

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang paling tua yang masih menjadi masalah kesehatan utama di negara berkembang maupun di negara maju. Menurut World Health Organization (WHO) penyakit infeksi atau penyakit menular adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti virus, jamur, parasit, dan bakteri.<sup>1</sup> Salah satu bakteri yang merupakan patogen utama manusia adalah *Salmonella typhi*.<sup>2</sup>

*Salmonella typhi* dapat menyebabkan infeksi berat yang mengancam jiwa seperti demam tifoid.<sup>3</sup> Penyakit ini biasanya menyebar melalui ingesti makanan dan air yang tercemar.<sup>4,5</sup> Menurut data World Health Organization (WHO) tahun 2018 diperkirakan berkisar antara 11-21 juta kasus demam tifoid dan sekitar 128.000 hingga 161.000 kematian terkait demam tifoid terjadi setiap tahunnya di seluruh dunia. Mayoritas kasus terjadi di Asia Selatan/Tenggara, dan Afrika Sub-Sahara.<sup>3</sup>

Tatalaksana yang tepat untuk mengobati penyakit yang disebabkan *Salmonella typhi* adalah pengobatan menggunakan antibiotik. Pemakaian antibiotik harus tepat indikasi, tepat penderita, tepat obat, tepat dosis dan waspada efek samping obat. Pemakaian antibiotik yang tidak tepat akan menyebabkan munculnya banyak efek samping dan mendorong munculnya bakteri yang resisten terhadap antibiotik tersebut. Untuk menanggulangi masalah terjadi resistensi terhadap antibiotik tersebut, penggunaan obat-obatan alami berbahan dasar tumbuhan menjadi jalan alternatif.<sup>6</sup>

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bawang putih dapat menghambat pertumbuhan *Clostridium*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli* dan lain-lain.<sup>7-9</sup> Penelitian Leyla Bayan menyatakan bahwa senyawa pada bawang putih yang memiliki antibakteri adalah senyawa alliin. Ketika bawang putih dimemarkan/dihaluskan, zat alliin yang tidak berbau akan terurai menjadi allicin, yang diduga mempunyai efek antibakteri yang kuat.<sup>8,10</sup> Penelitian

yang dilakukan oleh Fitri Nadifah membuktikan bahwa perasan bawang putih memiliki efektivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi*.<sup>11</sup>

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri dari air perasan bawang putih terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Apakah terdapat aktivitas antibakteri dari air perasan bawang putih terhadap bakteri *Salmonella typhi*?

## **1.3. Hipotesis Penelitian**

Hipotesis pada penelitian ini adalah terdapat aktivitas antibakteri dari air perasan bawang putih terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

## **1.4. Tujuan Penelitian**

### **1.4.1. Tujuan Umum**

Untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas antibakteri dari air perasan bawang putih terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

### **1.4.2. Tujuan Khusus**

Untuk mengetahui diameter zona hambat air perasan bawang putih terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

## **1.5. Manfaat Penelitian**

### **1. Bidang Pendidikan**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi ilmiah bagi peneliti lain dalam meneliti air perasan bawang putih sebagai antimikroba. Penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi referensi peneliti lain dalam meneliti tumbuhan herbal lainnya yang memiliki aktivitas antimikroba.

### **2. Bagi Masyarakat**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai salah satu obat alternatif untuk penyakit yang diakibatkan oleh bakteri *Salmonella typhi*.

### 3. Peneliti

Penelitian ini dapat menjadi salah satu wadah bagi peneliti untuk mengaplikasikan dan mengembangkan ilmu mengenai penelitian dan mikrobiologi yang telah didapat selama belajar di fakultas kedokteran, serta menambah wawasan bagi peneliti.

## BAB 2

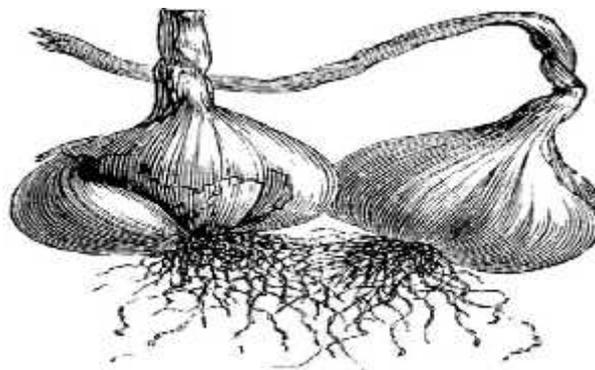
### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Bawang Putih (*Allium sativum*)

