac{21}{6}$$

$$r \geq 3,5 = 3$$

⁵⁶Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*, Jakarta : Rajawali Pers, 2010, h. 6.

⁵⁷*Ibid.* h. 9.

B. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah keseluruhan objek penelitian. Sedangkan sampel penelitian adalah sebagian atau wakil populasi yang diteliti.⁵⁸

1. Populasi dan Sampel untuk *Staphylococcus aureus*

Populasi *Staphylococcus aureus* pada penelitian ini adalah seluruh mikroorganisme *Staphylococcus aureus* yang telah ditumbuhkan pada medium NB (*Nutrien borth*) sebanyak 4 tabung, sedangkan sampel *Staphylococcus aureus* pada penelitian ini adalah seluruh mikroorganisme *Staphylococcus aureus* sebanyak 4 tabung pada medium NB (*Nutrien broth*) yang ditumbuhkan pada 21 medium lempeng NA (*Nutrien agar*). Dimana pembuatanya dilaksanakan di Laboratorium Biologi Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya.

2. Populasi dan Sampel Daun Panamar Gantung (*Tinospora crispa* L.)

Populasi daun panamar gantung pada penelitian ini adalah seluruh tanaman panamar gantung yang terdapat di wilayah Kota Palangka Raya, sedangkan sampel daun panamar gantung pada penelitian ini adalah sebagian tanaman panamar gantung yang diambil dari Desa Klampangan dan lingkungan POLTEKES Palangka Raya sebanyak 2 Kg.

⁵⁸Suharsimi Arikunto, *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek*, Yogyakarta : Rineka Cipta, 2002, h. 108.

C. Instrumen Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Alat-alat yang digunakan adalah :

Tabel 3.1 Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Alat	Jumlah
1	Mikropipet	1 buah
2	<i>Hand sprayer</i> 200 ml	1 buah
3	Beaker glass 250 ml	2 buah
4	Beaker glass 50 ml	7 buah
5	Beaker glass 200 ml	2 buah
6	Beaker glass 500 ml	2 buah
7	Labu erlenmeyer 500 ml	2 buah
8	Labu erlenmeyer 250 ml	2 buah
9	Labu erlenmeyer 1000 ml	2 buah
10	Gelas ukur 25 ml	1 buah
11	Gelas ukur 100 ml	1 buah
12	Inkubator	1 buah
13	Pisau	1 buah
14	Pinset	1 buah
15	Cawan petri	23 buah
16	Jarum inokulasi berkelong	2 buah
17	Jangka sorong	1 buah
18	Ember	4 buah
19	Tabung reaksi	8 buah
20	Lampu spiritus	4 buah
21	Corong kaca	1 buah
22	Panci	1 buah
23	Autoklaf	1 buah
24	<i>Lup</i>	1 buah
25	<i>Oven</i>	1 buah
26	Kulkas	1 buah
27	Timbangan digital	1 buah
28	Blender	1 buah
29	Korek api	1 buah
30	Kompor	1 buah
31	LAF	1 buah
32	<i>Hot Plate Stirer</i>	2 buah
33	Sarung Tangan	2 buah
34	Baskom	2 buah

35	Saringan/Penyaring	4 buah
36	Kotak plastik	1 buah
37	Sapu tangan	2 buah
38	Baki	4 buah
39	Pipet tetes	10 buah
40	Gunting	4 buah
41	Magnetik stirer	1 buah

2. Bahan-bahan yang digunakan adalah :

Tabel 3.2 Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Bahan	Jumlah
1	Daun panamar gantung	2000 gr
2	<i>Agar powder</i>	4,125 gr
4	<i>Beef extract</i>	1,575 gr
5	<i>Becto Peptone</i>	2,625 gr
5	Alkohol 96%	8000 ml
7	Aquades	2 botol
8	Kapas	2 gulung
9	Vaselin	Secukupnya
10	Kultur murni <i>Staphylococcus aureus</i>	1 tabung
11	Kertas saring	2 lbr
12	Kasa	2 pak
13	Kertas kraf	10 lbr
14	Kertas tempel	4 buah
15	Karet gelang	100 buah
16	Alkohol 70 %	1000 ml
17	Lysol	Secukupnya
18	Spiritus	1 ltr
19	Alumunium foil	1 gulung
20	<i>Cotton buds</i>	Secukupnya

