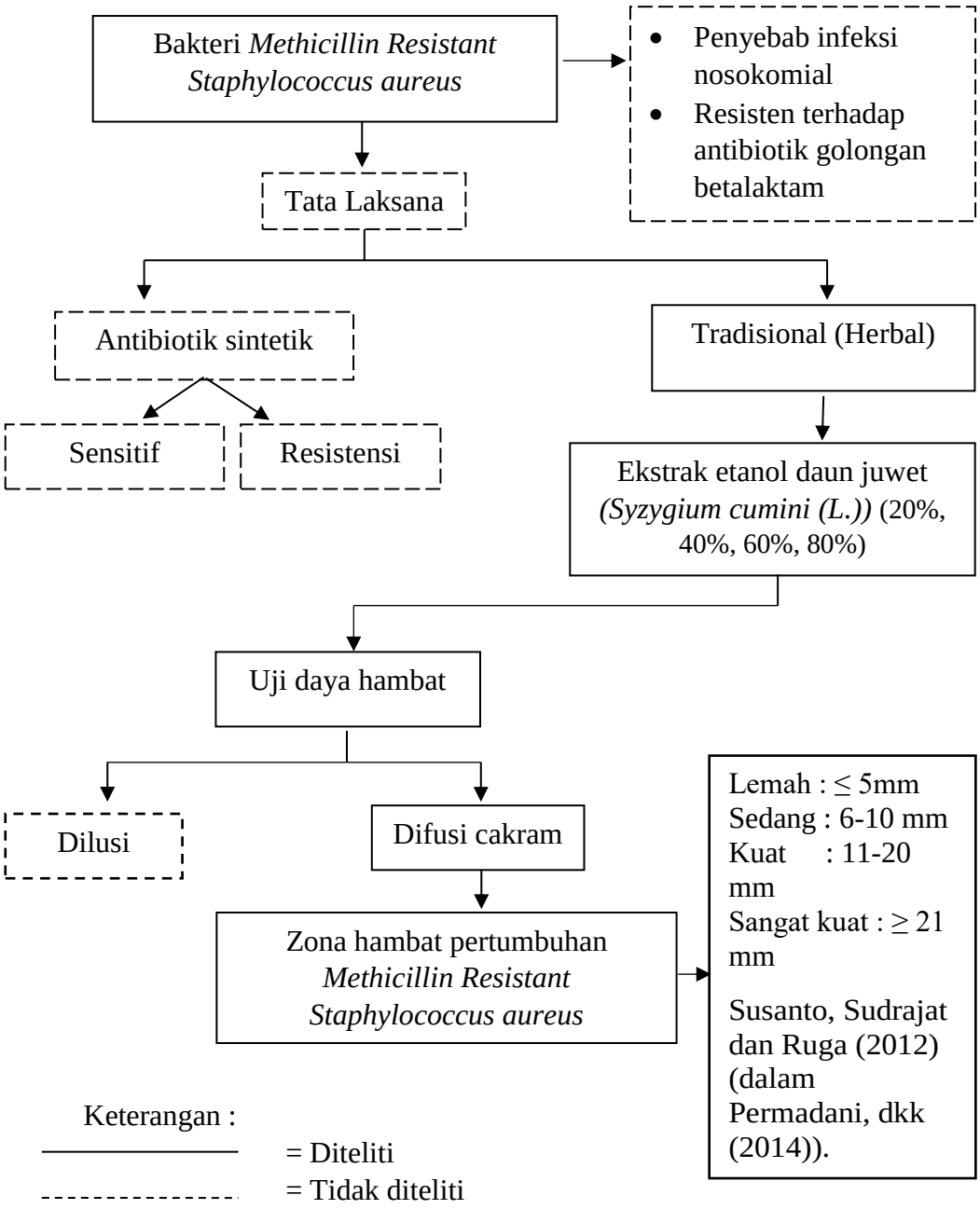
BAB III

KERANGKA KONSEP

A. Kerangka Konsep

Kerangka konsep dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 2. Kerangka Konsep Penelitian Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Juwet Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*

Keterangan gambar :

Berdasarkan kerangka konsep tersebut dapat dijelaskan bahwa bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi nosokomial serta resisten terhadap antibiotik golongan betalaktam seperti *methicillin.* Penatalaksanaan penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut dapat dilakukan dengan terapi antibiotik yang terdiri dari antibiotik sintetis dan dengan obat tradisional (herbal) yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Antibiotik yang tersedia saat ini digunakan untuk terapi berasal dari senyawa sintetis dapat menyembuhkan serta dapat menimbulkan masalah resistensi antibiotik. Namun, disisi lain penggunaan obat herbal yang berasal dari tumbuh-tumbuhan tidak menimbulkan efek resistensi. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat dan memiliki potensi sebagai antibakteri adalah ekstrak etanol daun juwet (20%, 40%, 60%, 80%). Uji daya hambat daun juwet terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dapat dilakukan dengan metode difusi cakram.