##### 2.1.1. Deskripsi Tanaman

Bawang Putih (*Allium sativum*) adalah tanaman umbi lapis dan merupakan salah satu spesies dari genus *Allium sp.* Bawang putih berasal dari Asia namun di Cina, North Afrika, Eropa dan Meksiko bawang putih juga dibudidayakan.<sup>12</sup> Bawang Putih tumbuh secara berkelompok dan berdiri tegak sampai setinggi 30-75 cm, mempunyai batang semu yang berbentuk pipih dan memanjang. Akar bawang putih terdiri dari serabut-serabut kecil yang berjumlah banyak. Dan setiap umbi bawang putih terdiri dari sejumlah anak bawang (suing) yang setiap siungnya terbungkus kulit tipis berwarna putih.<sup>13</sup> Kedudukan bawang putih dalam botani:

*Kingdom* : *Plantae*  
*Class* : *Monocothyledon*  
*Order* : *Asparagales*  
*Family* : *Liliaceae*  
*Genus* : *Allium*  
*Spesies* : *A. Sativum*  
Nama binomial : *Allium sativum*



Gambar 2.1. Bawang Putih (*Allium sativum*)<sup>10</sup>

### 2.1.2. Kandungan Kimia

Kandungan kimia dari *Allium sativum* yang memiliki aktivitas biologi dan bermanfaat dalam pengobatan adalah senyawa organo-sulfur. Kandungan organo-sulfur antara lain<sup>12,14</sup>:

- A. Senyawa S-alk(en)-il-L-sistein sulfoksida (ACSOs), contohnya aliin dan -glutamilsistein, senyawa yang paling banyak terdapat dalam bawang putih. Aliin suatu asam amino yang mengandung sulfur, bertanggung jawab pada bau dan citarasa bawang. Aliin dan senyawa sulfoksida yang lain, kecuali sikloalliin, segera berubah menjadi senyawa tiosulfinat, seperti alisin, dengan bantuan enzim aliinase ketika bawang putih dicincang, dipotong, maupun dikunyah secara langsung.
- B. Senyawa sulfur yang volatile seperti alisin. Alisin merupakan senyawa yang kurang stabil, adanya pengaruh air panas, oksigen udara, dan lingkungan basa, mudah sekali terdekomposisi menjadi senyawa sulfur yang lain seperti dialil sulfide.
- C. Senyawa sulfur yang larut dalam lemak seperti *dialil sulfide* (DAS), *dialil disulfide* (DADS), *diallytrisulphide* (DATS). Alisin dan hasil uraiannya inilah yang bersifat sebagai antibakteri.
- D. Senyawa sulfur larut air yang nonvolatile seperti S-alil sistein (SAC), yang terbentuk dari reaksi enzimatik -glutamilsistein ketika bawang putih diekstraksi dengan air. SAC banyak terdapat dalam berbagai macam sediaan bawang putih, merupakan senyawa yang memiliki aktivitas biologis, sehingga adanya SAC dalam sediaan bawang putih sering dijadikan standar bahwa sediaan bawang putih tersebut layak atau tidak untuk dikonsumsi.

### 2.1.3. Manfaat Bawang Putih

Bawang putih sudah lama digunakan sebagai bumbu untuk memasak dan obat tradisional oleh masyarakat.<sup>12</sup> Bawang putih mengandung khasiat antibakteri, dimana allicin dan senyawa sulfur lainnya menjadi senyawa utama yang bertanggung jawab dalam untuk efek antibakteri dari bawang putih. Bawang putih sebagai antibiotik sudah banyak diteliti dan terbukti berkhasiat terhadap bakteri gram positif maupun negatif. Selain sebagai antibakteri, bawang putih juga mengandung khasiat antijamur, antitrombotik, hipolipidemik, antiarthritis, hipoglikemik, antitumor, dll.<sup>15,16</sup>

### 2.1.4. Mekanisme Bawang Putih Sebagai Antibakteri

Mekanisme antibakteri dari bawang putih dengan cara merusak dinding sel dan menghambat sintesis protein. Allicin memiliki permeabilitas yang tinggi dalam menembus dinding sel bakteri dengan menghancurkan membran sel bakteri sehingga struktur dinding sel bakteri rusak dan pertumbuhannya terhambat. Allicin bekerja dengan mengubah protein, lipid dan polysakarida pada bakteri<sup>17,18</sup>