D. Teknik Pengumpulan Data

Pengambilan data dari hasil penelitian dilakukan pada saat biakan *Staphylococcus aureus* yang masing-masing berjumlah 21 cawan petri yang berumur 1 x 24 jam, 2 x 24 jam, 3 x 24 jam, dan 4 x 24 jam setelah pemberian perlakuan. Data diambil dari semua unit penelitian, yaitu berupa hasil

pengukuran lebar daerah hambat (dengan satuan mm), yang dimaksud dengan daerah hambat disini adalah jarak antara sisi terluar *paper disc* yang mengandung ekstrak daun panamar gantung dengan koloni biakan *Staphylococcus aureus* dipermukaan medium lempeng NA (*nutrien agar*). Dalam hal ini yang diukur adalah jarak koloni biakan *Staphylococcus aureus* yang terdekat dengan *paper disc*.

E. Teknik Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan untuk menguji hipotesis adalah Anava (analisis varians). Langkah-langkah pengujian hipotesis menggunakan Anava (analisis varians) yaitu data yang dikumpulkan seluruhnya dimasukkan ke dalam tabel data hasil penelitian, seperti di bawah ini :

Tabel 3.3 Contoh tabel data hasil pengamatan

No	Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
		1	2	3		
1	S ₀					
2	S ₁					
3	S ₂					
4	S ₃					
5	S ₄					
6	S ₅					
7	S ₆					
Total						

1. Menghitung faktor koreksi (FK) :

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{T_{ij}^2}{r \times t}$$

2. Menghitung jumlah kuadrat (JK) :

$$JK_{\text{Total}} = T(Y_{ij})^2 - FK$$

$$JK_{\text{Perlakuan}} = \frac{TA^2}{r} - FK$$

$$JK_{\text{Galat}} = JK_{\text{Total}} - JK_{\text{Perlakuan}}$$

3. Menghitung derajat bebas (db) :

$$Db_{\text{Perlakuan}} = t - 1$$

$$Db_{\text{Galat}} = (rt - 1) - (t - 1)$$

$$Db_{\text{Total}} = rt - 1$$

4. Menghitung kuadrat tengah (KT) :

$$KT_{\text{Perlakuan}} = \frac{JK_{\text{perlakuan}}}{V1=Db_{\text{Perlakuan}}}$$

$$KT_{\text{Galat}} = \frac{JK_{\text{galat}}}{V2=Db_{\text{Galat}}}$$

5. Menghitung harga F hitung :

$$F_{\text{Hitung}} = \frac{KT_{\text{perlakuan}}}{KT_{\text{galat}}}$$

6. Menghitung harga koefisien keragaman (KK) :

Koefisien keragaman merupakan suatu koefisien yang menunjukkan derajat kejituan (*precision* atau *accuracy*) dan keandalan kesimpulan/hasil yang diperoleh dari suatu percobaan, yang merupakan deviasi baku per unit percobaan dan dinyatakan dalam satuan persen (%). Secara umum dapat dikatakan bahwa jika KK makin kecil dalam batas tertentu berarti derajat kejituan dan keandalan akan makin tinggi dan akan makin tinggi pula keabsahan (validitasnya). Rumus menghitung KK adalah :

$$KK = \frac{\sqrt{KT \text{ galat}}}{Y} \times 100\%$$

$$Y = \frac{T_{ij}}{rt} = \frac{\sum Y_{ij}}{rt}$$

Hubungan nilai KK dan macam uji beda yang sebaiknya dipakai yaitu :

- a. Jika KK besar, (minimal 10% pada kondisi homogen atau minimal 20% pada kondisi heterogen), uji lanjutan yang sebaiknya digunakan adalah uji Duncan, karena uji ini dapat dikatakan yang paling teliti.
- b. Jika KK sedang, (antara 5-10% pada kondisi homogen atau antara 10-20% pada kondisi heterogen), uji lanjutan yang sebaiknya dipakai adalah uji BNT (Beda Nyata Terkecil) karena uji ini dapat dikatakan juga berketelitian sedang.
- c. Jika KK kecil (maksimal 5% pada kondisi homogen atau maksimal 10% pada kondisi heterogen), uji lanjutan yang sebaiknya dipakai adalah uji BNJ (Beda Nyata Jujur) karena uji ini tergolong kurang teliti.

