

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental, yaitu metode yang bertujuan untuk menguji pengaruh suatu variabel terhadap variabel lain atau menguji bagaimana hubungan sebab akibat antara variabel yang satu dengan variabel yang lain (Ratminingsih, 2010). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap stabilitas sediaan sirup ranitidin. Stabilitas sediaan yang diteliti meliputi uji organoleptis, uji pH, uji Angka Lempeng Total (ALT) dan kontaminasi mikroorganisme sirup ranitidine.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan mulai 30 Mei 2023- 6 Juni 2023

3.2.2 Tempat Penelitian

Untuk Uji Organoleptik dan Uji Kontaminasi Organisme dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Malang dan untuk Uji Ph dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Machung.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, gelas ukur 10 ml dan 100 ml(IWAKI) , labu ukur 10 ml dan 100 ml(PYREX), pipet volume 10 ml(PYREX), pipet tetes, pH meter, ballpipet, alumunium foil, batang pengaduk, termometer ruang, Autoklaf, cawanpetri, inkubator, lemari es dan stopwatch.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, sampel sirup Ranitidine A dengan kekuatan sediaan 75 mg/5 ml sebanyak 2 botol dan Ranitidine B dengan kekuatan sediaan 75 mg/5 ml sebanyak 2 botol, media Agar PCA.

3.4 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan diperoleh dari 2 Apotek yang berbeda. Pada apotek A didapatkan 2 botol sampel Ranitidine Generik dan pada apotek B didapatkan 2 botol sampel Branded Ranitidine

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel bebas

Dalam penelitian ini variabel bebas yang diteliti adalah suhu penyimpanan yaitu suhu $5^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$ (dingin) dan $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$ (ruang).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah stabilitas sediaan sirup Ranitidin yang meliputi uji organoleptis, uji pH dan uji kontaminasi mikroorganisme.

3.6 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat Ukur	SkalaData
Suhu penyimpanan	Suhu penyimpanan merupakan suatu besaran yang menyatakan derajat panas atau dingin dalam kegiatan menyimpan dan memelihara obat dengan tujuan untuk menjaga mutu dan stabilitas obat (Isfi, 2013).	Suhu penyimpanan yang dibedakan pada suhu $5^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$ (dingin) dan $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$ (ruang).	Termometer	Rasio

Organoleptis	Pengujian organoleptis adalah pengujian yang didasarkan pada proses pengindraan yang meliputi pengamatan pada warna, rasa dan aroma (Henry dkk, 2016).	Melihat warna, aroma dan rasa sampel sesudah mendapat perlakuan.	Pancaindra	Nominal
pH	Pengujian derajat keasaman dari sediaan yang dilakukan (Sayuti, 2015).	Menentukan tingkat keasaman atau kebasaaan yang dimiliki oleh suatu larutan sirup sesudah mendapatkan perlakuan.	pH meter	Rasio
Kontaminasi mikroorganisme	Untuk menjaga atau mempertahankan jumlah dan menekan pertumbuhan mikroorganisme yang terdapat dalam sediaan tersebut hingga jangka waktu tertentu yang diinginkan (Ririn, 2015).	Melihat adanya pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.	PancaIndra	Interval

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Persiapan dan Penyimpanan Sampel

Sampel ranitidin yang diperoleh dari 2 Apotik berbeda di Kota Malang diberi label (A) Generik dan (B) Branded. Masing-masing sampel diletakkan dalam tempat penyimpanan dengan suhu yang berbeda. Sampel dengan label (A) Generik diletakkan pada ruang bersuhu dingin ($5^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$). Sampel dengan label (B) Branded

pada ruang bersuhu ruang ($25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$). Masing-masing sampel diberi perlakuan selama hari ke 1, 3, dan 5. Dilakukan pengambilan sampel sebanyak 2x1 hari dengan pengambilan sampel uji pada siang hari sebanyak 1 sendok makan setiap pengambilan.

3.7.2 Uji Organoleptis

Uji organoleptis sampel dilakukan dengan mengamati warna, aroma dan rasa. Sirup Ranitidin disimpan pada suhu dingin ($5^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$) dan suhu ruang ($25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$) kemudian diamati warna, bau, dan rasa sediaan sirup. Penelitian ini direplikasi sebanyak dua kali pada setiap sampel. Pengukuran dilakukan pada hari ke-1, hari ke-3, dan hari ke-5 selama penyimpanan.

- Cara pengujian Organoleptis

Pengujian dilakukan pada hari ke-1, hari ke-3 dan hari ke-5 dengan mengambil sampel sebanyak 1 sendok makan dan diamati untuk rasa, bau dan warnanya.

3.7.3 Uji pH

Sirup Ranitidin disimpan pada suhu dingin ($5^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu ruang ($25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$) kemudian diukur pH sirup dengan Ph meter. Penelitian ini direplikasi sebanyak dua kali pada setiap sampel. Pengukuran dilakukan pada hari ke-1, ke-3, dan ke-5 selama penyimpanan. Pengukuran dilakukan dengan cara:

3.7.3.1 Alat

pH meter, beaker glass

3.7.3.2 Cara Kerja

1. pH meter di kalibrasi terlebih dahulu
2. Celupkan elektroda ke dalam larutan buffer pH 7
3. Bilas dengan aquadest
4. Kemudian siapkan sampel sirup ranitidine, dengan cara menungkan sampel kedalam beaker glass. Karena sampel berbentuk larutan maka tidak diperlukan melakukan pengenceran.
5. Celupkan elektroda ke dalam larutan sampel dan diamkan beberapa waktu hingga hasil pH terlihat pada layar
6. Selanjutnya bilas elektroda dengan aquadest, dan lap dengan tisu bersih