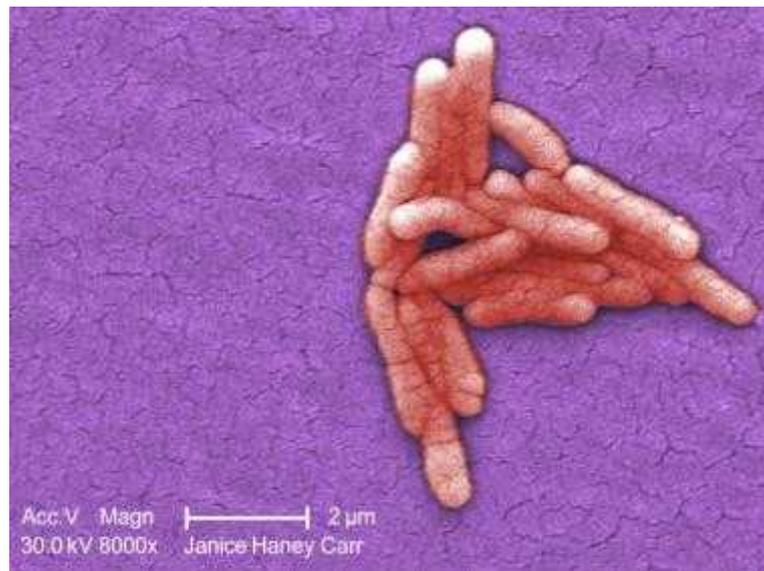
## 2.2. Bakteri *Salmonella Typhi*

### 2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi

*Salmonella typhi* merupakan bakteri batang Gram-Negatif, yang tidak memiliki spora, bergerak dengan flagel, anaerob fakultatif. Ukurannya berkisar antara 0,7-1,5x2,5  $\mu\text{m}$ , memiliki tiga antigen utama: antigen somatic (O), antigen flagel (H) dengan 2 fase dan antigen kapsul (Vi). Bakteri ini dapat bertahan hidup pada air yang beku untuk periode yang lama. *Salmonella* resisten terhadap zat kimia tertentu (misalnya *brilliant green*, natrium tetrasetat, natrium deoksikolat) yang menghambat bakteri enterik lain<sup>19</sup>. Senyawa-senyawa tersebut dapat digunakan di dalam medium yang bermanfaat untuk mengisolasi *Salmonella* dari feses. Pada agar SS, Endo, EMB dan *McConkey* koloni bakteri berbentuk bulat, kecil dan tidak berwarna, pada agar *Wilson-Blair* koloni bakteri berwarna hitam<sup>20</sup>.

Bakteri *Salmonella typhi* memiliki taksonomi sebagai berikut:

*Kingdom* : Eubacteria  
*Phylum* : Proteobacteria  
*Class* : Gammaproteobacteria  
*Order* : Enterobacteriales  
*Family* : Enterobacteriaceae  
*Genus* : Salmonella  
*Spesies* : *S. enterica*  
*Sub. Spesies* : *S. typhi*  
 Nama binomial : *Salmonella typhi*



**Gambar 2.2. *Salmonella typhi*<sup>21</sup>**

### 2.2.2. Struktur Antigen

*Salmonella typhi* memiliki 3 macam antigen, yaitu<sup>22</sup>:

1. Antigen O (Antigenik somatik) mempunyai struktur kimia lipopolisakarida disebut endotoksin dan terletak pada lapisan luar dari tubuh kuman. Antigen ini bersifat hidofilik, tahan terhadap pemanasan suhu 100°C selama 2-5 jam dan tahan alkohol 96 % dan etanol 96% selama 4 jam pada suhu 37°C tetapi tidak tahan terhadap formaldehid.

2. Antigen H (Antigen flagella) yang terletak pada flagella dan fimbria (pili) dari bakteri. Flagel ini terdiri dari badan basal yang melekat pada sitoplasma dinding sel kuman, struktur kimia ini berupa protein yang tahan terhadap formaldehid tetapi tidak tahan terhadap panas dan alkohol pada suhu 60°C.
3. Antigen Vi (permukaan) yang terletak pada kapsul (envelope) dari bakteri yang dapat melindungi bakteri terhadap fagositosis. proteinnya dapat digunakan untuk mendeteksi adanya karier dan akan rusak jika diberi pemanasan selama 1 jam pada suhu 60°C dan pada pemberian asam serta fenol.

### 2.2.3. Patogenesis

*Salmonella typhi* masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi. Di lambung, bakteri ini akan dimusnahkan oleh asam lambung, namun yang lolos akan masuk ke usus halus. Bakteri ini akan melakukan penetrasi pada mukosa usus halus maupun usus besar dan tinggal secara intraseluler. Kemudian bakteri ini akan berproliferasi. Ketika bakteri ini mencapai epitel dan imunitas mukosa (IgA) tidak bisa menanganinya, maka selanjutnya ke lamina propia. Di lamina propia bakteri tumbuh dan berkembang biak yang selanjutnya akan difagosit oleh makrofag. Namun bakteri dapat hidup dan berkembang biak di dalam makrofag, selanjutnya bakteri akan dibawa ke *Peyer's patch* ileum distal dan kemudian ke kelenjar limfe mesenterika, selanjutnya masuk ke dalam sirkulasi darah dan menyebar ke seluruh organ retikuloendotelial tubuh terutama di organ hati dan limpa. Di organ tersebut, bakteri akan berkembang biak.<sup>19,23</sup>