7. Membuat tabel ringkasan analisis variansi :

Tabel 3.4 Contoh tabel ringkasan analisis variansi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F _{Hitung}	F _{Tabel}
					5%
Perlakuan					
Galat					
Total					

Keterangan :

- * = Berbeda Nyata
- Tn = Tidak berbeda nyata

8. Pengujian hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini disusun dalam bentuk hipotesis statistik, yaitu :

H_0 = Perlakuan pemberian konsentrasi ekstrak daun panamar gantung tidak mempunyai pengaruh nyata terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

H_1 = Perlakuan pemberian konsentrasi ekstrak daun panamar gantung mempunyai pengaruh nyata terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

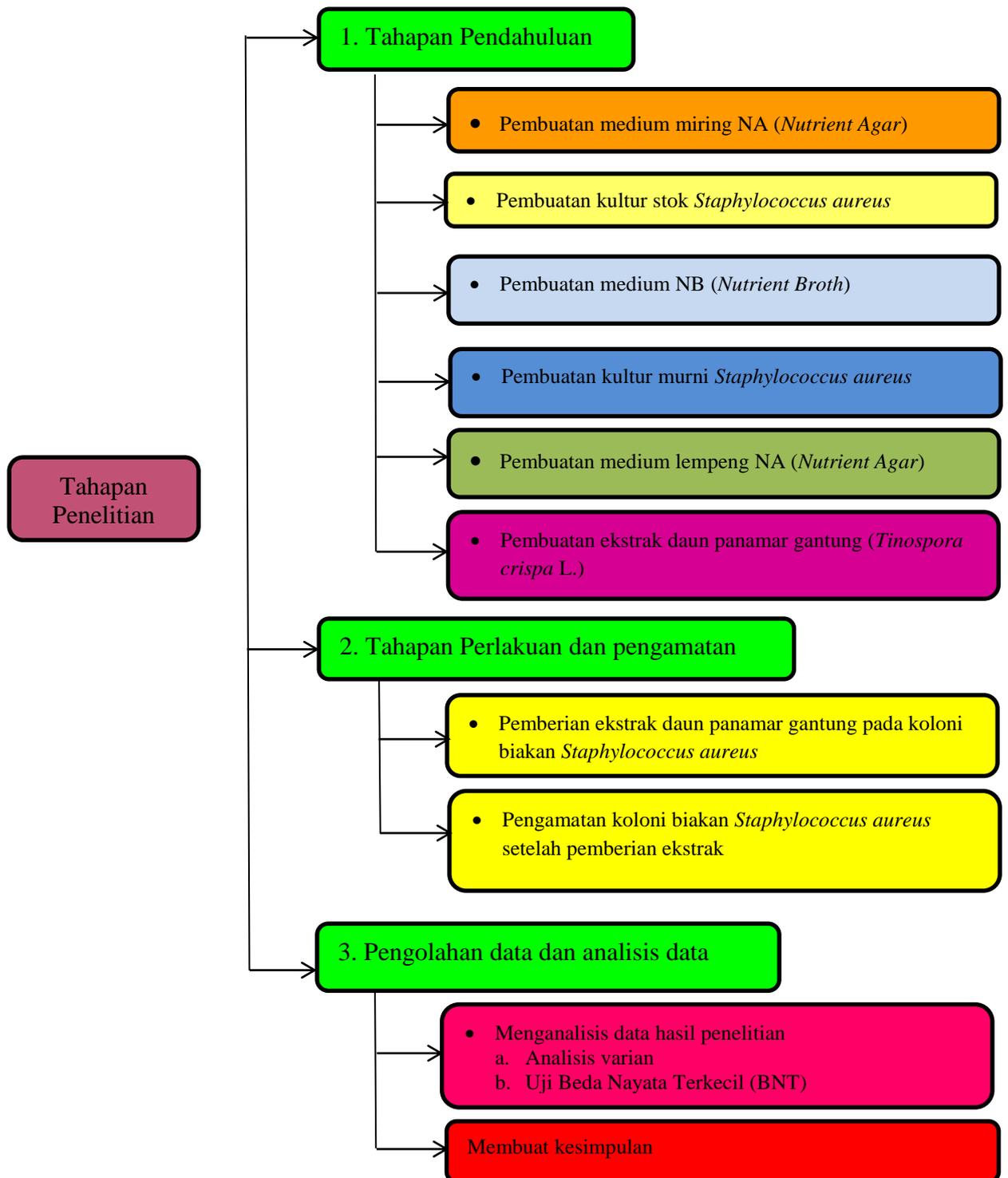
Hipotesis statistik ini diuji dengan cara membandingkan harga F_{hitung} dengan F_{tabel} . Adapun kriteria pengujian hipotesis adalah sebagai berikut :

