

**PENGARUH PENYIAPAN TERHADAP
KONTAMINASI BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS
AUREUS* DAN *SALMONELLA SP* PADA SIRUP
OBAT BATUK HERBAL MULTIDOSIS**

LAPORAN TUGAS AKHIR

**DEWI PURNAMA
13151009**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI BANDUNG
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
BANDUNG
2017**

ABSTRAK**PENGARUH PENYIMPANAN TERHADAP KONTAMINASI
BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DAN *SALMONELLA
SP* PADA SIRUP OBAT BATUK HERBAL MULTIDOSIS**

Oleh

Dewi Purnama, 13151009

Sirup obat batuk herbal merupakan sediaan yang beresiko terkontaminasi bakteri selama masa penyimpanan, karena sirup obat batuk herbal dikemas dalam sediaan dosis ganda. Kontaminasi bakteri dapat menjadi masalah kesehatan utama apabila jumlahnya melebihi batas aman yaitu 10^2 cfu/ ml (USP). Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan pengaruh penyimpanan terhadap kontaminasi bakteri pada sirup obat batuk herbal multidosis yang dikonsumsi oleh pasien serta untuk mengetahui pengaruh lamanya penyimpanan terhadap kontaminasi bakteri. Metode perhitungan bakteri yang digunakan adalah Angka Lempeng Total (ALT) kemudian diuji selama 10 minggu. Kontaminasi bakteri yang melebihi ambang batas pada penyimpanan suhu ruang mulai terjadi pada minggu ke-8 untuk sampel SK 1 dan SK 2 sedangkan sampel SK 3 terjadi pada minggu ke-10. Selanjutnya kontaminasi sampel yang disimpan di suhu dingin mulai terjadi pada minggu ke-9 untuk sampel SD 1 dan SD 2 sedangkan sampel SD 3 tidak terjadi kontaminasi yang melebihi ambang batas sampai minggu ke-10. Dari hasil dapat disimpulkan, bahwa bakteri yang mengkontaminasi sirup obat herbal adalah *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp.* Dari pengolahan data statistik dapat disimpulkan bahwa suhu dan lama penyimpanan berpengaruh terhadap kontaminasi bakteri.

Kata kunci : sirup obat batuk herbal, kontaminasi bakteri, suhu, lama penyimpanan.

ABSTRACT**THE INFLUENCE OF RETENTION AGAINST
CONTAMINATION OF BACTERIA STAPHYLOCOCCUS
AUREUS AND SALMONELLA SP IN MULTI-DOSE HERBAL
COUGH SYRUP**

By

Dewi Purnama , 13151009

Herbal cough syrup is a medical preparation, which is at risk of bacterial contamination during storage, because herbal cough syrup is packaged in double-dose preparation. Bacterial contamination can be a major health problem if the amount exceeds the safe limit, 10^2 cfu/ml (USP). The purpose of this study is to determine the influence of bacterial contamination storage against the multi-dose herbal cough syrup consumed by patient and also to find out the influence of the length of retention against bacterial contamination. The method used was Angka Lempeng Total (ALT), then, the cough syrup was tested for ten weeks. In the storage room temperature, bacterial contamination which exceeded the threshold occurred in week 8, for sample SK 1 and SK 2 while for SK 3, it occurred in week 10. The subsequent contamination of the SD 1 and SD 2 stored at cool temperatures occurred in week 9 while in the SD 3, the contamination which exceeded the threshold did not occur until the week 10. From the results, it can be concluded that the bacteria which contaminated herbal cough syrup is Staphylococcus aureus and Salmonella sp. From the statistical data processing, it can be concluded that the temperature and duration of storage affected the bacterial contamination.

Keywords: herbal cough syrup, bacterial contamination, temperature, duration of storage.

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung dan terbuka untuk umum.

Referensi perpustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizing pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizing Ketua Program Studi di lingkungan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Diperuntukan kepada kedua orangtua tercinta, sahabat-sahabat
seperjuangan angkatan 2015

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji dan syukur penulis panjatkan ke khadirat Illahi Rabbi yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini yang berjudul “Pengaruh Penyimpanan Terhadap Kontaminasi Bakteri *Stapylococcus Aureus* dan *Salmonella sp.* Pada Sirub Obat Batuk Herbal Multidosis”. Sholawat serta salam semoga tetap tercurah limpahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabatnya.