*Salmonella typhi* juga dapat masuk ke dalam kandung empedu, berkembang biak, dan bersama dengan cairan empedu diekskresikan secara intermiten ke dalam lumen usus. Bakteri sebagian akan di dikeluarkan bersama dengan feses, sebagian lagi masuk ke dalam sirkulasi setelah menembus usus. Proses ini akan terjadi secara berulang dan menimbulkan gejala seperti demam, malaise, mialgia, sakit kepala, sakit perut, diare atau

konstipasi, perdarahan saluran cerna bisa terjadi karena erosi dari pembuluh darah.<sup>22</sup>

#### **2.2.4. Tatalaksana**

*Salmonella typhi* merupakan bakteri penyebab penyakit demam tifoid, pada kasus demam tifoid terapi yang diberikan berupa antibiotik. Antibiotik yang digunakan sebagai pengobatan demam tifoid harus dapat ditoleransi oleh pasien, dapat mencapai kadar tinggi pada usus, dan memiliki spektrum yang terbatas untuk beberapa mikrobakteri. Beberapa antibiotik yang biasa digunakan adalah kloramfenikol, amoxicillin, ciprofloksasin, gentamisin, dan kotrimoksazol. Kloramfenikol masih merupakan pilihan utama untuk pengobatan demam tifoid. Selain kloramfenikol, amoxicillin juga merupakan salah satu antibiotik yang dianjurkan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini karena relatif murah, lebih toleran dan lebih cepat menimbulkan efek yang baik. Karena sifat kerja amoxicillin adalah mencegah pembentukan membran sel bakteri sehingga semua materi genetik yang ada didalamnya terurai keluar dan menyebabkan bakteri mati<sup>24</sup>.

#### **2.3. Mekanisme Kerja Antimikroba**

Antimikroba merupakan senyawa yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Mekanisme kerja antimikroba mengganggu bagian-bagian yang peka di dalam sel, yaitu<sup>19,25</sup>:

##### **1. Menghambat Sintesis Dinding Sel**

Senyawa antimikroba melisis bakteri dengan cara merusak dinding sel atau menghambat pertumbuhannya. Contohnya penisilin dan sefalosporin.

##### **2. Menghambat Fungsi Membran Sel**

Penghambatan fungsi membran sitoplasma mengakibatkan ion dan makromolekul akan keluar dari sel dan akan menghasilkan kerusakan dan kematian sel. Contohnya amfoterisin B dan polimiksin.

### 3. Menghambat Sintesis Protein

Penghambatan atau kerusakan sintesis protein mengakibatkan bakteri tidak mampu menjaga kelangsungan hidupnya akibat terjadinya gangguan pada protein sel. Contohnya aminoglikosida dan makrolid

### 4. Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Menghambat pertumbuhan bakteri melalui pengikatan pada DNA sehingga tidak terjadinya replikasi DNA. Contohnya rifampisin dan trimetropin.

### 5. Menghambat Metabolisme Folat

Menghambat metabolisme asam folat yang diperlukan untuk sintesis DNA, RNA, dan protein dinding sel. Contohnya trimethoprim dan sulfonamid.

## 2.4. Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Penentuan kerentanan suatu patogen bakteri terhadap obat antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode utama, yaitu dilusi (pengenceran) dan difusi. Metode-metode tersebut dapat digunakan untuk memperkirakan potensi antibiotik dalam sampel atau kerentanan mikroba.<sup>26</sup>

#### a. Metode Dilusi

Subtansi antimikroba dalam kadar bertingkat dicampurkan ke dalam medium bakteriologi solid atau cair. Biasanya digunakan subtansi antimikroba dengan pengenceran dua kali lipat ( $\log_2$ ). Medium kemudian diinokulasikan dengan bakteri penguji dan diinkubasi. Titik akhir yang diambil adalah jumlah substansi antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji.<sup>26</sup>

#### b. Metode Difusi

Metode yang paling banyak digunakan di laboratorium kecil adalah tes difusi cakram. Suatu cakram kertas saring yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada permukaan medium solid MHA (*Muller Hinton Agar*) yang telah diinokulasi dengan organisme penguji di permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona inhibisi jernih yang

mengelilingi lempeng diukur sebagai nilai kekuatan inhibitorik obat terhadap organisme penguji tersebut. Metode difusi terbagi menjadi<sup>26</sup>:

