

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Bahan dan alat**

##### **3.1.1. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tin (*Ficus carica* L.) (diperoleh dari Kartasura, Sukoharjo, Jawa Tengah), aquadest, laktosa (kualitas farmasetis), asam sitrat (kualitas farmasetis), asam tartrat (kualitas farmasetis), natrium bikarbonat (kualitas farmasetis), PVP (kualitas farmasetis), PEG 4000 (kualitas farmasetis), aspartam (kualitas farmasetis), silika gel 60 F<sub>254</sub>, metanol (pro analisis), dan etil asetat (pro analisis)..

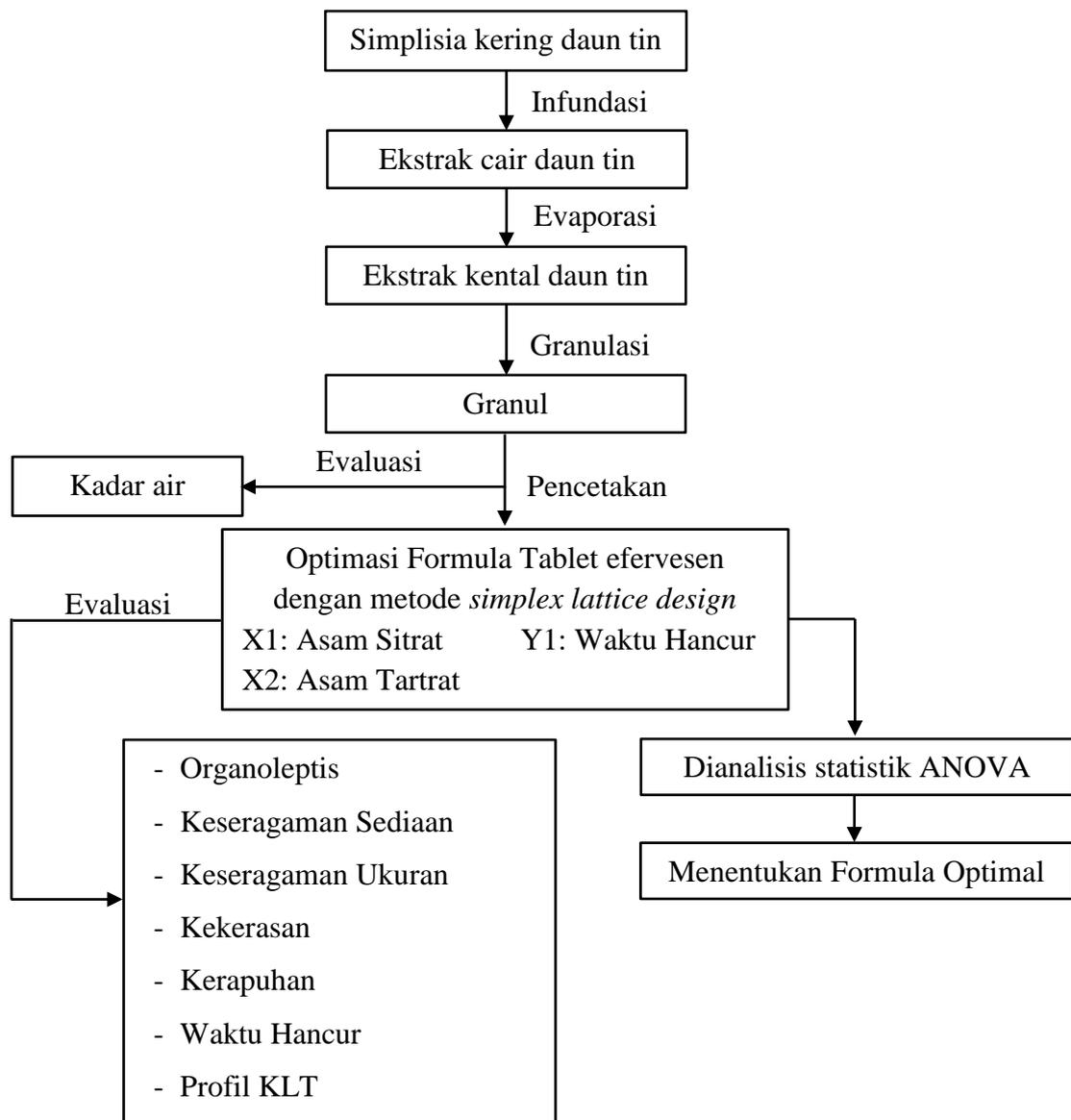
##### **3.1.2. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator* (*Heizbad HB Digit*), *water bath* (*Memmert*), alat uji sudut diam (*Copley Scientific*), alat uji pengetapan (*Erweka*), *moisture balance* (*Metler HB 43*), mesin cetak tablet *single punch* (*Korsch/TDP*), *hardness tester* (*Erweka tbh 125*), jangka sorong, timbangan elektrik (*mettler toledo type new classic MF*), *Friablility tester* (*Erweka TA-100/TA-200*).