- 1) Jika harga $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ 5% berarti H_0 diterima, sedangkan H_1 ditolak dan dinyatakan bahwa perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh nyata.
- 2) Jika harga $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ 5% berarti H_0 ditolak, sedangkan H_1 diterima dan dinyatakan bahwa perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata.⁵⁹

F. Diagram Alur Penelitian

Langkah-langkah dalam penelitian ini diawali dengan tahapan pendahuluan, perlakuan dan pengamatan, serta pengolahan data dan analisis data yang dijelaskan dalam diagram pada Gambar 3.1 berikut :

⁵⁹Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*, Jakarta : Rajawali Pers, 2010, h. 36-41.



Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian

G. Jadwal Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 01 April 2014 sampai dengan tanggal 01 Juni 2014. Jadwal kegiatan penelitian disusun dalam Tabel 3.5 sebagai berikut :

Tabel 3.5 Jadwal Penelitian

No	Kegiatan	Bulan																																	
		Desember				Maret				April				Mei				Juni				Juli		Ags		Sep									
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	1	2						
1	Persiapan a. Persiapan dan penyusunan instrumen penelitian b. Seminar proposal c. Revisi proposal d. Perijinan	v									v																								
2	Pelaksanaan penelitian a. uji pendahuluan b. pelaksanaan penelitian dan pengambilan data			v	v							v	v	v	v																				
3	Penyusunan laporan a. analisis data b. pembuatan laporan (pembahasan) c. ujian d. revisi															v	v			v	v	v	v	v	v								v		v

H. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini dilakukan dalam 2 tahapan, meliputi tahapan pendahuluan dan tahapan perlakuan, dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Tahapan Pendahuluan

a. Pembuatan medium miring NA (*Nutrien Agar*)

- 1) Menyiapkan alat-alat yang bersih, kering, dan steril.
- 2) Menimbang komponen medium dengan menggunakan timbangan analitis untuk volume yang diinginkan (4 tabung reaksi), yaitu :
 - a) *Beef extract* 0,075 gr
 - b) *Becto Peptone* 0,125 gr
 - c) *Agar powder* 0,375 gr
 - d) Akuades 25 ml
- 3) Melarutkan *beff extract*, *becto peptone*, dan *agar powder* pada aquades tersebut dengan mengaduk secara konstan dan diberi panas dengan menggunakan *hot plate stirrer* \pm 15 menit atau sampai homogen.⁶⁰
- 4) Memasukan larutan ke dalam 4 tabung reaksi sebanyak 5 ml per tabung setelah itu menutup masing-masing tabung dengan sumbat kapas yang telah dibungkus kain kasa, dan kemudian diletakkan di dalam gelas selai yang berisi air.

⁶⁰*Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar*, Purwokerto : Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman, 2008, h.14-15.

- 5) Mensterilisasikan seluruh tabung reaksi (4 tabung) yang sudah berisi larutan ke dalam autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 lb (pound) selama 15 menit.
- 6) Setelah proses sterilisasi selesai, meletakkan tabung reaksi dalam keadaan miring dengan kemiringan $45^{\circ} \pm 1,5$ Jam.
- 7) Selanjutnya medium disimpan dan dibiarkan selama 2 x 24 jam di dalam lemari pendingin. Jika medium terkontaminasi maka sterilisasi diulang kembali, sebaliknya jika medium tidak terkontaminasi (tercemar) maka medium telah siap untuk dipergunakan.⁶¹

b. Pembuatan Medium NB (*Nutrient Broth*)

- 1) Menyiapkan alat-alat yang bersih, kering, dan steril.
- 2) Menimbang komponen medium dengan menggunakan neraca digital untuk volume yang diinginkan (4 tabung reaksi), yaitu :
 - *Beef extract* 0,075 gr
 - *Becto pepton* 0,125 gr
 - Aquades 25 ml
- 3) Melarutkan *beef extract* dan *becto pepton* ke dalam akuades.⁶²

⁶¹Fressty Yoesnita Affianti, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sombung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*”, Palangka Raya : Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 47-48, t.d.