Tugas Akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat ujian akhir program pendidikan Strata Satu di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung (STFB).

Dengan kesadaran hati, penulis ucapkan terima kasih kepada :

1. Allah SWT atas karunia dan rahmat-Nya karena penulis masih diberi kesehatan selama Penelitian Karya Tulis Ilmiah ini.
2. Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan do’a, motivasi, dukungan dan bantuannya, baik moril maupun materil kepada penulis sampai saat ini.
3. Bapak Entris Sutrisno, MH.Kes., Apt Sebagai Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Bandung
4. Bu Anne Yuliantini, M.Si., dan Bu Dewi Kurnia, M.Si Selaku dosen pembimbing utama dan pembimbing serta

yang telah banyak memberikan kesempatan dan waktu dalam memberikan bimbingan dan arahan.

5. Saudara, Sahabat, serta teman-teman yang selalu memberikan dukungan dan masukan-masukannya sehingga dapat lebih baik dalam menyelesaikan tugas akhir ini.

Penulis memahami sepenuhnya bahwa tugas akhir ini tidak luput dari kesalahan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi perbaikan di masa mendatang. Semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat khususnya untuk pembaca.

Bandung, Agustus 2017

penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	ii
<i>ABSTRACT</i>	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR.....	v
Bab I Pendahuluan	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Identifikasi Masalah	3
I.3 Batasan Masalah.....	3
I.4 Tujuan Penelitian.....	3
I.5 Manfaat Penelitian.....	3
Bab II Tinjauan Pustaka	4
II.1 Batuk.....	4
II.2 Obat Herbal.....	4
II.2.1 Jenis Obat Herbal	5
II.3 Kontaminasi bakteri pada sediaan herbal multidosis	7
II.4 <i>Staphylococcus Aureus</i>	8
II.4.1 Sifat Patogenesis dan Infeksi <i>Staphylococcus Aureus</i>	9
II.4.2 Epidemiologi peracunan oleh <i>Staphylococcus Aureus</i>	9
II.5 <i>Salmonella sp</i>	9
II.5.1 Sifat Patogenesis <i>Salmonella sp.</i>	9
II.5.2 Epidemiologi infeksi oleh <i>Salmonella sp.</i>	10
II.6 Metode pengujian dan perhitungan jumlah bakteri	11
II.7 Uji fertilitas media dan kontrol negatif.....	11
II.8 Hasil positif pada media	12
Bab III Metode Penelitian.....	13
III.1 Metode	13

III.2 Alat, bahan dan bakteri.....	13
III.2.1 Alat.....	13
III.2.2 Bahan.....	14
III.2.3 Bakteri	14
Bab IV Prosedur.....	15
IV.1 Persiapan bahan dan bakteri	15
IV.1.1 Sampel.....	15
IV.1.2 Media.....	15
IV.1.3 Bakteri	15
IV.2 Sampel	15
IV.3 Perlakuan Sampel	16
IV.4 Cara Pengambilan cuplikan sampel	16
IV.5 Pengujian.....	16
IV.5.1 Persiapan alat dan media	16
IV.5.2 Uji kesesuaian metode.....	17
IV.5.2.1 Uji fertilitas media.....	17
IV.5.2.2 Kontrol negatif	17
IV.5.3 Pengujian sampel	17
IV.6 Pengamatan Koloni.....	18
IV.7 Interpretasi hasil	18
Bab V Hasil	19
Bab VI Pembahasan	21
Bab VII Kesimpulan dan Saran.....	25
VII.1 Kesimpulan	25
VII.2 Saran.....	26
DAFTAR PUSTAKA.....	27

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel II.1 Perbedaan Eksotoksin dan Endotoksin	
Tabel II.2 Hasil Positif Pada Media.....	
Tabel V.1 Jumlah Koloni Bakteri.....	
Tabel V.2 Analisis <i>Staphylococcus aureus</i>	
Tabel V.3 Analisis <i>Salmonella sp.</i>	