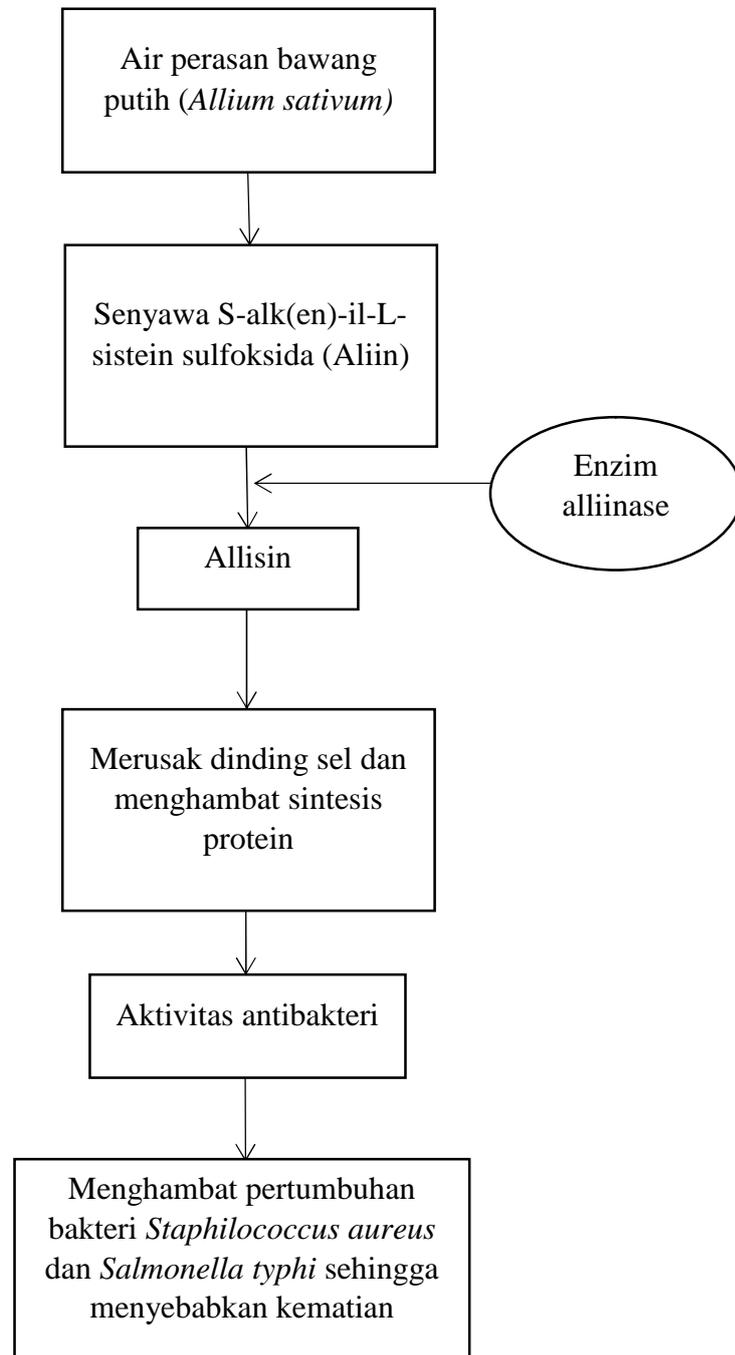
1. Metode *Agar Disk-Diffusion*

Metode ini menggunakan kertas cakram (diameter sekitar 6 mm) yang mengandung senyawa uji pada konsentrasi yang diinginkan, kertas cakram tersebut ditempatkan pada permukaan medium agar MHA (*Muller Hinton Agar*) yang telah ditanami bakteri uji. Kemudian diukur diameter zona hambat/*clear zone* (dalam mm), bandingkan hasil pengukuran dengan CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).

2. Metode *Antimicrobial Gradient (Etest)*

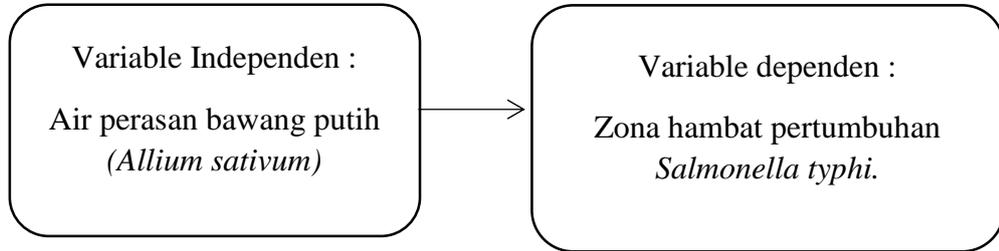
Metode *Antimicrobial gradient* digunakan untuk menentukan nilai MIC (*minimum inhibitory concentration*). Metode ini menggunakan strip plastik yang telah mengandung zat antimikroba dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar. Kemudian diamati *clear zone* disekitar strip.

