

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Penelitian Etnobotani

3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah deskriptif kuantitatif. Penelitian ini diawali dengan mengkaji tentang pemanfaatan tumbuhan obat penyakit kulit bisul dengan metode observasi dan wawancara semi terstruktur (*semi-structured interview*).

3.1.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian etnobotani tumbuhan obat penyakit kulit bisul dilakukan pada bulan April- Mei 2013 bertempat di 3 Desa yaitu Desa Jrengik, Kotah dan Desa Jungkarang Kecamatan Jrengik Kabupaten Sampang Madura.

3.1.3 Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah masyarakat Desa Jrengik, Kotah dan Desa Jungkarang Kecamatan Jrengik Kabupaten Sampang Madura. Desa pada Kecamatan Jrengik tersebut memiliki potensi tumbuhan obat dengan indikasi banyak didapati pembudidaya tumbuhan obat dan terdapat penjual tumbuhan obat serta simplisianya. Sampel dalam penelitian terdiri dari informan kunci (*key informant*) dan non informan kunci dari tiga desa, yaitu Desa Jrengik, Kotah dan Desa Jungkarang. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini dengan cara *purposive sampling* yaitu pemilihan sampel dengan pertimbangan yakni sampel adalah seseorang yang memahami tentang tumbuhan obat terutama penyakit kulit bisul. Sampel dibagi menjadi 2 golongan, yakni : Informan kunci meliputi: a).

Tabib /dukun (orang yang memahami jenis tumbuhan obat, cara pemanfaatannya dan relatif banyak dikunjungi oleh masyarakat untuk berobat), b). Sesebuah kampung (orang yang memahami jenis tumbuhan obat, cara pemanfaatannya tetapi relatif tidak dikunjungi oleh masyarakat untuk berobat, dan golongan kedua yaitu: informan non kunci (orang yang memahami tentang tumbuhan obat dari informan kunci sekaligus mengkonsumsinya).

3.1.4 Alat dan Bahan

3.1.4.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian etnobotani adalah kamera, alat perekam dan alat tulis.

3.1.4.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian etnobotani yang digunakan adalah semua tumbuhan obat yang digunakan oleh masyarakat Desa Kotah dan Jungkarang Kecamatan Jrengik Kabupaten Sampang Madura yang berpotensi sebagai obat penyakit kulit bisul.

3.1.5 Prosedur Penelitian

3.1.5.1 Studi Pendahuluan

Studi pendahuluan dilakukan untuk mengetahui Desa yang akan dijadikan sebagai lokasi penelitian dan penentuan informan kunci atau *key informan*. Informan kunci merupakan orang yang lebih memahami tentang tumbuhan obat. Untuk pemilihan lokasi penelitian terlebih dahulu harus mengetahui bahwa masyarakat desa tersebut masih menggunakan tumbuhan sebagai obat tradisional untuk penyakit kulit bisul.

3.1.5.2 Survey Etnobotani

Menurut Manjang (2000) dalam Adfa (2005), survey etnobotani meliputi survey lapangan, wawancara dan pengambilan sampel. Untuk mengetahui kearifan lokal masyarakat di Kecamatan Jrengik terhadap tumbuhan obat tradisional penyakit kulit bisul, maka dilakukan wawancara dengan penduduk etnik Madura di Kecamatan Jrengik Kabupaten Sampang, baik berupa nama lokal tumbuhan, bagian atau organ tumbuhan yang digunakan, cara perolehan serta cara pemanfaatan.

3.1.6 Pengumpulan Data

Pengumpulan data tentang etnobotani tumbuhan yang berpotensi sebagai obat penyakit kulit bisul oleh masyarakat Desa Kotah, Jungkarang dan Desa Jrengik Kecamatan Jrengik Kabupaten Sampang Madura, dilakukan dengan menggunakan teknik wawancara semi terstruktur yang berpedoman pada daftar pertanyaan seperti: nama lokal tumbuhan, bagian yang dimanfaatkan, cara perolehan tumbuhan serta cara pemanfaatan. Setiap tumbuhan yang digunakan sebagai obat penyakit kulit bisul difoto dan direkam menggunakan data rekam sebagaimana tertera pada tabel 3.1 sebagai berikut:

Tabel 3.1 Perekam Data Hasil Penelitian

No	Nama Tumbuhan		Familia	Organ yang digunakan	Cara perolehan	Cara pemanfaatan
	Lokal	Ilmiah				

Bahasa yang digunakan dalam wawancara adalah bahasa Madura dan bahasa Indonesia disesuaikan dengan kemampuan responden. Data yang didapatkan kemudian dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

1. Persentase tingkat penggunaan jenis tumbuhan berpotensi obat penyakit kulit bisul.

$$\text{Jenis Tumbuhan} = \frac{\sum \text{Responden yang menyebutkan suatu jenis tumbuhan}}{\sum \text{Total responden}} \times 100 \%$$