7. Langkah tersebut dilakukan pada hari ke-1, hari ke-3, dan hari ke-5.

3.7.4 Preparasi Sampel

3.7.4.1 Sterilisasi Alat

Peralatan Uji

1. Sterilisasi peralatan penelitian yang terbuat dari kaca/gelas seperti erlenmeyer, cawan petri, gelas ukur dan alat uji
2. Alat kaca tersebut dimasukkan kedalam oven dengan temperatur 180°C selama 1-3 jam, dan alat kaca tersebut dikeluarkan dari oven ketika thermometer tools telah menunjukkan temperatur dibawah 100°C
3. Untuk alat dengan bahan plastik maupun karet seperti tip, karet pipa, dan media, sterilisasi dilakukan di dalam autoklaf selama 15 menit pada 121°C atau pada titik 1,5 atm autoklaf

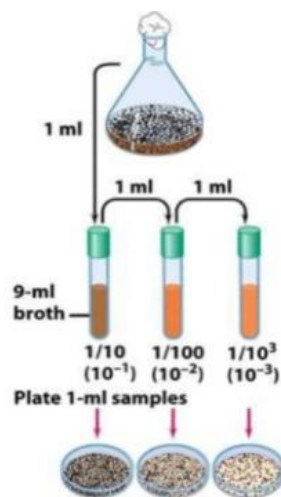
3.7.4.2 Pembuatan Media PCA

1. Menimbang 22,5 gram PCA pada neraca, masukkan kedalam beaker glass dan larutkan pada 1 liter aquadest
2. Panaskan pada temperatur $\pm 80^{\circ}\text{C}$ sambil diaduk menggunakan alat hot plate/kompor listrik
3. Pastikan media larut dengan sempurna/homogen yang ditandakan dengan media yang berwarna cenderung bening dan tidak ada penggumpalan sedikitpun
4. Media yang telah jadi dimasukkan kedalam erlenmeyer dan sumbat mulut erlenmeyer dengan kapas steril pembalut agar tidak longgar
5. Setelah disterilisasi dengan autoklaf dan media masih bersifat cair, media dalam erlenmeyer dimiringkan hingga 45°C - 50°C dan dituang kedalam cawan steril secara aseptis dalam laminar air flow yang sebelumnya telah disterilisasi ulang dengan alkohol 70% dan on UV-Light dalam ± 15 menit
6. Tunggu media hingga memadat dan simpan dengan kondisi agar pada cawan menghadap terbalik dan dilapisi dengan aluminium foil pada temperatur 2°C - 6°C apabila tidak digunakan.

3.7.4.3 Pengenceran Sampel

Pengenceran sampel yang dilakukan pada penelitian ini 10^1 , 10^2 , 10^3 . Untuk pengenceran 10^1 dipipet 1 ml sampel lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquadest steril. Untuk pengenceran 10^2 dipipet 1 ml dari tabung pengenceran

10^1 dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kedua yang berisi 9 ml aquadest steril, dan yang terakhir untuk pengenceran 10^3 dipipet 1 ml dari pengenceran 10^2 dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi ketiga yang juga berisi 9 ml aquadest steril.



Gambar 3. 1 Pengenceran Sampel

3.7.5 Uji Angka Lempeng Total

Uji kontaminasi mikroorganisme dilakukan dengan mengamati sediaan sirup yang ditumbuhi mikroorganisme. Sirup ranitidin disimpan pada suhu dingin ($5^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$) dan suhu ruang ($25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}$). Penelitian ini direplikasi sebanyak dua kali setiap sampel. Pengujian dilakukan pada hari ke-1, ke-3, dan ke-5 selama penyimpanan.

Pengenceran sampel yang telah dibuat sebelumnya di 3.6.4.3 dipipet masing-masing 1 ml secara aseptis ke dalam cawan petri steril dan dibuat duplo. Media PCA sebanyak 20 ml yang telah dicairkan bersuhu $\pm 1^{\circ}\text{C}$ dalam waktu 15 menit dari pengenceran pertama dituangkan pada setiap cawan petri. Cawan petri digoyangkan secara perlahan agar sampel tersebut merata pada media dan biarkan hingga memadat. Uji kontrol dilakukan untuk mengetahui sterilitas media dan pengencer. Uji sterilitas media dilakukan dengan cara menuangkan media PCA dalam suatu cawan petri dan dibiarkan memadat. Uji sterilitas pengencer dilakukan dengan cara menuangkan media PCA yang ditambahkan sebanyak 1 ml pengencer lalu dibiarkan memadat.

Seluruh cawan petri diinkubasi terbalik pada suhu 35°C selama 24 jam hingga 48 jam. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung.

3.8 Teknik Analisis Data

Mendeskripsikan hasil perbandingan uji organoleptis sesudah diberi perlakuan yang meliputi warna, aroma dan rasa dari sampel. Mengukur dan membandingkan nilai pH sampel yang disimpan di suhu ruang dengan sampel yang disimpan di suhu dingin dengan menggunakan *Independent Sample T-test* dan *One-way Anova* pada program SPSS 23. Dan melihat adanya pertumbuhan mikroorganisme sampel yang disimpan di suhu dingin dengan sampel yang disimpan di suhu ruang.