## 2.6. Kerangka Teori



**Bagan 2.1. Kerangka Teori**

## 2.7. Kerangka Konsep



**Bagan 2.2. Kerangka Konsep**

## **BAB 3**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental-laboratorik.

#### **3.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen pada November 2019 – Januari 2020.

#### **3.3. Sampel Bakteri**

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Salmonella typhi* yang dikultur dalam media agar *McConkey*.

#### **3.4. Bahan uji**

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bawang putih (*Allium sativum*) dalam bentuk air perasan yang dibuat dalam beberapa konsentrasi (12,5%, 25%, 50%, 75%, 100%).

#### **3.5. Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.5.1. Alat**

1. Tabung reaksi
2. Ose
3. Pipet
4. *Juiceextractor*
5. Inkubator
6. Cawan Petri
7. Pinset
8. Swab Kapas
9. Penggaris

##### **3.5.2. Bahan**

1. Bawang Putih
2. Bakteri *Salmonella typhi*
3. Kertas cakram kosong
4. Kertas cakram antibiotik *Amoxicillin*
5. Aquades
6. Larutan *Mc Farland* 0,5
7. NaCl 0,9%
8. Media Agar MHA (*Muller Hilton Agar*)

### 3.6. Prosedur Kerja

#### 3.6.1. Sterilisasi Alat

Alat dalam penelitian ini disterilisasi terlebih dahulu dengan cara dicuci bersih kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C<sup>17</sup>.

#### 3.6.2. Pembuatan Media *McConkey Agar* dan Pemiakan Bakteri

Timbang 20 gram serbuk *McConkey Agar*, masukkan kedalam labu Erlenmeyer lalu larutkan dalam 400 ml aquadest, kemudian aduk rata dan ditutup dengan aluminium foil lalu diikat dengan benang pulung. Dimasak hingga mendidih (suhu 100°C) dinginkan sampai suhu 45 °C, Tuangkan dalam cawan petri sebanyak ± 10 ml, biarkan hingga media dingin dan padat<sup>27</sup>. Ambil bakteri menggunakan ose, kemudian dioleskan pada media *McConkey Agar* dan diinkubasi selama 24 jam.

#### 3.6.3. Pembuatan Air Perasan Bawang Putih

Bawang putih dibeli di pasar tradisional kemudian ditimbang sebanyak 500 gram kemudian dikupas, dibersihkan, dan diperas dengan menggunakan alat *juice extractor* sehingga diperoleh air perasan bawang putih 100%. Hasil perasan ditampung pada cawan petri, kemudian dibuat konsentrasi bawang putih 12,5%, 25%, 50%, 75% dengan pengenceran menggunakan aquades yang akan dibuat dalam 10ml dalam tabung reaksi, menggunakan rumus:

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

Keterangan:

$V_1$  = Volume air perasan bawang putih yang akan diencerkan (ml)

$N_1$  = Konsentrasi air perasan bawang putih yang tersedia (%)

$V_2$  = Volume air perasan bawang putih (aquades + air perasan bawang putih) yang diinginkan (ml).

$N_2$  = Konsentrasi air perasan bawang putih yang diinginkan

**Tabel 3.1. Jumlah air perasan bawang putih yang diencerkan dengan aquades sampai berjumlah 10ml.**

Air perasan bawang putih dengan konsentrasi 12,5% diperoleh dengan cara mengencerkan 1,25 ml air perasan bawang putih dengan 8,75 ml aquades. Untuk air perasan bawang putih dengan konsentrasi 25% diperoleh dengan cara mengencerkan 2,5 ml air perasan bawang putih dengan 7,5 ml aquades. Untuk air perasan bawang putih dengan konsentrasi 50% sendiri diperoleh dengan mengencerkan 5,0 ml air perasan bawang putih dengan 5,0 ml aquades. Sedangkan untuk air perasan bawang putih dengan

$V_1 = V_2 \cdot N_2 / N_1$	N	$V_2$	$N_2$	konsentrasi
12,5 ml	100%	10 ml	12,5%	75%
2,5 ml	100%	10 ml	25%	diperoleh
5,0 ml	100%	10 ml	50%	dengan
7,5 ml	100%	10 ml	75%	cara
10 ml	100%	10 ml	100%	mengencerkan

bawang putih dengan 2,5 ml aquades. Dan untuk air perasan bawang putih dengan konsentrasi 100% diperoleh dengan 10 ml air perasan bawang putih tanpa diencerkan dengan aquades.