2. Persentase organ tumbuhan yang berpotensi obat penyakit kulit bisul

$$\text{Organ Tumbuhan} = \frac{\sum \text{Organ tumbuhan jenis (i) yang disebutkan responden}}{\sum \text{Total seluruh organ tumbuhan yang disebutkan responden}} \times 100\%$$

3. Persentase sumber perolehan tumbuhan berpotensi obat penyakit kulit bisul

$$\text{Sumber Perolehan} = \frac{\sum \text{Sumber perolehan jenis (i) yang diperoleh responden}}{\sum \text{Total seluruh perolehan yang disebutkan responden}} \times 100 \%$$

3.1.7 Teknik Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan teknis analisis deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Analisis ini merupakan analisis isi (*content analysis*) berdasarkan data pengetahuan responden terhadap tumbuhan sebagai obat penyakit

kulit bisul. Data kualitatif didapat dari hasil wawancara masyarakat untuk mengetahui jenis tumbuhan, organ yang digunakan, sumber perolehan dan cara pemanfaatan tumbuhan yang digunakan sebagai obat penyakit kulit. Sedangkan data kuantitatif berupa persentase penggunaan tumbuhan obat penyakit kulit bisul dengan menggunakan *Mixrosoft Office Excel* berupa organ tumbuhan, sumber perolehan tumbuhan dan tingkat penggunaan jenis tumbuhan yang digunakan sebagai obat penyakit kulit. Identifikasi tumbuhan dicocokkan dengan literatur yang mendukung yaitu *Flora of Java* volume I, II, III (Backer dan Van Der Brink, 1968), dan pustaka lainnya yang relevan.

3.2 Penelitian Mikrobiologi

3.2.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan menggunakan metode dilusi agar dengan uji *kirby-bauer* (cakram). Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Perlakuan dalam penelitian, yakni variasi konsentrasri ekstrak tumbuhan berpotensi obat bisul oleh masyarakat Kecamatan Jrengik yang menduduki persentase tertinggi keempat, karena persentase tertinggi pertama sudah pernah dilakukan oleh pihak lain, maka dilanjutkan pada persentase tertinggi keempat yang cara penggunaannya sama dengan persentase tertinggi pertama yaitu sebagai obat luar. Variasi konsentrasi ekstrak daun ketela rambat terdiri dari 6 perlakuan termasuk kontrol (pelarut aquades) dengan 3 ulangan, sehingga ada 18 satuan percobaan, perlakuan yang digunakan antara lain:

K₁= Ekstrak daun ketela rambat 0% (pelarut aquades)

K₂= Ekstrak daun ketela rambat 3% (3 mg/mL)

K₃= Ekstrak daun ketela rambat 4% (4 mg/mL)

K₄= Ekstrak daun ketela rambat 5% (5 mg/mL)

K₅= Ekstrak daun ketela rambat 6% (6 mg/mL)

K₆= Ekstrak daun ketela rambat 7% (7 mg/mL)

3.2.2 Waktu dan Tempat

Penelitian mikrobiologi tentang daya hambat tumbuhan obat penyakit kulit bisul dilakukan pada bulan Mei- Juni 2013 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2.3 Variabel Penelitian

Variabel-variabel dalam penelitian ini meliputi:

1. Variabel Bebas.

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak tumbuhan obat penyakit kulit bisul dengan tumbuhan yang menunjukkan data persentase paling tinggi dalam penelitian etnobotani tumbuhan obat penyakit kulit bisul Kecamatan Jrengik Sampang Madura.

2. Variabel Terikat.

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah zona hambat yang dihasilkan pada media *Nutrient Agar* (NA) terhadap bakteri *S.aureus* dalam satuan milimeter (mm).

3.2.4 Obyek Penelitian

Obyek penelitian adalah bakteri *S.aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan tumbuhan obat penyakit kulit bisul dengan persentase penggunaan tertinggi oleh masyarakat Kecamatan Jrengik Kabupaten Sampang Madura.

3.2.5 Alat dan Bahan

3.2.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, bunsen, timbangan analitik, stirrer, *Laminar Air Flow* (LAF), pipet, pinset, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, rak tabung reaksi, gelas ukur, inkubator, jarum ose, kapas, kain kasa, aluminium foil dan mistar.

3.2.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan obat penyakit kulit dengan. Bakteri *Staphylococcus aureus*, media *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), aquades etanol 70% dan alkohol 70%.

3.2.6 Prosedur Penelitian

3.2.6.1 Preparasi Sampel

Tumbuhan obat penyakit kulit bisul diperoleh dari perumahan warga Desa Kotah dan Jungkarang dan diambil masing-masing sebanyak 1 kg dicuci bersih dan ditiriskan, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terkena sinar matahari secara langsung. Pengerinan dilanjutkan dengan cara menjemur tumbuhan 3-7 hari dengan suhu di ruangan 35°-37°C, kemudian dihaluskan menggunakan mesin penggiling sampai terbentuk serbuk simplisia.

