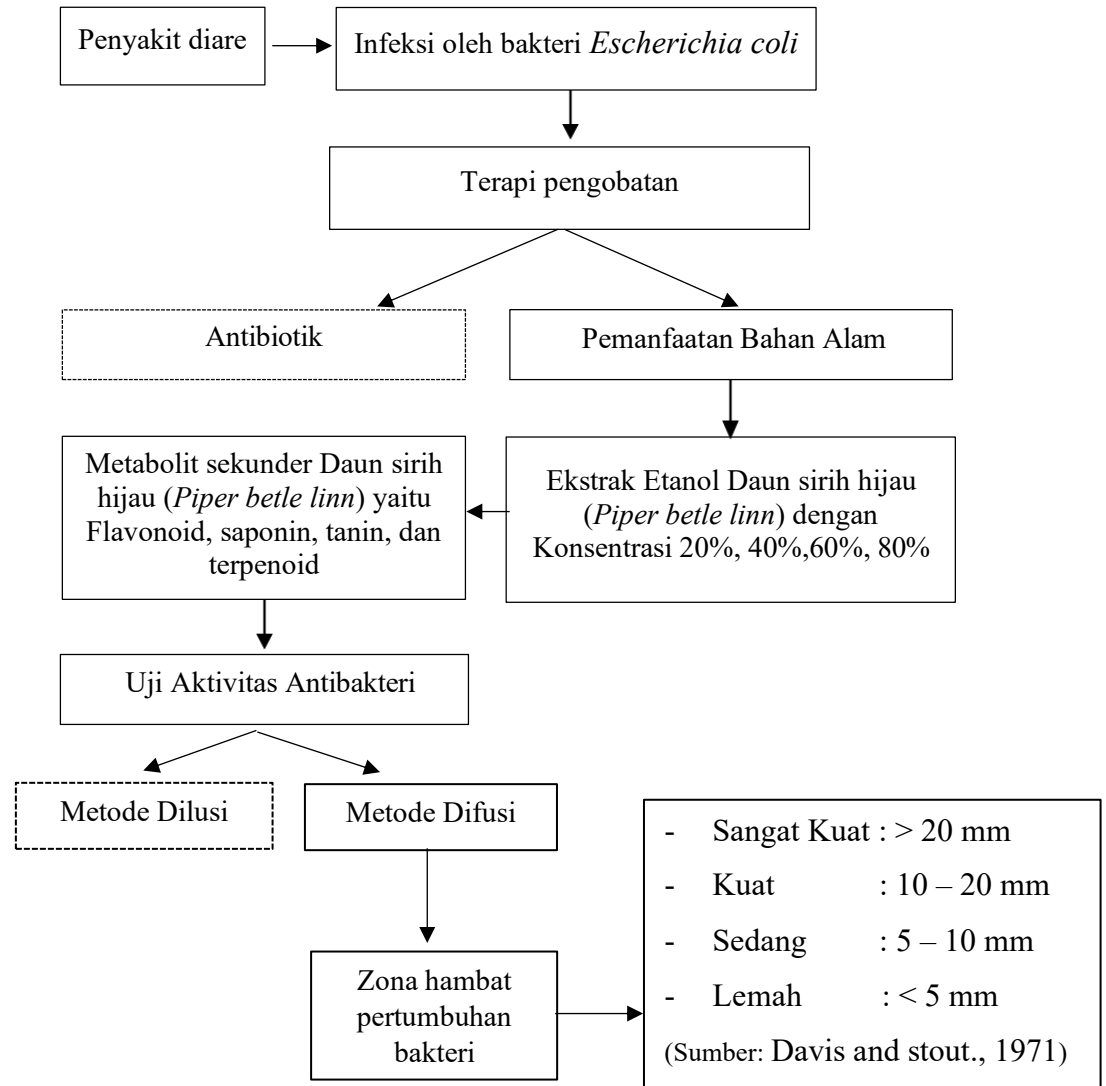


BAB III

KERANGKA KONSEP

A. Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:

: Diteliti

: Tidak diteliti

Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep di atas, Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* dapat dilakukan terapi pengobatan dengan menggunakan antibiotik atau memanfaatkan bahan alam. Salah satu pemanfaatan bahan alam yang digunakan adalah daun sirih hijau (*Piper betle linn*). Daun sirih hijau (*Piper betle linn*) merupakan bahan alami yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, dan minyak atsiri yang berfungsi sebagai antibakteri. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle linn*) dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran. Diameter zona bening yang dihasilkan pada sekitar sumuran akan diukur untuk melihat kemampuan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan zona hambat.