#### 3.6.4. Pembuatan Media MHA (*Muller Hinton Agar*)

Timbang 20 gram serbuk *Muller Hinton Agar*, masukkan kedalam labu Erlenmeyer lalu larutkan dalam 400 ml aquadest, kemudian aduk rata dan ditutup dengan aluminium

foil lalu diikat dengan benang pulung. Dimasak hingga mendidih (suhu 100°C) dinginkan sampai suhu 45 °C, Tuangkan dalam cawan petri sebanyak  $\pm$  10 ml, biarkan hingga media dingin dan padat.

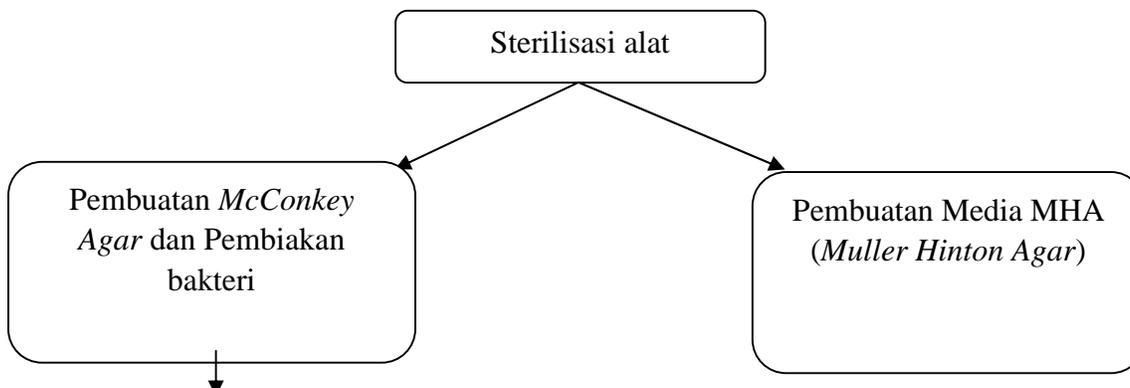
### 3.6.5. Pembuatan Suspensi Bakteri

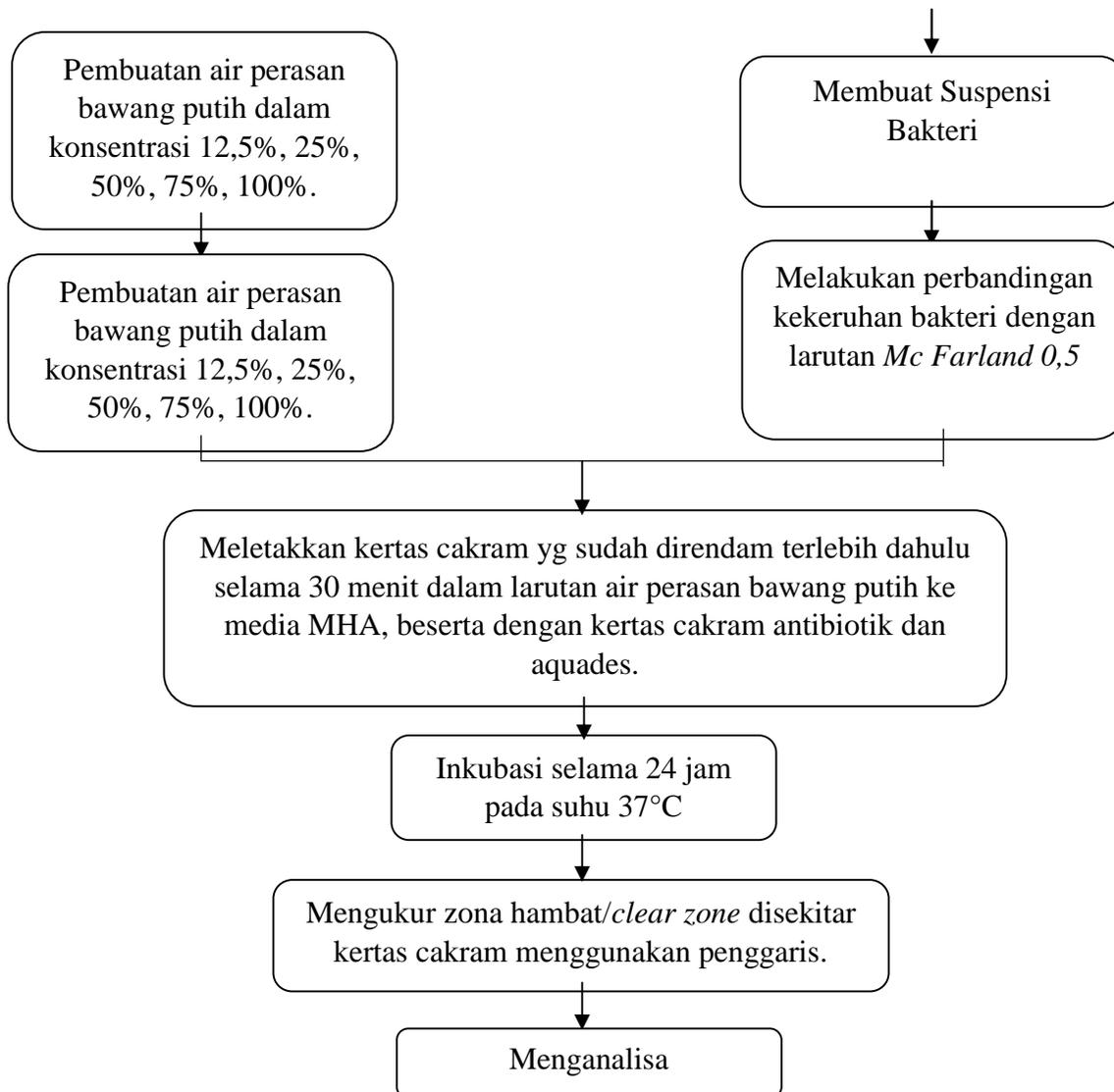
Bakteri *Salmonella typhi* di homogenisasi dengan mengambil 1 ose bakteri dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang sudah diisi dengan NaCl 0,9%. Kemudian kekeruhannya disamakan dengan larutan *Mc Farland* 0,5 untuk mendapatkan bakteri sebanyak  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml<sup>17</sup>.