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
LAMPIRAN 1 Uji Fertilitas.....	
LAMPIRAN 2 Minggu 0.....	
LAMPIRAN 3 Minggu 7.....	
LAMPIRAN 4 Media Mulai Terkontaminasi Oleh Bakteri <i>S.aureus</i> dan <i>Salmonella sp</i>	

Bab I Pendahuluan

I.1 Latar Belakang

Sirup merupakan bentuk sediaan yang paling nyaman untuk bayi, anak-anak dan orang dewasa. Ketika tablet dan kapsul tidak dapat ditelan dengan mudah, sirup umumnya disiapkan sebagai bentuk sediaan alternatif untuk pemberian oral. Sirup dalam kemasan botol dosis ganda sangat beresiko terkontaminasi oleh bakteri. Kontaminasi bakteri terhadap sediaan obat seperti sirup dan suspensi dapat menyebabkan pembusukan produk dan menyebabkan bahaya serius terutama pada anak-anak dan orang dewasa. Akibat dari mengonsumsi obat yang terkontaminasi tergantung pada jenis dan tingkat kontaminasi mikroba, luasnya kerusakan, rute masuk dan juga pada status kekebalan tubuh pasien. Kehadiran kontaminan mikroba tersebut menjadi masalah kesehatan utama apabila jumlahnya melebihi batas yang dapat diterima yaitu 10^2 cfu/mL yang direkomendasikan oleh USP (Abdullah Al Mamun et al., 2014).

Obat batuk herbal sering digunakan di masyarakat, tersedia dalam kemasan besar. Biasanya digunakan tidak terlalu lama sehingga cenderung disimpan setelah digunakan dan akan digunakan lagi saat batuk menyerang. Obat sisa ini disimpan bisa jadi karena masih terdapat banyak sisa, sedangkan gejala penyakit atau penyakitnya sendiri sudah mereda atau sembuh dan obat tersebut tidak dibuang sampai tanggal kadaluwarsa (expire date – ED). Tentu saja menjadi pertanyaan, apakah aman menggunakan obat sisa tersebut, terutama obat-obat dalam bentuk sediaan cair, misalnya sirup, obat tetes mata,

obat tetes telinga atau obat tetes hidung karena sudah terbuka segel penutupnya (USP., 2012).

Adanya mikroorganisme pada produk farmasi tergantung pada proses produksi, lingkungan produksi, kebersihan pekerja yang terlibat dalam pembuatan dan kondisi penyimpanan. Telah diterbitkan beberapa laporan mengenai kontaminasi mikrobiologi dari produk obat-obatan seperti sirup, suspensi, obat pediatrik oral dll di Bangladesh. Bakteri yang menjadi kontaminan adalah *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *coliform*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella sp* dan *Shigella sp*. (Abdullah Al Mamun et al., 2014). Berdasarkan data tersebut dapat dijelaskan bahwa mengonsumsi sediaan farmasi yang terkontaminasi bakteri dapat menyebabkan efek yang merugikan bagi tubuh. Untuk menghindari resiko tersebut penelitian ini dilakukan terhadap kontaminasi bakteri, terutama bakteri-bakteri dengan tingkat penyebab penyakit yang umum di Indonesia, yaitu: *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*. Pada pengaruh suhu dan waktu penyimpanan. Faktor penyimpanan yang salah dan tidak mengikuti prosedur pemakaian dapat meningkatkan risiko pencemaran oleh bakteri karena sirup obat batuk tersedia dalam dosis ganda dengan rentang waktu kadaluarsa yang cukup lama. Untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu penyimpanannya terhadap kontaminasi bakteri penelitian ini dilakukan setiap minggu selama total 10 minggu dengan menggunakan sampel yang disimpan dalam suhu kamar dan suhu dingin merupakan suhu yang dapat menggambarkan suhu penyimpanan yang sesungguhnya di masyarakat (Sujudi, H 1994).