Menurut Davis and stout (1971) berdasarkan luasnya diameter zona hambat dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Tabel 1
Klasifikasi Zona Hambat

No	Luas Zona Hambat (mm)	Zona Hambat
1.	Diameter > 20	Sangat Kuat
2.	Diameter 10 – 20	Kuat
3.	Diameter 5 – 10	Sedang
4.	Diameter < 5	Lemah

(Sumber : Davis and stout., 1971)

B. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle linn*) yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri *Escherichia coli*.

b. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah zona hambat atau tingkat penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

c. Variabel kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang berpotensi mengganggu hasil penelitian namun dapat dikendalikan melalui beberapa cara. Variabel kontrol dalam penelitian ini yaitu:

1) Ketebalan media

Ketebalan media dikontrol dengan menuangkan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) sebanyak 20 mL ke dalam setiap cawan petri berdiameter 90 mm, sehingga diperoleh ketebalan media ± 4 mm. Volume media diukur menggunakan gelas ukur atau mikropipet yang terkalibrasi untuk memastikan keseragaman volume pada setiap cawan. Seluruh media dituangkan pada permukaan datar dan dibiarkan memadat secara alami. Ketebalan media yang seragam bertujuan untuk memastikan proses difusi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle linn*) berlangsung merata dan hasil zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* dapat dibandingkan secara valid antar perlakuan.

2) pH media

pH media dikontrol dengan menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang disiapkan sesuai dengan petunjuk pabrik dan disesuaikan pada pH 7,2–7,4, yaitu rentang pH optimal untuk pertumbuhan *Escherichia coli*. Pengukuran pH media dilakukan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi sebelum proses sterilisasi. Apabila pH media belum berada pada rentang yang ditentukan, dilakukan penyesuaian dengan menambahkan larutan HCl 0,1 N atau NaOH 0,1 N secara bertahap hingga mencapai pH yang diinginkan. Media yang telah memiliki pH sesuai kemudian disterilkan menggunakan autoklaf dan digunakan secara seragam pada seluruh perlakuan penelitian.

3) Kepekatan inokulum

Kepekatan inokulum bakteri *Escherichia coli* dikontrol dengan melakukan standarisasi suspensi bakteri menggunakan standar McFarland 0,5 yang setara dengan $\pm 1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Suspensi bakteri dibuat dari koloni murni *Escherichia coli* berumur 18–24 jam yang disuspensikan dalam larutan NaCl fisiologis 0,85% steril. Tingkat kekeruhan suspensi kemudian diukur menggunakan densinometer hingga diperoleh nilai yang sesuai dengan standar McFarland 0,5. Apabila nilai kekeruhan belum sesuai, suspensi diencerkan atau ditambahkan koloni bakteri hingga mencapai nilai yang diinginkan. Suspensi bakteri yang telah distandarisasi selanjutnya digunakan sebagai inokulum pada seluruh perlakuan penelitian.

4) Lama dan suhu inkubasi

Lama dan suhu inkubasi mempengaruhi hasil dari uji aktivitas antibakteri. Inkubasi yang lebih panjang dapat meningkatkan peluang munculnya mutan resisten atau memungkinkan mikroba yang kurang sensitif mulai berkembang