## 3.2. Cara Penelitian

### 3.2.1. Skema Penelitian

Berikut ini adalah skema dari penelitian yang dilakukan mulai dari proses pembuatan ekstrak daun tin, pembuatan granul efervesen, pencetakan tablet efervesen, uji sifat fisik dari tablet tersebut dan penentuan formula optimal.



**Gambar 3.1.** Skema jalannya penelitian

### **3.2.2. Pembuatan Ekstrak Daun Tin**

#### **3.2.2.1. Pengumpulan daun tin kering**

Simplisia daun tin diperoleh dari Kecamatan Kartasura, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah dalam kondisi kering dan berupa campuran dari beberapa varietas simplisia.

#### **3.2.2.2. Identifikasi tanaman**

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Hasil identifikasi digunakan untuk memastikan bahwa tanaman yang akan digunakan adalah benar *Ficus carica* L.

#### **3.2.2.3. Pembuatan ekstrak daun tin**

Sebelum dilakukan proses ekstraksi, daun tin kering terlebih dahulu digiling dengan menggunakan mesin penggiling hingga diperoleh simplisia daun tin dengan ukuran 40 mesh. Selanjutnya, ekstraksi dilakukan dengan metode infundasi menggunakan pelarut air. Daun tin kering sebanyak 300 g diinfundasi dengan menggunakan air dengan perbandingan 1:10, dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90° C sambil sesekali diaduk. Disaring cairan infus dengan kain selagi panas tanpa diperas, kemudian ampas yang tersisa dipanaskan kembali dan diulangi sebanyak 5-6 kali (Perez dkk., 2000). Infusa yang didapatkan digabungkan, kemudian dikentalkan dengan menggunakan *rottary evaporator* pada suhu 60° C selama 75 menit, kemudian dilanjutkan dengan menggunakan *water bath* pada suhu 70° C sampai diperoleh ekstrak kental. Kemudian ditambahkan laktosa untuk menjadikannya ekstrak kering dengan perbandingan ekstrak kental:laktosa yaitu 1:4 (Mopuri dkk., 2017).

### **3.2.3. Penentuan Dosis dan Jumlah Simplisia**

Dalam literatur disebutkan bahwa dosis ekstrak kering daun tin adalah 100 mg/kg BB tikus dalam bentuk ekstrak etanol (Vikas dkk., 2010). Dosis ini dijadikan acuan untuk dosis dalam pembuatan tablet efervesn ekstrak daun tin, dan dosis untuk manusia ditentukan melalui konversi sebagai berikut:

- a. Dosis untuk tikus: 100 mg/kg BB tikus = 20 mg/BB standar tikus (20 g)
- b. Faktor konversi dari dosis tikus ke manusia: 56,0