I.2 Identifikasi Masalah

1. Apakah ada pengaruh suhu penyimpanan terhadap kontaminasi bakteri pada sirup obat batuk herbal multidosis ?
2. Berapa lama sirup obat batuk herbal dapat disimpan sebelum terkontaminasi bakteri?

I.3 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi dengan mengidentifikasi kemungkinan kontaminasi bakteri terhadap sirup obat batuk herbal multidosis yang dikonsumsi oleh pasien dan disimpan pada suhu dan jangka waktu tertentu.

I.4 Tujuan Penelitian

Menentukan pengaruh penyimpanan terhadap kontaminasi bakteri pada sirup obat batuk herbal multidosis yang dikonsumsi oleh pasien.

I.5 Manfaat Penelitian

Memberikan informasi kepada masyarakat secara ilmiah mengenai pengaruh penyimpanan terhadap kontaminasi bakteri pada sirup obat batuk herbal multidosis.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Batuk

Batuk merupakan mekanisme pertahanan tubuh di saluran pernapasan dan merupakan gejala suatu penyakit atau reaksi tubuh terhadap iritasi ditenggorokan karena adanya lendir, makanan, debu, asap dan sebagainya. Batuk terjadi karena rangsangan tertentu, misalnya debu direseptor batuk (hidung, saluran pernapasan, bahkan telinga). Kemudian reseptor akan mengalir lewat syaraf kepada otot-otot tubuh untuk mengeluarkan benda asing tadi, hingga terjadilah batuk

Batuk dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu batuk akut dan batuk kronis, keduanya dikelompokkan berdasarkan waktu. Batuk akut adalah batuk yang berlangsung kurang dari 14 hari, serta dalam 1 episode. Bila batuk sudah lebih dari 14 hari, serta dalam 1 episode selama 3 bulan berturut-turut, disebut batuk kronis atau batuk kronis berulang. Batuk kronis berulang yang sering menyerang anak-anak adalah karena asma, tuberkulosis (TB), dan pertussis (batuk rejan/batuk 100 hari) (Chung dkk., 2003).

II.2 Obat Herbal

Obat bahan alam Indonesia adalah bahan alam yang diproduksi di Indonesia, berdasarkan cara pembuatan, jenis klaim penggunaan, dan tingkat pembuktian khasiat. Obat bahan alam Indonesia dikelompokkan menjadi tiga yaitu:

II.2.1 Jenis Obat Herbal

1. JAMU (Empirical Based Herbal Medicine)



Gambar II.1 Logo Jamu

Jamu adalah sediaan bahan alam yang khasiatnya belum dibuktikan secara ilmiah, yaitu belum mengalami uji klinik maupun uji praklinik, namun khasiat tersebut dipercaya oleh orang berdasarkan pengalaman empiris. Dalam sediaan jamu, bahan baku yang digunakan pun belum mengalami standarisasi karena masih menggunakan seluruh bagian tanaman. Jamu disajikan secara tradisional dalam bentuk seduhan, pil, atau cairan. Umumnya, obat tradisional ini dibuat dengan mengacu pada resep peninggalan leluhur. Jamu tidak memerlukan pembuktian ilmiah secara uji klinis, tetapi cukup dengan bukti empiris. Kriteria jamu antara lain adalah: aman, klaim khasiat dibuktikan secara empiris, serta memenuhi persyaratan mutu. Logo jamu berupa ranting daun terletak dalam lingkaran dan harus mencantumkan tulisan “JAMU” seperti gambar di atas (Gambar II.1). Contoh obat-obatan golongan jamu adalah pilkita, laxing, keji beling, curcuma tablet.

2. OBAT HERBAL TERSTANDAR (Standarized Based Herbal Medicine)

Gambar II.2 Logo OHT



Obat Herbal Terstandar (OHT) merupakan sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah

dengan uji praklinik dan bahan bakunya telah di standarisasi. OHT memiliki grade setingkat di bawah fitofarmaka. OHT belum mengalami uji klinis, namun bahan bakunya telah distandarisasi untuk menjaga konsistensi kualitas produknya. Uji praklinik dengan hewan uji, meliputi uji khasiat dan uji manfaat, dan bahan bakunya telah distandarisasi. Logo “herbal terstandar” berupa jari-jari daun (3 pasang) terletak dalam lingkaran dan harus mencantumkan tulisan “OBAT HERBAL TERSTANDAR” seperti gambar di atas (Gambar II.2). Ada lima macam uji praklinis yaitu uji eksperimental in vitro, uji eksperimental in vivo, uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronik, dan uji toksisitas khusus. Kriteria Obat Herbal Terstandar antara lain : aman, klaim khasiat dibuktikan secara ilmiah atau pra-linik, bahan baku yang digunakan telah mengalami standarisasi, serta memenuhi persyaratan mutu. Di Indonesia telah terdapat kurang lebih 17 macam OHT, Contoh obat golongan herbal terstandar antara lain Lelap, Diapet, tolak angin, antangin JRG, dll.

3. FITOFARMAKA

Gambar II.3 Logo



Fitofarmaka

Fitofarmaka merupakan sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan uji klinik, bahan baku dan produk jadinya telah distandarisasi. Salah satu syarat agar suatu calon obat dapat dipakai dalam praktek kedokteran dan pelayanan kesehatan formal (fitofarmaka) adalah jika bahan baku tersebut terbukti aman dan memberikan manfaat klinik. Syarat fitofarmaka yang lain adalah:

Klaim khasiat dibuktikan secara klinik, Menggunakan bahan baku terstandar, Memenuhi persyaratan mutu. Logo Fitofarmaka berupa jari-jari daun (yang kemudian membentuk bintang) terletak dalam lingkaran dan harus mencantumkan tulisan “FITOFARMAKA” seperti gambar di atas (Gambar II.3). Di Indonesia baru ada 5 jenis fitofarmaka yang beredar, antara lain Stimuno, Nodiar, X-gra, Tensigard, dan Rheumaneer.

II.2.1 Pengujian Obat bahan alam Indonesia

Pengujian organoleptis ini dilakukan dengan 2 macam, yaitu organoleptis dan mikroorganisme. Pengujian organoleptis dilakukan dengan menggunakan indera manusia meliputi uji rasa, bau, bentuk. Sedangkan uji mikroorganisme dapat dilakukan dengan metode angka lempeng total, angka kapang dan khamir serta identifikasi mikroba patogen (Noerhendy dkk., 2013)

II.3 Kontaminasi bakteri pada sediaan herbal multidosis

Adanya mikroorganisme pada produk farmasi tergantung pada proses produksi, lingkungan produksi, kebersihan pekerja yang terlibat dalam pembuatan dan kondisi penyimpanan. Kontaminasi bakteri dari obat-obatan seperti sirup dan suspensi dapat menyebabkan pembusukan produk dan menyebabkan bahaya serius bagi kesehatan terutama pada anak-anak dan orang dewasa (Abdullah Al Mamun dkk., 2014)

Hubungan antara bakteri dengan tubuh manusia disebut dengan hubungan hospes-kuman. Penyakit yang disebabkan bakteri ditentukan oleh keseimbangan antara virulensi kuman dengan daya tahan hospes. Virulensi kuman dipengaruhi oleh dua faktor seperti,

daya invasi toksigenitas. Serta toksigenitas adalah tingkatan toksin yang dihasilkan oleh bakteri. Ada dua jenis toksin yang dihasilkan bakteri, yaitu: endotoksin dan eksotoksin. Perbedaan dari kedua toksin tersebut dapat dilihat dari tabel berikut ini :

Tabel II.1
Perbedaan Eksotoksin dan Endotoksin

	Tempat Produksi	Sifat Fisik	Toksitas
Eksotoksin	Dikeluarkan oleh kuman hidup, konsentrasinya dalam medium cair sangat tinggi	Relatif tidak stabil, dengan pemanasan aktivitas toksin menurun	Sangat toksik, menimbulkan kematian meskipun sangat kecil
Endotoksin	Sebagai bagian integral dinding bakteri gram negatif	Relatif stabil, aktivitas toksin menetap meskipun dipanaskan	Kurang toksik, dalam dosis besar baru menimbulkan kematian

(Pelczar dkk, 1988)

II.4 Staphylococcus Aureus

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram Positif yang berbentuk kokus. Staphylococcus dapat menimbulkan penyakit pada manusia. Setiap jaringan ataupun alat dapat diinfeksi olehnya dan

menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas, yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses.