### 3.6.6. Uji Daya Hambat Air Perasan Bawang Putih Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan Metode *Agar Disk Diffusion*.

Suspensi Bakteri *Salmonella typhi* diambil dengan pipet sebanyak 1 ml dan ditetaskan ke media agar MHA dalam cawan petri dan diratakan dengan menggunakan ose<sup>11</sup>. Kemudian kertas cakram kosong yang sudah direndam dalam masing-masing konsentrasi air perasan bawang putih selama 30 menit diletakkan diatas media agar. Pada media ditambahkan 1 kertas cakram *amoxicillin* sebagai kotrol positif dan 1 kertas cakram yang telah direndam aquades selama 30 menit sebagai control negatif. Kemudian kedua media diinkubasi ke dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah 24 jam, kedua media dikeluarkan dari inkubator dan diukur zona hambat menggunakan penggaris.

### 3.7. Alur Kerja Penelitian





**Bagan 3.1. Alur kerja penelitian**

### 3.8. Identifikasi Variabel

#### 3.8.1. Variabel Independen

Variable independen dalam penelitian ini adalah air perasan bawang putih dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, 100%.

#### 3.8.2. Variabel Dependen

Variable dependen dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

#### 3.8.3. Variable Kontrol

Variable kontrol dalam penelitian ini adalah antibiotik amoxicillin sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif.

### 3.9. Defenisi Operasional

**Tabel 3.2. Defenisi Operasional.**

Variabel	Defenisi	Alat ukur	Cara ukur	Hasil	Skala
Air perasan bawang putih (Allium Sativum).	Sediaan yang diperoleh dengan cara memeras bawang putih	-	$V_1.N_1 = V_2.N_2$	Air perasan bawang putih dalam konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, 100%.	Rasio
Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri <i>Salmonella typhi</i> .	Zona jernih/ (clear zone) yang mengelilingi kertas cakram yang menunjukkan adanya perhambatan pertumbuhan bakteri.	Penggaris	Mengukur zona jernih disekeliling kertas cakram	Zona hambat (mm)	Rasio

### 3.10. Besar Sampel

Pada penelitian ini akan dilakukan pengulangan untuk mendapatkan hasil yang valid. Dalam penelitian ini sampel air perasan bawang putih dalam berbagai konsentrasi (100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%) serta kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding sehingga didapat ada tujuh perlakuan. Untuk menentukan besar pengulangan, maka digunakan rumus Federer:

$$n - 1 \times t - 1 \geq 15$$

$$n - 1 \times 7 - 1 \geq 15$$

$$n - 1 \cdot 6 \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

Keterangan:

$n$  = Banyaknya pengulangan

$t$  = Jumlah kelompok perlakuan

### 3.11. Analisa Data

Penelitian ini dalam bentuk penelitian laboratorium, dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100%. Untuk mengetahui diameter zona hambat antibakteri air perasan bawang putih terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.