- c. Dosis untuk manusia:  $20 \text{ mg} \times 56,0 = 1.120 \text{ mg/BB}$  standar manusia (70 kg) dalam sehari. Dosis ini dibagi kedalam 3 kali menjadi 373 mg ekstrak kental, sehingga untuk penggunaannya adalah 3 tablet efervesen dalam sehari, dan dosis dibuat menjadi 375 mg.
- d. Jumlah ekstrak kental daun tin yang dibutuhkan:  
 $375 \text{ mg} \times 560 \text{ tablet} = 210,00 \text{ g}$ . Ekstrak kental yang diperoleh dikeringkan dengan penambahan laktosa (Vikas dkk., 2010).

### 3.2.4. Optimasi Campuran Asam Sitrat dan Asam Tartrat dengan Metode *Simplex Lattice Design*

#### 3.2.4.1. Penentuan konsentrasi campuran asam dan basa dalam formula

Konsentrasi campuran asam dan basa yang digunakan dalam formula adalah 51,00 %. Konsentrasi campuran asam dan basanya masing-masing 50 %, selanjutnya konsentrasi untuk asam sitrat dan asam tartrat ditentukan dengan mempertimbangkan batas bawah dan batas atas penggunaannya berdasarkan pendekatan teoritis, yaitu berdasarkan *Handbook of Pharmaceutical Excipient* edisi ke-7 dan penggunaan keduanya pada salah satu formula sediaan tablet efervesen, maka diperoleh hasil sebagaimana tabel berikut ini (Rowe dkk., 2009),(Anwar, 2010):

**Tabel 3.1.** Batas penggunaan asam sitrat dan asam tartrat.

<b>Nama Bahan</b>	<b>Batas Bawah (dalam sediaan 4 g)</b>	<b>Batas Atas (dalam sediaan 4 g)</b>
Asam Sitrat	75 mg	80 mg
Asam Tartrat	940 mg	945 mg

Selanjutnya, proporsi asam sitrat dan asam tartrat dalam formula ditentukan menggunakan *software Design Expert® trial version* dengan metode *simplex lattice design* dan formula yang dihasilkan adalah sebanyak 5 formula dengan konsentrasi asam sitrat dan asam tartrat sebagaimana tertera dalam tabel berikut.

**Tabel 3.2.** Proporsi asam sitrat dan asam tartrat dalam formula

Nama Bahan	Perbandingan Dalam Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
Asam Sitrat	75	76,25	77,5	78,75	80
Asam Tartrat	945	943,75	942,5	941,25	940

Konsentrasi natrium bikarbonat yang digunakan dalam campuran asam dan basa adalah 50 % (Rowe dkk., 2009),(Anwar, 2010).

#### 3.2.4.2. Pembuatan granul efervesen

Pembuatan granul efervesen dilakukan dengan metode granulasi basah dan dibagi kedalam dua campuran. Campuran pertama dibuat dengan cara larutan PVP 1 % sebagai bahan pengikat ditambahkan secukupnya pada ekstrak kering daun tin yang sudah dicampur dengan natrium bikarbonat dan aspartam, lalu digerus sampai homogen dan diayak dengan pengayak no. 14. Granul lalu dikeringkan dalam lemari pengering (oven) pada suhu 50° C sampai kering, kemudian granul kering diayak lagi dengan ayakan no. 16. Campuran kedua dibuat dengan cara asam sitrat dan asam tartrat dicampurkan dalam cawan porselin, lalu ditambahkan larutan pengikat dan dicampur hingga homogen. Selanjutnya, campuran dikeringkan dalam lemari pengering (oven) pada suhu 50° C sampai kering kemudian diayak dengan ayakan no. 16. Kedua campuran tersebut kemudian dicampurkan sampai homogen dan diperoleh granul efervesen (Anwar, 2010), (Parikh, 2005).

