

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen karena adanya perlakuan terhadap sediaan antibiotik amoxicillin *dry* sirup yang dipengaruhi oleh suhu penyimpanan terhadap aktivitas antibakteri dengan cara mengukur diameter zona hambat aktivitas antibakteri.

3.2 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2018 - Februari 2019, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang di daerah Karawang - Jawa barat.

3.3 Alat dan bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Batang pengaduk, cawan petri, labu erlenmeyer, inkubator, laminary air flow (LAF), autoklaf, bunsen, penggaris, spidol, pinset, pipet tetes, mikropipet, rak tabung, tabung reaksi, jarum ose, kapas swab, timbangan analitik, termometer, gelas ukur, lemari es, lemari etalase, lemari obat, jangka sorong, kaca arloji, spatula, batang pengaduk, lubang sumuran, label, pulpen.

3.3.2 Bahan

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Dry sirup amoxicilin 125mg/5ml dalam kemasan, Biakan bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, Aquadest, NaCl, dan media perbenihan Nutrien Agar CM0003.

3.4 Prosedur penelitian

3.4.1 Survei apotek

Kegiatan dengan mengunjungi apotek di daerah Telukjambe-Karawang yang menggunakan pendingin ruangan atau tidak, kemudian mengukur suhu ruangan tersebut dan mengambil sampel suspensi amoxicillin untuk diuji potensinya secara mikrobiologi.

3.4.2 Perlakuan sediaan antibiotik dry sirup

Sediaan *dry* sirup 125mg/5ml yang digunakan sebagai sampel dibeli dalam satu apotek di daerah karawang, kemudian sediaan *dry* sirup disuspensikan terlebih dahulu dengan air sesuai dengan cara pembuatan suspensi yang terdapat pada brosur obat masing-masing. Kemudian suspensi tersebut disimpan pada berbagai macam variasi suhu yang berbeda yaitu suhu dingin (2-8°C) suhu yang digunakan adalah (7°C), suhu sejuk (8-15°C) suhu yang digunakan adalah (15°C), suhu kamar (20-25°C) suhu yang digunakan adalah (25°C), dan suhu ruangan (25-30°C) suhu yang digunakan adalah 30°C. Pengukuran diameter hambat dilakukan pada hari ke 1,5,7 dan 14 hari penyimpanan.

3.4.3 Persiapan sampel

Media antibiotik Amoxicillin *dry sirup* 125 mg ditambahkan air dengan jumlah yang sesuai seperti tertulis pada etiket, masing-masing media disimpan pada suhu 7°C, 15°C, 25°C, 30°C selama 14 hari penyimpanan.

3.4.4 Sterilisasi alat dan bahan

Sebelum pengerjaan, semua alat dan bahan yang akan digunakan dalam uji aktivitas bakteri harus disterilkan terlebih dahulu. Alat berbahan kaca atau gelas dan bahan yang akan digunakan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan untuk alat logam disterilkan dengan cara dibakar menggunakan lampu spiritus.

3.4.5 Cara difusi agar teknik perforasi

Pada penelitian ini menggunakan cara difusi agar, metode *disc diffusion* untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakan pada media agar yang telah ditanami mikroorganismenya yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganismenya oleh agen antimikroba pada permukaan media agar. Diameter zona hambat ini kemudian diukur untuk menentukan kekuatan aktivitas antimikroba (Pratiwi, 2008). Metode difusi ini merupakan metode yang paling sering digunakan karena mempunyai keuntungan ekonomis, sederhana, dan reproduksibel. Pada cara difusi agar sebagai piringan yang berisi agen antimikroba dapat digunakan cara silinder logam, cakram kertas, dan lubang sumuran *Cup-plate technique*. Pada penelitian ini digunakan teknik perforasi yaitu dengan lubang sumuran, cara yang dilakukan yaitu dengan dimasukan zat yang akan diuji aktivitas bakterinya kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Keuntungan dari metode ini yaitu jumlah antibakteri yang berdifusi dapat terukur jumlahnya dengan medium yang digunakan tidak begitu tebal namun bila cetak lubang kurang sempurna maka akan mempengaruhi difusi zat uji (Pratiwi, 2008).

3.5 Prosedur kerja

3.5.1 Pembuatan media Nutrient Agar

Sebanyak 2,8 gram nutrient agar (NA) disuspensikan ke dalam 100 ml aquadest dan dipanaskan hingga terbentuk larutan jernih, kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Larutan nutrient agar steril diisikan ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml hingga membeku.

3.5.2 Pembuatan suspensi bakteri

Mengambil koloni bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* dari sub media kultur menggunakan ose kemudian disuspensikan ke dalam 5 atau 10 ml NaCl.