⁶²*Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar*, Purwokerto : Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman, 2008, h.14.

- 4) Mengaduk larutan *beef extract* dan *becto pepton* secara konstan dan meletakkannya di atas *hot plate* selama ± 15 menit atau sampai homogen.
- 5) Memasukan larutan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml per tabung setelah itu menutup masing-masing tabung dengan sumbat kapas yang telah dibungkus kain kasa, dan kemudian diletakkan di dalam gelas selai yang berisi air.
- 6) Mensterilkan seluruh tabung reaksi (4 tabung) yang sudah berisi larutan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lb (pound) selama 15 menit.
- 7) Setelah proses sterilisasi selesai, selanjutnya medium disimpan dan dibiarkan selama 2 x 24 jam di dalam lemari pendingin. Jika medium terkontaminasi maka sterilisasi diulang kembali, sebaliknya jika medium tidak terkontaminasi maka medium telah siap untuk digunakan.⁶³

c. Pembuatan Kultur stok *Staphylococcus aureus*

Pembuatan kultur stok *Staphylococcus aureus* yang langkah-langkahnya sebagai berikut :

- 1) Menyediakan 4 buah medium miring NA (*Nutrien agar*).
- 2) Menyiapkan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang akan diremajakan.

⁶³Fressty Yoesnita Affianti, *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sombung (Blumea balsamifera (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Salmonella sp. dan Escherichia coli*, Palangka Raya, Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 48-49.

- 3) Menulis nama koloni bakteri pada medium miring yang telah dipersiapkan.
- 4) Secara aseptik menginokulasikan koloni bakteri tersebut ke medium miring, dengan arah zig-zag mulai dari permukaan medium miring bagian bawah menuju ke atas.
- 5) Menyimpan koloni bakteri tersebut ke dalam inkubator dengan suhu yang telah disesuaikan yaitu 33°C, selama 2 x 24 Jam.⁶⁴

d. Pembuatan kultur murni *Staphylococcus aureus*

Pembuatan kultur murni *Staphylococcus aureus* yang langkah-langkahnya sebagai berikut :

- 1) Menyediakan 4 buah medium NB (*nutrien broth*).
- 2) Menyiapkan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang akan diremajakan.
- 3) Menulis nama koloni bakteri pada medium NB (*nutrien broth*). yang telah dipersiapkan.
- 4) Secara aseptik menginokulasikan koloni bakteri tersebut ke medium NB (*nutrien broth*).
- 5) Menyimpan koloni bakteri tersebut ke dalam inkubator dengan suhu yang telah disesuaikan yaitu 33°C, selama 2 x 24 Jam.⁶⁵

⁶⁴Fressty Yoesnita Affianti, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sombung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*”, Palangka Raya : Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 49, t.d.

⁶⁵*Ibid*, h. 49, t.d.

e. Pembuatan medium lempeng NA (*Nutrien Agar*)

- 1) Menyiapkan alat-alat yang bersih, kering, dan steril.
- 2) Menimbang komponen medium dengan menggunakan timbangan analitis untuk volume yang diinginkan, yaitu :
 - a) *Beef extract* 0,75 gr
 - b) *Becto Peptone* 1,25 gr
 - c) *Agar powder* 3,75 gr
 - d) Akuades 250 ml
- 3) Melarutkan *beff extract*, *becto peptone*, dan *agar powder* pada aquades tersebut dengan mengaduk secara konstan dan diberi panas dengan menggunakan *hot plate stirrer* \pm 15 menit atau sampai homogen.⁶⁶
- 4) Memasukan larutan ke dalam 21 cawan petri sebanyak 10 ml per cawan setelah itu membungkusnya masing-masing dengan kertas kraft (kertas sampul coklat).
- 5) Mensterilisasikan seluruh cawan petri (21 cawan) yang sudah berisi larutan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lb (pound) selama 15 menit.
- 6) Setelah proses sterilisasi selesai, cawan petri yang berisi larutan dibiarkan \pm 1,5 Jam, agar medium memadat.
- 7) Selanjutnya bahan-bahan disimpan dan dibiarkan selama 2 x 24 jam di dalam lemari pendingin (bagian cawan yang berisi