3.2.6.2 Tahap Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 200 gram serbuk simplisia yang telah dihaluskan dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan pelarut etanol 96%, kemudian digoyang selama satu jam untuk mencapai kondisi homogen dalam *shaker water bath* dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*) selama 1 jam. Selanjutnya larutan dimaserasi selama 24 jam pada suhu kamar, setelah 24 jam, larutan difiltrasi atau dipisahkan dengan menggunakan *penyaring Buchner*. Kemudian residu penyaringan di angin-anginkan dan dilakukan remaserasi ulang selama 24 jam, maserasi di ulang sampai 3 kali. Hasil saringan 1-3 dicampur dan dipekatkan dengan *Rotary vakum evaporator* dengan suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk uji antibakteri.

3.2.6.3 Tahap Pengenceran Ekstrak Daun Ketela Rambat

- Konsentrasi 0% = tanpa ekstrak pekat (menggunakan aquades)

- Konsentrasi 3% = 3 mg ekstrak pekat + 9,7 ml aquades
- Konsentrasi 4% = 4 mg ekstrak pekat + 9,6 ml aquades
- Konsentrasi 5% = 5 mg ekstrak pekat + 9,5 ml aquades
- Konsentrasi 6% = 6 mg ekstrak pekat + 9,4 ml aquades
- Konsentrasi 7% = 7 mg ekstrak pekat + 9,3 ml aquades

3.2.7 Data Mikrobiologi

Data uji daya hambat terhadap bakteri *S.aureus* dilaksanakan sebagai berikut: mengukur zona hambat dengan menggunakan mistar. Diameter zona hambat ditunjukkan dengan adanya zona radikal ataupun irradikal disekeliling kertas cakram, seperti gambar 3.1 sebagai berikut:



Gambar 3.1 Metode Kirby-Bauer (Pratiwi:2008)

3.2.8 Uji Daya Hambat Tumbuhan Obat Penyakit Kulit Bisul terhadap Bakteri *S. aureus*

Uji daya hambat aktivitas bakteri *S.aureus* dilakukan dengan metode dilusi atau seri pengenceran tabung, menggunakan 10 tabung reaksi steril (setiap tabung diisi dengan aquades steril sebanyak 9 mL) dengan interval pengenceran 10 kali secara aseptis, yaitu diambil 1 mL suspensi bakteri *S.aureus* dari media *Nutrient*

Broth (NB) dengan menggunakan micropipet. Suspensi bakteri *S.aureus* sebanyak 1 mL diencerkan dari tabung 1 ke tabung 2 dipindah ke tabung 3, dan seterusnya sampai tabung 10. Setelah itu hasil pengenceran tersebut dituang ke cawan petri yang telah disterilkan sebelumnya dan ditambahkan media *Nutrient Agar* (NA) di atasnya lalu ditunggu sampai padat. Apabila media telah padat, maka selanjutnya memasukkan paper disk yang telah direndam selama 30 menit kedalam ekstrak sampel dengan konsentrasi berbeda menggunakan pinset steril dan ditekan sedikit, kemudian cawan petri tersebut digerakkan diatas meja dengan hati-hati untuk menyebarkan sel-sel bakteri secara merata yaitu dengan gerakan melingkar atau gerakan seperti angka delapan. Setelah memadat cawan-cawan tersebut di dalam inkubator dengan posisi terbalik. Inkubasi dilakukan selama 24-48 jam pada suhu 37°C , selanjutnya diamati zona hambatnya (Bonang dan Koeswandono, 1982).

Apabila ada potensi antibiotik, maka disekitar kertas cakram akan terlihat zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Kemudian mengukur diameter zona hambat disekitar kertas cakram. Luas zona hambatan ditentukan dengan cara mengurangi diameter keseluruhan (cakram + zona hambatan) dengan diameter zona hambat pelarut.

3.2.9 Teknik Analisis Data

Analisis data pada uji data hambat tumbuhan obat penyakit kulit bisul terhadap bakteri *S.aureus* adalah deskriptif kuantitatif berdasarkan zona hambat yang dihasilkan disekitar *paper disk*. Data efektifitas bahan aktif diuji menggunakan ANOVA satu jalur, apabila terdapat adanya pengaruh atau

perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Efektifitas dari bahan aktif ditentukan oleh perbandingan diameter zona hambat dengan nilai standart. Potensi antibiotik nilai standart tersebut mengacu pada ketentuan David Stout (2003), sebagaimana terangkum pada tabel 3.2 yaitu:

Tabel 3.2 Potensi Antibiotik Nilai Standart Ketentuan David Stout

Daerah hambatan (mm)	Potensi antibiotik
> 20	Sangat kuat
10-20	Kuat
5-10	Sedang
<5	Lemah