#### 3.2.4.3. Formulasi tablet efervesen

Tablet efervesen ekstrak daun tin (*Ficus carica* L.) dibuat dalam 5 formula (selengkapnya lihat tabel 3.3.). Masing-masing formula dibuat dengan cara mencampur granul efervesen yang telah dibuat dengan PEG 4000 sebagai lubrikan dan telah diayak terlebih dahulu dengan ayakan no. 60 untuk meningkatkan homogenitasnya dengan granul efervesen. Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan sifat fisik granul, lalu granul tersebut dicetak dengan mesin cetak tablet. Tablet yang sudah dicetak kemudian dilakukan pemeriksaan sifat fisik tablet (Anwar, 2010),(Parikh, 2005).

**Tabel 3.3.** Formula tablet efervesen ekstrak daun tin (*Ficus carica* L.)

Nama Bahan	Fungsi	Formula Tablet Efervesen Ekstrak Daun Tin ( <i>Ficus carica</i> L.) (dalam mg)				
		F1	F2	F3	F4	F5
Ekstrak kering daun tin	Zat aktif +pengisi	1.875	1.875	1.875	1.875	1.875
Asam Sitrat	Sumber asam	75	76,25	77,5	78,75	80
Asam Tartrat	Sumber asam	945	943,75	942,5	941,25	940
Na. Bikarbonat	Sumber basa	1.020	1.020	1.020	1.020	1.020
Aspartam	Pemanis	40	40	40	40	40
PVP 1 %	Pengikat	40	40	40	40	40
PEG 4000	Lubrikan	5	5	5	5	5
<b>Jumlah</b>		4.000	4.000	4.000	4.000	4.000

### 3.2.5. Pemeriksaan Sifat Fisik Granul

#### 3.2.5.1. Waktu alir

Granul seberat 100 g dituang secara perlahan kedalam corong yang tertutup bagian bawahnya lewat tepi corong, lalu dibuka tutup corong perlahan dan dibiarkan granul mengalir keluar. Dicatat waktu yang diperlukan oleh granul untuk mengalir sempurna melewati corong tersebut dalam satuan detik. Granul yang baik mempunyai kecepatan alir tidak kurang dari 10 gram/detik, artinya waktu alir untuk 100 gram granul sebaiknya tidak melebihi 10 detik. Uji ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (Kemenkes RI, 2014),(British Pharmacopoeia Volume IV, 2007).

#### 3.2.5.2. Sudut istirahat

Penetapan sudut istirahat dilakukan dengan menggunakan alat tertentu dan dilakukan dengan cara mengukur sudut yang dihasilkan setelah pengujian waktu alir granul. Sudut istirahat dihitung berdasarkan perhitungan *cotangen*

antara tinggi kerucut ( $h$ ) yang dihasilkan dengan jari-jari kerucut ( $r$ ). Baik atau tidaknya nilai sudut diam dapat dibandingkan dengan sudut istirahat. Granul bersifat mudah mengalir (*free flowing*) apabila memiliki sudut istirahat kurang dari  $30^\circ$  (British Pharmacopoeia Volume IV, 2007).

### 3.2.5.3. Kompresibilitas serbuk

Kompresibilitas serbuk dalam penelitian ini diukur dalam bentuk granul. Granul dimasukkan ke dalam gelas ukur dengan volume 100 mL, lalu dipasangkan pada alat pengetapan dan dilakukan pengetapan (*tapping*) sampai granul mampat dengan sempurna. Dicatat jumlah pengetapan yang diperlukan sampai menghasilkan granul yang mampat dan dicatat massa granul setelah proses pengetapan. Untuk mengetahui baik atau tidaknya kompresibilitas granul dapat dilakukan dengan menghitung persen kompresibilitas (*Carr's Index*) dan perbandingan Hausner. Persen kompresibilitas dihitung dengan menggunakan rumus:

$$100 \times ((P-A)/P) \dots \dots \dots (3.1)$$

yang mana  $P$  adalah massa jenis granul setelah pengetapan (*packed density*) dan  $A$  adalah massa jenis granul sebelum pengetapan (*bulk density*), sedangkan perbandingan Hausner dihitung dengan rumus:

$$P_{\text{tap}} / P_{\text{bulk}} \dots \dots \dots (3.2)$$

yang mana  $P_{\text{tap}}$  adalah adalah massa jenis granul setelah pengetapan (*packed density*) dan  $P_{\text{bulk}}$  adalah massa jenis granul sebelum pengetapan (*bulk density*). Interpretasi hasil dari indeks kompresibilitas serbuk dilakukan dengan mempertimbangkan: semakin tinggi kompresibilitas serbuk, maka semakin rendah kemampuan alirnya (Parikh, 2005),(Kemenkes RI, 2014),(USP 32, 2009). Adapun klasifikasi penafsiran hasil dari rasio Hausner adalah sebagaimana tabel berikut (British Pharmacopoeia Volume IV, 2007):

**Tabel 3.4.** Klasifikasi penafsiran hasil dari Rasio *Hausner*

<i>Rasio Hausner</i>	Deskripsi
1,00 – 1,11	Sangat bagus
1,12 – 1,18	Bagus
1,19 – 1,25	Agak bagus
1,26 – 1,34	Kurang bagus
1,35 – 1,45	Tidak bagus

Untuk menafsirkan hasil dari *Carr's Index* dapat dilihat sebagaimana tabel berikut (British Pharmacopoeia Volume IV, 2007):

**Tabel 3.5.** Klasifikasi penafsiran hasil dari *Carr's Index*

<i>Carr's Index</i>	Deskripsi	Keterangan
5 – 15	Sangat bagus	-
12 – 16	Bagus	-
18 – 21	Agak bagus	Perlu penambahan glidan
23 – 25	Kurang bagus	Perlu penambahan glidan
33 – 38	Tidak bagus	-
> 40	Sangat tidak bagus	-

#### 3.2.5.4. Kelembaban (*Moisture content*)

Uji kelembaban granul dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Sebanyak 0,5 gram granul dipanaskan selama 5 menit di dalam alat ini, lalu dicatat hasil ujinya, yaitu massa awal, masa akhir, kadar air granul dan persen sisa dari granul. Kadar air dari granul yang diperoleh dari uji ini menunjukkan kadar air tablet yang akan dibuat, dengan nilai keberterimaannya yaitu  $\leq 5\%$  (Kepala BPOM RI, 2014).

### 3.2.6. Pemeriksaan Sifat Fisik Tablet

#### 3.2.6.1. Pengamatan organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan terhadap bentuk, rasa, bau dan warna dari tablet yang dihasilkan (Kepala BPOM RI, 2014).

#### 3.2.6.2. Uji kadar air tablet

Uji kadar air tablet diperoleh berdasarkan hasil dari uji kelembaban granul dengan menggunakan *moisture balance*. Kadar air dari tablet yang dipersyaratkan untuk tablet efervesen adalah  $\leq 5\%$  (Kepala BPOM RI, 2014).

### 3.2.6.3. Keseragaman sediaan

Uji keseragaman sediaan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah uji keragaman bobot. Sejumlah 20 tablet diambil secara acak, lalu ditimbang satu per satu, kemudian dihitung nilai bobot rata-ratanya. Setelah didapatkan nilai rata-ratanya, dihitung nilai SD (standar deviasi) dan % CV (koefisien variansi). Tablet yang seragam memiliki nilai koefisien variansi tidak lebih dari 5 % (Kemenkes RI, 2014),(Alawiyah, 2012).

### 3.2.6.4. Keseragaman ukuran

Sejumlah 20 tablet diukur ketebalan dan diameternya dengan menggunakan jangka sorong atau mikrometer dengan tingkat keakuratan yang baik, kemudian dihitung nilai ketebalan dan diameter rata-ratanya. Tablet yang seragam memiliki nilai koefisien variansi tidak lebih dari 5 % (Alawiyah, 2012).

### 3.2.6.5. Kekerasan tablet

Dilakukan uji kekerasan tablet satu per satu sampai 10 tablet dengan menggunakan alat *hardness tester*. Alat ini secara otomatis menunjukkan kekerasan tablet dengan adanya angka yang muncul pada alat tersebut dalam satuan  $\text{kg/cm}^2$ . Kekerasan tablet yang diperkenankan adalah 4 sampai 8  $\text{kg/cm}^2$  (Alawiyah, 2012).

### 3.2.6.6. Kerapuhan tablet

Dilakukan uji kerapuhan tablet dengan cara 10 tablet ditimbang satu persatu dan dicatat bobotnya, kemudian setiap tablet dimasukkan kedalam alat *friability tester* lalu diputar sedemikian rupa sampai waktu yang telah ditentukan. Setelah itu, tablet ditimbang kembali dan dicatat bobotnya. Bobot dari tablet yang telah diuji tersebut tidak boleh berkurang lebih dari 1 % dari berat awal tablet uji (Mohrle dkk., 2005).

### 3.2.6.7. Waktu hancur

Satu buah tablet dimasukkan kedalam gelas berisi air, lalu dicatat waktu yang diperlukan tablet yang diuji untuk melarut. Waktu hancur yang dipersyaratkan untuk tablet efervesen adalah  $\leq 5$  menit (Kepala BPOM RI, 2014).

### 3.2.7. Penentuan Formula Optimal

Formula optimal ditentukan dengan bantuan *software Design Expert<sup>®</sup> trial version*. Proses ini terlebih dahulu dilakukan dengan penentuan komponen yang divariasi dan respon. Komponen yang dimaksud adalah asam sitrat (X1) dan asam tartrat (X2), sedangkan respon adalah waktu hancur (Y1). Selanjutnya hasil data respon dianalisis dengan menggunakan ANOVA *Design Expert<sup>®</sup> trial version* dan kemudian diproses untuk menentukan formula yang optimal dengan mempertimbangkan kriteria dari komponen yang divariasi dan respon yang ditentukan. Hal tersebut dilakukan dengan melihat nilai desirability yang mendekati 1.

### 3.2.8. Penentuan Profil KLT Ekstrak dan Sediaan Tablet Efervesen

Ekstrak ditotolkan pada plat KLT dengan eluen metanol:etil asetat:air (1,5:8:0,5), fase diam berupa silika gel 60 F<sub>254</sub>, dan larutan pembanding berupa kuersetin 0,1 % dalam etanol P. Untuk sediaan tablet, dilakukan dengan cara tablet dilarutkan terlebih dahulu dengan aquadest, lalu ditotolkan pada plat KLT. Plat KLT dibuat dalam ukuran 3 x 10 cm dan larutan uji baik dari tablet maupun dari ekstrak dibuat dalam 1 % ekstrak dalam air, kemudian masing-masing larutan uji dan larutan pembanding ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler, lalu dilakukan elusi dalam bejana KLT yang berisi campuran fase gerak yang sudah jenuh. Noda hasil elusi diperjelas dengan larutan semprot berupa amoniak lalu diamati di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm (Refli, 2012),(Kemenkes RI, 2008).

## 3.3. Metode Analisis Hasil

Data sifat fisik tablet yang diperoleh dibandingkan dengan persyaratan yang tertera dalam literatur pengujian (Farmakope Indonesia edisi V, Buku Formulasi Tablet, USP NF edisi 32, dan Peraturan Kepala BPOM no. 12 tahun 2014), sedangkan formula optimal ditentukan dengan menggunakan bantuan *software Design Expert<sup>®</sup> trial version* berdasarkan total respon yang dihasilkan.