BAB III
METODE PENELITIAN

3.1.Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk kedalam penelitian deskriptif yang memiliki tujuan untuk memberikan gambaran suhu penyimpanan sediaan suspensi antasida terhadap jumlah koloni bakteri.

3.2.Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1.Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2025

3.2.2.Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang Jl. Besar Ijen No.77 C Malang.

3.3.Bahan dan Alat

3.3.1.Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel suspensi Antasida DOEN 11,5 mL, Media *Tryptic Soya Broth* (TSB), Media *Tryptic Soya Agar* (TSA), aquadest, alkohol, kapas, kertas tahan panas, tali benang dan tissue.

3.3.2.Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, inkubator, neraca analitik, vortex, *hotplate*, gelas beker, gelas ukur, batang pengaduk, erlenmeyer, cawan petri, bunsen, pemantik, pipet ukur, bulb, rak tabung, tabung reaksi, mikropipet dan bluetip.

3.4.Variabel Penelitian

3.4.1.Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah suhu penyimpanan.

3.4.2.Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah Jumlah Koloni

3.5.Definisi Operasional

Tabel 3.5 Definisi Operasional 1

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat Ukur	Skala Data
Suhu Penyimpanan Sediaan Suspensi Antasida	Suhu penyimpanan sediaan suspensi Antasida yang diperoleh dari suhu terendah dan tertinggi dari rata-rata suhu harian di Jawa Timur pada tahun 2024	Suhu penyimpanan yang dibedakan yaitu 16,2°C dan 37,4°C dan penyimpanan sediaan selama 2 hari	Termometer ruang	Rasio
Jumlah Koloni	Suatu nilai yang menyatakan jumlah pertumbuhan koloni bakteri dari sediaan suspsensi Antasida yang disimpan dengan suhu berbeda pada sebuah media *Tryptic Soya Agar* (TSA)	Menghitung adanya pertumbuhan koloni pada media agar	*Colony Counter*	Nominal

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1.Uji Pendahuluan

Sebelum dilakukan pengujian pada sampel, dilakukan uji pendahuluan terlebih dahulu. Uji pendahuluan dilakukan pada sediaan suspensi antasida yang baru dibuka tanpa adanya penyimpanan pada suhu tertentu. Prosedur yang dilakukan dimulai dari nomor 3.6.3 hingga 3.6.8. Namun pada uji pendahuluan tahap penyiapan sampel dilakukan pengenceran dengan seri konsentrasi 10^{-1} hingga 10^{-5}.

3.6.2.Penyimpanan dan Perlakuan Sediaan

Sediaan disimpan selama 2 hari pada suhu yang berbeda yaitu 16,2°C dan 37,4°C, dengan perlakuan setiap sediaan dilakukan penuangan 3 kali sehari dengan volume penuangan sebanyak 5 mL. Sehingga sisa sediaan yang terdapat pada botol adalah 25 mL yang akan digunakan untuk pengujian.

3.6.3.Penentuan Bobot Jenis Sediaan

Penentuan bobot jenis dilakukan dengan cara menimbang piknometer dalam keadaan kosong dan kering, catat hasil penimbangan. Kemudian menimbang piknometer berisi aquadest, catat hasil penimbangan dan yang terakhir menimbang piknometer berisi sediaan suspensi antasida, catat hasil penimbangan. Selanjutnya dilakukan perhitungan bobot jenis.

3.6.4.Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat menggunakan metode sterilisasi kering dengan alat oven pada suhu 170°C selama 90 menit, dilakukan dengan cara bungkus alat yang akan di sterilisasi menggunakan kertas tahan panas, ikat dengan benang wol dan hindari mengikat dengan karet. Masukkan alat ke dalam oven, hubungkan ke aliran listrik dan tekan tombol, tunggu hingga 90 menit dan keluarkan alat menggunakan sarung tangan tahan panas.

3.6.5.Pembuatan Media *Tryptic Soya Broth* (TSB)

Pembuatan media *Tryptic Soya Broth* (TSB) ini mengacu pada petunjuk pembuatan yang tertera di pada botol media. Media tersebut akan digunakan sebagai pengencer sampel, yang dibuat dengan cara menimbang media sebanyak 6 gram, dilarutkan dengan aquadest sebanyak 200 mL. Kemudian dipanaskan diatas *hotplate* dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga media terlarut sempurna, yang ditandai dengan larutan menjadi bening. Di sterilisasi didalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

3.6.6.Penyiapan Sampel

Penyiapan sampel uji dilakukan secara aseptis didalam *Laminar Air Flow* (LAF) dengan cara sampel uji disuspensikan dengan perbandingan 1 dalam 10 Media *Tryptic Soy Broth* (TSB) (Suplemen 1, 2022) dan dilakukan pengenceran dengan seri konsentrasi 10^{-1}, 10^{-2} dan10^{-3}.

3.6.7.Pembuatan Media *Tryptic Soya Agar* (TSA)

Pembuatan Media *Tryptic Soya Agar* (TSA) ini mengacu pada petunjuk pembuatan yang tertera pada botol media. Dibuat dengan cara menimbang media sebanyak 10 garm yang dilarutkan dengan aquadest sebanyak 250 mL. Kemudian dipanaskan diatas *hotplate* dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga media terlarut sempurna, yang ditandai dengan larutan menjadi bening. Di sterilisasi didalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah suhu media lebih kurang 45 °C, dituang sebanyak 15-20 mL pada tiap cawan petri steril dan biarkan memadat (Suplemen 1, 2022). Kemudian media dikeringkan untuk menghilangkan lapisan air pada permukaan media dengan cara dikeringkan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) dengan posisi cawan terbalik dan tutup terbuka (Pradhika, 2018).

3.6.8.Inokulasi

Inokulasi dilakukan secara aseptis didalam *Laminar Air Flow* (LAF) dengan cara sampel dengan seri pengenceran yang telah dibuat, diinokulasikan sebanyak 0,1 mL kedalam masing-masing media yang sudah memadat. Dibuat kontrol negatif dengan menginokulasikan 0,1 mL pengencer tanpa sampel kedalam media yang sudah memadat (Suplemen 1, 2022). Inokulasi dilakukan secepat mungkin tanpa menyentuh pinggiran cawan dan disebarkan menggunakan alat *spreader*, kemudian dibiarkan terserap oleh agar sekitar 15 menit pada suhu ruang (Pradhika, 2018). Kemudian diinkubasi didalam inkubator dengan suhu 30°C-35°C selama 3-5 hari.

3.7.Pengolahan dan Penyajian Data

3.7.1.Pengolahan Data

- Menghitung jumlah koloni pada setiap cawan petri, dari kedua perbedaan suhu penyimpanan menggunakan alat *colony counter*.
- Dipilih jumlah koloni yang paling banyak tumbuh pada masing-masing penyimpanan.

3.7.2.Penyajian Data

- Data disajikan dalam bentuk tabel

Tabel 3.7.2 Penyajian Data 1

No	Seri Pengenceran	Jumlah Koloni			
		Suhu 16,2°C		Suhu 37,4°C	
		Cawan 1	Cawan 2	Cawan 1	Cawan 2
1.	10^{-1}				
2.	10^{-2}				
3.	10^{-3}				
Kontrol :					