II.4.1 Sifat Patogenesis dan Infeksi *Staphylococcus Aureus*

Enterotoksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* tahan panas, tidak berubah walau dididihkan selama 30menit. Apabila produk yang tercemar dibiarkan selama 8-10 jam pada suhu kamar, dapat menghasilkan toksin dalam jumlah yang memadai untuk menyebabkan keracunan. Sekalipun kemudian produk yang tercemar oleh toksin ini disimpan dalam lemari es selama berbulan-bulan toksinnya tidak akan termusnahkan (Pelezar dkk, 1998)

II.4.2 Epidemiologi peracunan oleh *Staphylococcus Aureus*

Manusia merupakan sumber utama penyebaran *Staphylococcus aureus*. Pada perjangkitan peracunan oleh *Staphylococcus aureus* biasanya dapat ditunjukkan bahwa jalur *Staphylococcus aureus* didalam produk yang tercemar itu sama dengan yang ada pada tangan orang yang menangani produk tersebut (Pelezar dkk, 1998)

II.5 *Salmonella sp*

Salmonella adalah bakteri gram negatif berbentuk batang, tidak membentuk spora, dapat memfermentasi glukosa tetapi tidak memfermentasi laktosa dan sukrosa. Menurut reaksi biokimiawinya *salmonella* dapat diklasifikasikan menjadi 3 spesies yaitu : *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis* dan *Salmonella enteridis* (Pelczar dkk, 1988)

II.5.1 Sifat Patogenesis *Salmonella sp.*

Sejumlah besar bakteri *Salmonella sp.* yang tertelan atau masuk kedalam saluran pencernaan dalam keadaan hidup dapat

menyebabkan terjadinya gejala klinis yang jelas. Karena akan ada banyak bakteri *Salmonella* sp. yang terbuang lagi dengan cepat dari saluran pencernaan. Perkembangbiakan bakteri *Salmonella* sp. yang tertelan didalam saluran pencernaan menimbulkan gejala gastroenteritis. Serta iritasi dan peradangan usus terjadi karena infeksi berada di dalam selaput lendir (Pelczar dkk, 1988).

Salmonella sp. merupakan penyebab penyakit salmonellosis, yaitu penyakit yang menyerang saluran gastrointestinal yang mencakup perut, usus halus dan usus besar atau kolon. Gejala mulai dari 8-48 jam setelah salmonella masuk ke dalam saluran pencernaan. Diawali dengan timbul rasa sakit perut yang mendadak dengan diare encer atau berair, kadang dengan lendir atau darah. Seringkali mual dan muntah, demam dengan suhu mencapai 38-39° C. Gejala-gejala ini biasanya hilang dalam waktu 2-5 hari dan berakhir dengan kesembuhan penderita. Selain itu spesies dari *Salmonella* yaitu *Salmonella thypi* merupakan penyebab dari demam tifoid. Dengan masa inkubasi selama 10-14 hari. Gejala dini mencakup demam, perut kembung, sukar buang air besar, pusing, lesu, ruam, tak bersemangat, tidak ada nafsu makan mual dan muntah. Penyakit ini biasanya parah bila pengobatan tidak segera diberikan, karena dapat berlangsung selama beberapa minggu dan penderita dapat meninggal (Pelczar dkk, 1988)

II.5.2 Epidemiologi infeksi oleh *Salmonella* sp.

Terinfeksi manusia oleh *Salmonella* sp. hampir selalu disebabkan mengkonsumsi makan dan minum yang terkontaminasi. Bahaya ini diperbesar dengan kenyataan bahwa *Salmonella* sp. dapat bertahan

selama berminggu-minggu di dalam air, debu, es dan bahkan limbah yang sudah dikeringkan (Pelczar dkk, 1988)

II.6 Metode pengujian dan perhitungan jumlah bakteri

Pemilihan pengujian berdasarkan beberapa faktor antara lain jenis produk yang diuji, persyaratan yang ditentukan dan ukuran sampel yang memadai untuk memperkirakan kesesuaian secara spesifik. Pengujian terhadap kontaminasi bakteri dapat dilakukan dengan metode Penyarangan Membran dan metode Angka Lempeng Total yang sesuai. Serta dengan metode lain yaitu angka paling mungkin yang umum digunakan untuk produk dengan tingkat kontaminasi rendah (Farmakope Indonesia ed V, 2014).