3.5.3 Uji potensi secara mikrobiologi

Untuk menentukan potensi obat yang di pengaruhi suhu dan waktu penyimpanan dapat di lakukan dengan cara memasukkan swab kapas steril ke dalam tabung berisi suspensi bakteri dan biarkan sampai meresap ke dalam swab kapas. Kemudian ambil suspensi bakteri dengan swab kapas steril tersebut, dan tekan pada dinding tabung suspensi bakteri, lalu goreskan secara merata pada media NA yang sudah di beri garis pada cawan petri. Setelah di goreskan/ swab, kemudian di lakukan teknik perforasi lubang sumuran, dan di masukan sampel antibiotik dengan variasi suhu yang berbeda pada lubang sumuran tersebut dengan menggunakan mikropipet. Lalulakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diukur diameter zona hambatan suspensi amoksisilin dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan millimeter (mm).

3.6 Variabel

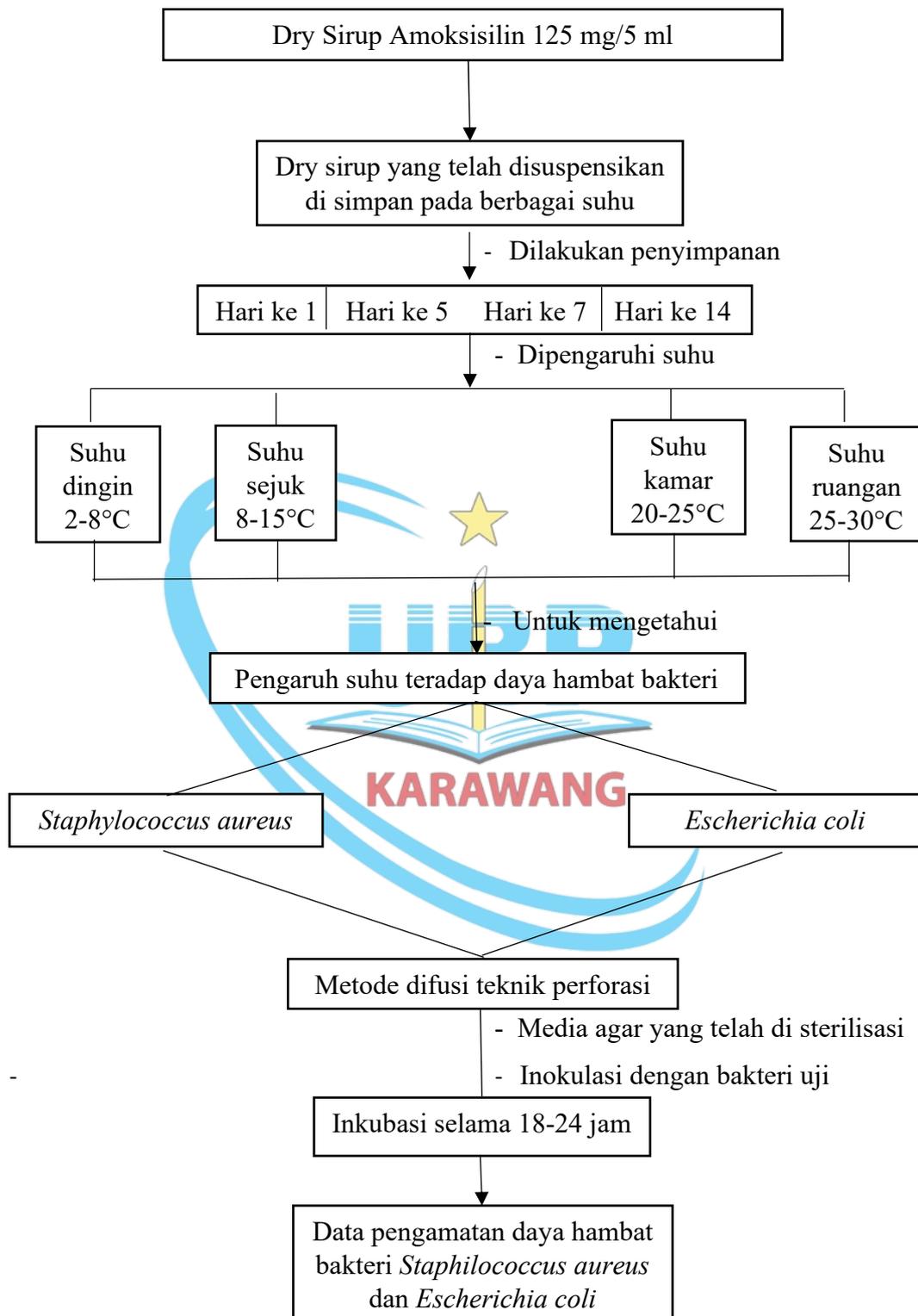
1. Variabel independent

Variabel independent adalah antibiotik *dry* sirup yang sudah disuspensikan dismpn pada berbagai variasi suhu dengan lama penyimpanan selama 14 hari.

2. Variabel dependent

Variabel dependent adalah diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

3.7 Diagram Alir



Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian