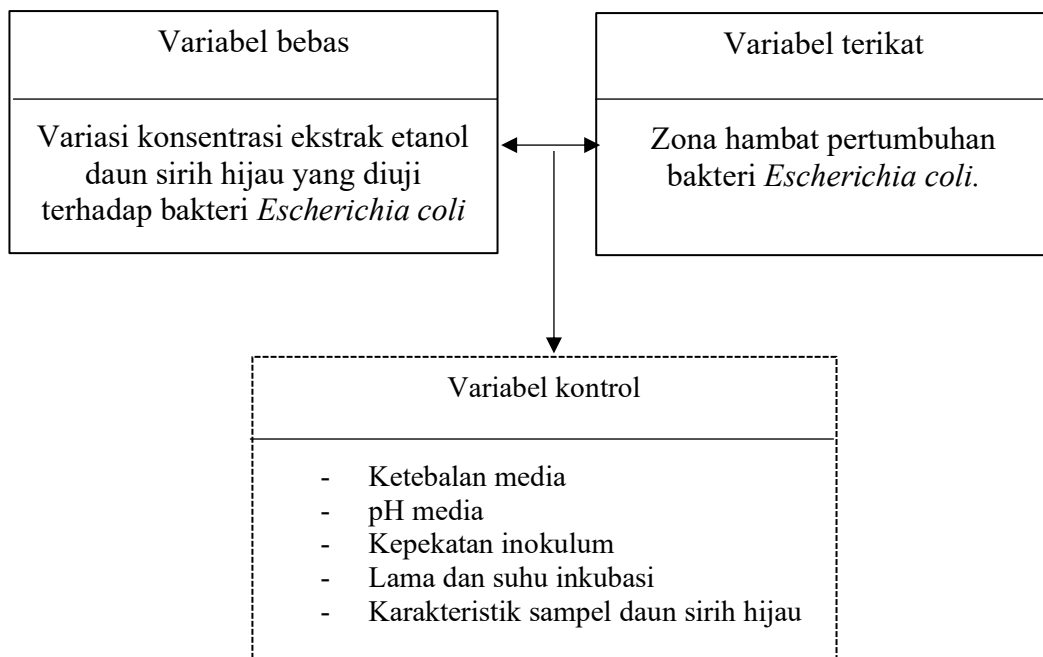
ketika konsentrasi obat menurun, sehingga perlu ditetapkan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

5) Karakteristik sampel daun sirih hijau (*Piper betle linn*)

Sampel daun sirih hijau (*Piper betle linn*) diperoleh dari area yang sama. Daun segar dipilih dengan memisahkan kotoran dan bahan asing, hanya menggunakan daun sirih yang berwarna hijau tua. Daun kemudian dibersihkan dengan air mengalir kemudian dilap menggunakan kain, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa paparan sinar matahari langsung, dan digunakan dalam kondisi kadar air simplisia tidak lebih dari 10%.

d. Hubungan antar variabel

Adapun hubungan antar variabel bebas, variabel terikat, dan variabel kontrol dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 4. Hubungan antar variabel

2. Definisi Operasional

Tabel 2
Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Skala Data
1	2	3	4
Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle linn</i>)	Tanaman yang diambil dari desa Pucaksari, Buleleng untuk diolah menjadi ekstrak dengan konsentrasi tertentu.	Observasional	Ordinal
Ekstrak etanol daun sirih hijau (<i>Piper betle linn</i>)	Sediaan pekat yang dihasilkan dari ekstraksi daun sirih hijau (<i>Piper betle linn</i>) dengan pelarut etanol 96%.	<i>Rotary Vacuum Evaporator</i>	Nominal
Metabolit sekunder ekstrak daun sirih hijau (<i>Piper betle linn</i>)	Senyawa bioaktif yang terdapat pada daun sirih hijau (<i>Piper betle linn</i>) yang telah dilakukan pengujian skrining fitokimia.	Observasional	Nominal
Konsentrasi ekstrak	Variasi komposisi dari ekstrak daun sirih hijau (<i>Piper betle linn</i>) dengan pelarut etanol 96% dilakukan dengan cara mengencerkan ekstrak pekat menggunakan etanol 96% sehingga diperoleh seri konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%.	Pengenceran	Rasio
Zona Hambat	Diameter yang menunjukkan adanya zona bening disekitar sumuran pada media MHA.	Jangka sorong	Rasio - Sangat kuat: ≥ 20 mm - Kuat: 10-20 mm - Sedang: 5-10 mm - Lemah: ≤ 5 mm

C. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat pengaruh konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle linn*) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.