Kekuatan suatu ekstrak bahan alam dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada uji difusi cakram, dapat diketahui dengan melakukan pengukuran pada diameter zona bening (*Clear zone)* yang terbentuk. Zona hambat yang terbentuk, dikategorikan kedalam daya hambat lemah, sedang, kuat, atau sangat kuat sesuai dengan diameter zona hambat yang dihasilkan.

B. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel penelitian

a. Variabel bebas (*Independent variable)*

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun juwet dengan konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%.

b. Variabel terikat (*Dependent variable*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat *(clear zone)* dari pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus.*

c. Variabel kontrol (*Control variable)*

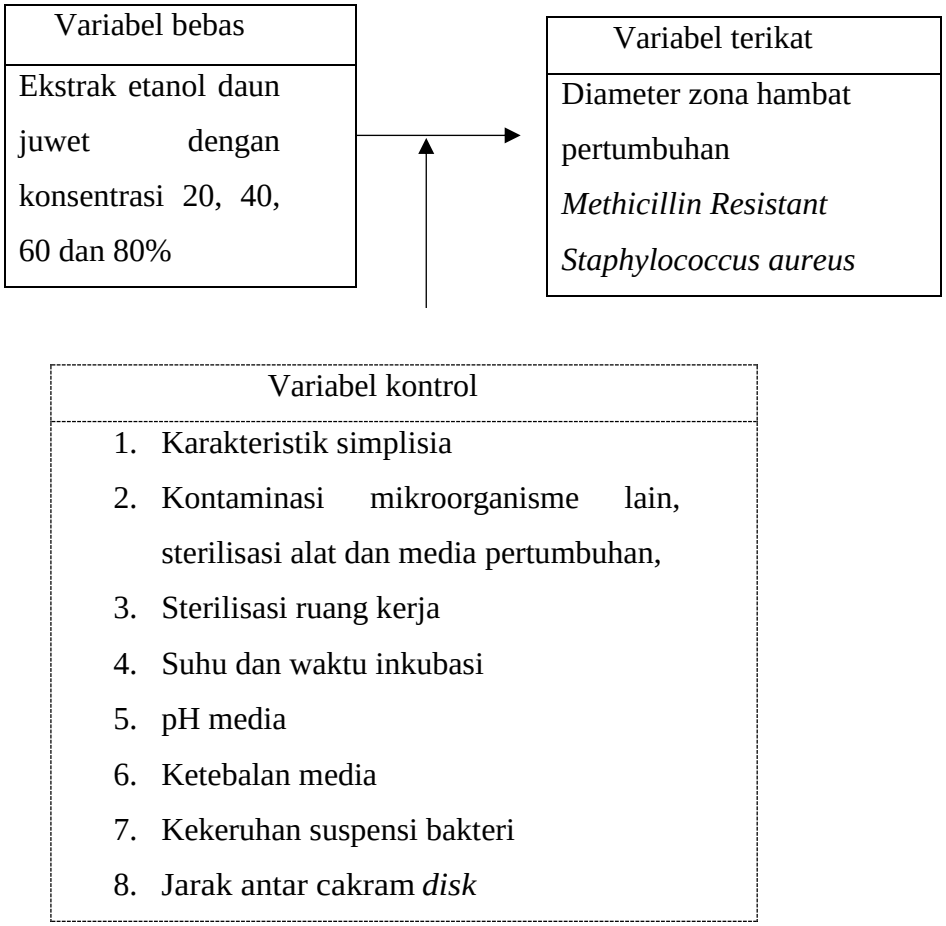
Dalam penelitian ini beberapa hal yang dapat mempengaruhi adalah karakteristik simplisia daun juwet, kontaminasi mikroorganisme lain, sterilisasi alat dan media pertumbuhan, sterilisasi ruang kerja, suhu dan waktu inkubasi, pH media, ketebalan media pertumbuhan bakteri, kekeruhan suspensi bakteri, jarak penempelan variasi konsentrasi cakram disk yang telah diisi ekstrak. Variabel kontrol memiliki pengaruh terhadap penelitian ini sehingga harus dikendalikan. Adapun proses pengendalian variabel kontrol adalah sebagai berikut:

1. Kontrol karakteristik simplisia daun juwet dapat dilakukan dengan memilih daun juwet berumur muda sampai sedang yang dipetik dari daun ketiga sampai keenam dari pucuk, berwarna hijau muda, memiliki panjang 7-16 cm dan lebar 5-7 cm, tidak berlubang, tidak berjamur dan kadar air standar simplisia yang digunakan tidak lebih dari 10%.
2. Kendali terhadap kontaminasi mikroorganisme lain, sterilisasi alat dan media pertumbuhan dapat dilakukan dengan pengerjaan sampel secara aseptis didalam *biosafety cabinet* dan melakukan sterilisasi alat serta media. Sterilisasi alat dapat dilakukan dengan cara oven dengan suhu 105°C selama 60 menit, namun sterilisasi ini hanya dapat dilakukan pada alat dengan ketelitian rendah, karena alat gelas dengan ketelitian tinggi dapat memuai sehingga mengurangi ketelitiannya. Sterilisasi media dapat

dilakukan pada autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit terhitung dari tercapainya suhu 121°C. Dalam sterilisasi alat dan media, dilengkapi dengan *indicator tip* yang disertai garis berwarna putih yang akan berubah menjadi berwarna coklat sebagai tanda alat dan media sudah steril.

3. Sterilisasi ruang kerja dapat dilakukan dengan cara penyinaran menggunakan lampu *ultraviolet* (UV) pada *bisafetyy cabinet* selama 30 menit dan desinfeksi area kerja dengan alkohol 70% sebelum dilakukan pemeriksaan.
4. Suhu inkubasi disesuaikan dengan suhu optimum pertumbuhan bakteri pada inkubator yaitu 37°C dengan waktu inkubasi 24 jam.
5. Saat menentukan pH, media MHA berada pada pH 7,3±0,1 pada suhu ruang (25°C). Alat yang digunakan untuk menentukkan nilai pH adalah indikator pH stick.
6. Ketebalan media *Muller Hinton Agar* dapat dilakukan dengan menuangkan media dengan volume yang sama (15-20 ml) pada setiap petridisk atau dengan ukuran ketebalan minimal 4 mm.
7. Konsentrasi suspensi ketebalan bakteri dapat dikendalikan dengan membandingkan kekeruhan yang dibuat dengan standar 0,5 *Mc Farland* menggunakan alat ukur *Mc Farland* densitometer atau setara dengan 1,5x10^{8} CFU/ ml agar bakteri yang digunakan dalam uji sensitivitas memiliki konsentrasi yang tepat dan standar.
8. Jarak antar cakram disk agar pengukuruan dapat dilakukan dengan benar adalah minimal 15 mm. Hal ini dapat dilakukan dengan memberi tanda pada plate sebagai tempat meletakkan cakram.

Hubungan antar variabel adalah sebagai berikut :



Keterangan :

——————— = Diteliti

- - - - - - - - - - - - - - - = Tidak diteliti

Gambar 3. Hubungan Antar Variabel Penelitian

2. Definisi operasional

Adapun definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 2.

Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Skala Data
1	2	3	4	5
1.	Daya hambat	Kemampuan ekstrak ethanol daun juwet dalam menghentikan pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus.* Daya hambat lemah : < 5 mm Daya hambat sedang : 5-10 mm Daya hambat kuat :11-20 mm Daya hambat sangat kuat : ≥ 21 mm	Observasional dengan jangka sorong	Ordinal
2.	Daun juwet	Daun juwet dengan warna hijau muda, segar, berbentuk bundar telur terbalik, berumur muda sampai sedang yang dipetik dari daun ketiga sampai keenam dari pucuk, berwarna hijau muda, tidak berlubang, tidak berjamur, memiliki	Observasional dan dengan alat ukur mistar	Nominal

		panjang 7-16 cm, lebar 5-7 cm.		
1	2	3	4	5
3.	Ekstrak etanol daun juwet	Ekstrak etanol daun juwet adalah sediaan pekat yang diperoleh dari daun juwet yang telah dikeringkan dan dihaluskan menjadi simplisia diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol teknis 96%, dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak pekat dengan konsentrasi 100%.	Maserasi dan evaporasi	Nominal
4.	Konsentrasi ekstrak etanol daun juwet	Konsentrasi ekstrak adalah variasi dari campuran (pelarutan) ekstrak etanol daun juwet 100% dengan ethanol 96% teknis menjadi konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% (b/v).	Membuat variasi konsentrasi dengan perbandingan tertentu ekstrak pekat daun juwet dengan pelarut etanol teknis 96% menggunakan mikropipet (µL).	Rasio
5.	*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*	*Strain* dari *S. aureus* (bakteri gram positif) yang resisten terhadap antibiotic golongan betalaktam seperti	Observasional	Nominal

		methicillin, oxacillin dan *flucloxacillin.*		
1	2	3	4	5
6.	Zona hambat pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*	Diameter zona bening di sekitar cakram pada media MHA yang menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak daun juwet terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*	Mengukur zona hambat menggunakan jangka sorong atau mistar dan dilaporkan dalam satuan millimeter (mm)	Rasio

C. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah "Ada perbedaan daya hambat variasi konsentrasi ekstrak etanol daun juwet (*Syzygium cumini L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*".