Metode yang digunakan untuk mendeteksi dan menghitung jumlah bakteri pada sirup obat batuk adalah Angka Lempeng Total (ALT) dengan menggunakan media umum dan media selektif.

Apabila telah ditetapkan kriteria penerimaan untuk mutu mikrobiologi, maka hasil dapat diinterpretasikan sebagai berikut:

1. 10^1 koloni
Maksimal perhitungan yang dapat diterima adalah 20 koloni.
2. 10^2 koloni
Maksimal perhitungan yang dapat diterima adalah 200 koloni.
(Farmakope Indonesia ed V, 2014)

II.7 Uji fertilitas media dan kontrol negatif

Kemampuan media untuk mendeteksi mikroba pada produk harus ditetapkan dengan uji fertilitas media, untuk membuktikan bahwa media dapat mendeteksi dan menumbuhkan bakteri. Uji fertilitas

media dapat dilakukan dengan menggunakan suspensi mikroba uji terstandar yang stabil, dengan cara menginokulasi sejumlah kecil mikroba ke dalam media uji. Sementara untuk membuktikan kesesuaian kondisi pengujian dilakukan kontrol negatif. Dengan ketentuan tidak boleh terjadi pertumbuhan mikroba, apabila terjadi kegagalan pada kontrol negatif maka perlu dilakukan investigasi untuk mengetahui sumber kontaminan (Farmakope Indonesia ed V, 2014).

II.8 Hasil positif pada media

Tabel II.2

Hasil Positif Pada Media

MIKROBA	MEDIA SELEKTIF	PENGAMATAN KOLONI
<i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	MSA	Koloni cembung, warna kuning dan warna media berubah menjadi jernih
<i>SALMONELLA SP</i>	XLD agar	Koloni translucent dengan bintik hitam ditengahnya, dan dikelilingi zona transparan berwarna kemerahan.

(BPOM, 2008)

Bab III Metode Penelitian

III.1 Metode

Metode penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan 3 sampel sirup obat batuk herbal multidosis yang disimpan dalam 2 suhu berbeda yaitu pada suhu kamar (25-28° C) dan suhu dingin (4-8° C), kemudian diuji setiap minggu selama total 10 minggu. Penelitian bersifat kuantitatif sehingga untuk mengetahui jumlah bakteri pada sirup obat batuk herbal multidosis dapat menggunakan metode angka lempeng total (ALT). Diawali dengan 1 mL sampel dituangkan ke dalam media umum *NB (nutrient broth)* kemudian diinkubasi selama 3 hari pada suhu 37°C. Kemudian koloni bakteri yang tumbuh dispesifikasikan dengan media selektif dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu 37° C. Media selektif yang digunakan yaitu *Manitol Salt Agar (MSA)* dan *Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLDA)*. Selanjutnya koloni bakteri yang tumbuh dihitung langsung dalam satuan CFU/mL (Coloni Forming Unit/mL). Pada setiap pengujian sampel dilakukan juga uji fertilitas media dan kontrol negatif. Kemudian dari data hasil ditentukan korelasi antara pengaruh penyimpanan dengan pertumbuhan mikroba pada sirup batuk herbal multidosis menggunakan metode *Analisis of Varian (ANOVA)* software SPSS 17.

III.2 Alat, bahan dan bakteri

III.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, cawan petri, Erlenmeyer, spuit, jarum ose, tabung reaksi, inkubator, lemari es, bunsen dan *LAF*.

III.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sirup obat batuk herbal multidosis, media *NB (nutrient broth)*, *Manitol Salt Agar (MSA)* dan *Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLDA)* dan Alkohol 96%.

III.2.3 Bakteri

Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sp.