⁶⁶*Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar*, Purwokerto : Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman, 2008, h.14-15.

medium diletakan dibagian atas). Jika medium terkontaminasi maka sterilisasi diulang kembali, sebaliknya jika medium tidak terkontaminasi (tercemar) maka medium telah siap untuk dipergunakan.⁶⁷

f. Penyiapan ekstrak daun panamar gantung (*Tinospora crispa* L.)

Langkah-langkah kerja dalam menyiapkan ekstrak daun panamar gantung adalah sebagai berikut :

- 1) Menyiapkan dan mencuci 2000 gr daun panamar gantung yang segar sampai bersih, lalu diiris-iris kasar dengan ukuran \pm 2 cm.
- 2) Memblender irisan kasar daun panamar gantung dengan menambahkan 8000 ml alkohol 96%, kemudian didiamkan selama 3 Jam.
- 3) Memeras suspensi tersebut dengan menggunakan sapu tangan steril, kemudian menyaringnya kembali dengan menggunakan kertas saring.
- 4) Hasil saringan diuapkan menggunakan *hot plate* dengan suhu 60 - 70°C hingga didapat ekstrak daun panamar gantung murni.
- 5) Ekstrak daun panamar gantung murni kemudian dijadikan stok induk.

⁶⁷Fressty Yoesnita Affianti, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sombung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*”, Palangka Raya: Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 47-48, t.d.

- 6) Menyiapkan 10 ml ekstrak daun panamar gantung dengan konsentrasi 90%, yaitu dengan cara mencampurkan 9 ml stok induk ekstrak daun panamar gantung dengan 1 ml akuades steril, yang bagian daun panamar gantung adalah 9 ml dalam 10 ml volume atau 90%.
- 7) Menyiapkan 10 ml ekstrak daun panamar gantung dengan konsentrasi 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, dan 0% sebagai kontrol perlakuan.⁶⁸

2. Tahapan Perlakuan dan pengamatan

- a. Pemberian ekstrak daun panamar gantung pada koloni biakan *Staphylococcus aureus*

Langkah-langkah kerja dalam memberikan ekstrak daun panamar gantung pada koloni biakan *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

- 1) Menyiapkan 21 cawan medium lempeng NA (*Nutrien agar*), dan memberikan kode-kode perlakuan pada setiap cawan.
- 2) Menyiapkan *paper disc* dengan ukuran diameter 2 cm sebanyak 21 buah, kemudian meletakkan di atas cawan petri yang kosong.

⁶⁸Fressty Yoesnita Affianti, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sombung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*”, Palangka Raya : Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 50-51, t.d.

- 3) Meneteskan ekstrak daun panamar gantung konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 0% (sebagai kontrol) dengan menggunakan pipet tetes pada *paper disc* yang telah disiapkan, selanjutnya menunggu selama 30 menit.
- 4) Menginokulasikan kultur murni *Staphylococcus aureus* yang telah berumur 2 x 24 jam pada masing-masing 21 medium NA (*Nutrien Agar*), dengan menggunakan *cotton buds*.
- 5) Meletakkan masing-masing 1 buah *paper disc* yang telah dibiarkan selama 30 menit tersebut ke bagian tengah-tengah permukaan cawan yang berisi medium NA (*Nutrien Agar*) yang sudah diinokulasi *Staphylococcus aureus* secara aseptis sesuai dengan kode perlakuan yang diberikan.
- 6) Menyimpan semua cawan petri ke dalam inkubator dengan suhu yang sudah disesuaikan yaitu 33°C.
- 7) Melakukan pengambilan data pada saat kultur *Staphylococcus aureus* berumur 1 x 24 jam, 2 x 24 jam, 3 x 24 jam, dan 4 x 24 jam.⁶⁹

⁶⁹Fressty Yoesnita Affianti, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sombung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*”, Palangka Raya : Sekolah Tinggi Agama Islam Negeri Palangka Raya, 2013, h. 51-53, t.d.

