

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi Dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah tablet effervescent ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata*) dengan variasi konsentrasi asam sitrat dan asam tartrat. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tablet effervescent ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata*) dengan 8 variasi konsentrasi asam sitrat dan asam tartrat.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama pertama pada penelitian yaitu tablet effervescent ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata*).

Variabel utama kedua pada penelitian yaitu variasi konsentrasi bahan asam sitrat dan asam tartrat sediaan tablet effervescent.

Variabel utama ketiga pada penelitian yaitu tablet effervescent dengan variasi konsentrasi yang memenuhi syarat uji mutu fisik yang optimum.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang sudah diidentifikasi, selanjutnya dikelompokkan menjadi beberapa variabel yaitu variabel bebas, tergantung, serta terkendali.

Variabel bebas merupakan variabel utama yang sengaja diubah-ubah untuk diteliti pengaruhnya dalam variabel tergantung.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi kombinasi konsentrasi asam sitrat dengan asam tartrat pada tablet effervescent

Variabel tergantung adalah variabel yang diamati dari variabel utama yang merupakan kriteria dari penelitian. Variabel tergantung pada penelitian yaitu mutu fisik tablet effervescent meliputi uji organoleptik, keseragaman bobot, kekerasan, kerapuhan, waktu larut dan derajat keasaman pH.

Variabel terkendali yaitu variabel yang terpengaruh terhadap variabel bebas selain variabel tergantung dianggap sehingga variabel ini perlu diklasifikasikan agar hasil yang diperoleh tepat dan dapat diulang oleh peneliti lain. Variabel terkendali pada penelitian ini yaitu metode dan cara pembuatan sediaan tablet, kondisi peneliti, serta

kondisi laboratorium, Tablet effervescent dibuat pada kondisi kelembaban relatif (RH) 40% dengan suhu 25°C.

3. Definisi operasional variabel utama

Variabel Pertama, daun matoa (*Pometia pinnata*) pada penelitian ini adalah berasal dari daun tumbuhan matoa yang masih segar dan terbebas dari hama yang diperoleh dari Tanon, Kabupaten Sragen, Jawa Tengah.

Kedua, ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata*) adalah hasil dari proses ekstraksi daun matoa (*Pometia pinnata*) dengan pelarut etanol 96% yang telah disaring dan dipekatan hingga menjadi ekstrak kental menggunakan metode maserasi.

Ketiga, tablet effervescent ekstrak daun matoa (*pometia pinnata*) adalah tablet yang diformulasikan dengan kombinasi asam sitrat dan asam tartrat sebagai zat asam dan natrium bikarbonat sebagai zat basa.

Keempat, uji mutu fisik dari sediaan tablet effervescent adalah pengujian sediaan meliputi uji organoleptik, keseragaman bobot, kekerasan, kerapuhan, waktu larut, dan uji derajat keasamann pH.

C. Alat Dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan meliputi bejana maserasi, pompa vakum (Gast DOA-P-504-BN), rotary vacuum evaporator (Buchi R-300), oven (Heraus ST-5042), neraca analitik (Advanturer Ohaus), Hardness tester (Pharmeq lab), friabilator tester (Pharmeq lab), alat pencetak tablet (Erweka AR 400), ayakan 16 mesh, ayakan 18 mesh dan 20 mesh, corong buchner, pH meter, stopwatch, mortar dan stemper, climatic chamber dan berbagai peralatan gelas laboratorium serta kuisisioner tanggapan rasa responden terhadap formulasi tablet effervescent.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan meliputi daun matoa, etanol 96%, asam sitrat, natrium bikarbonat, asam tartrat, laktosa, aspartam, polivinil pirolidon (PVP), natrium benzoat, dan PEG 6000.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman merupakan suatu tahap untuk mengetahui kesesuaian dari sampel tanaman matoa (*pometia pinnata*) dengan

memeriksa ciri-ciri sampel secara organoleptik dan makrokopis tanaman matoa (*pometia pinnata*). Determinasi dilakukan di B2P2TOOT Tawangmangu.

2. Pengambilan sampel dan Pembuatan serbuk daun matoa

Bahan simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun matoa diambil di Dukuh Kayon, Kelurahan Gabungan, Kecamatan Tanon, Kabupaten Sragen. Daun matoa dipilih yang muda segar dan tidak terlalu tua kemudian Pada pembuatan simplisia dan daun matoa , dicuci bersih dengan air mengalir, lalu diangin-anginkan kemudian dirajang-rajang dikeringkan dengan cara di oven 60°C, kemudian digiling dengan *Spice herb grinder* sehingga terbentuk menjadi serbuk.

3. Karakteristik simplisia

3.1 Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan secara visual dengan menggunakan panca indera atau tanpa menggunakan bantuan alat. Pemeriksaan ini dilakukan dengan mengamati warna, bentuk, rasa dan bau (Depkes RI, 2000).

3.2 Susut pengeringan serbuk daun matoa. Simplisia yang telah diproses menjadi serbuk dilakukan penetapan kadar air dengan menggunakan alat *moisture balance* dengan batas kadar air untuk simplisia tidak lebih dari 10% (Depkes, 1989). Serbuk daun matoa ditimbang 2 gram dalam alat *moisture balance* kemudian akan muncul hasil kadar air pada alat.

3.3 Uji kadar air menggunakan metode destilasi toluen. Serbuk daun matoa ditimbang seksama 20 gram, dimasukkan ke dalam labu kering. Dimasukkan lebih kurang 200 mL toluen jenuh air ke dalam labu, pasang rangkaian alat. Dimasukkan toluen jenuh air ke dalam tabung penerima melalui pendingin sampai leher alat penampung. Labu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mulai mendidih, atur penyulingan dengan kecepatan lebih kurang dari 2 tetes tiap detik, hingga sebagian besar air tersuling, kemudian naikkan kecepatan penyulingan hingga 4 tetes tiap detik. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit. Tabung penerima didinginkan sampai suhu ruang. Volume air dibaca setelah air dan toluen memisah sempurna. (Depkes RI, 2008).

4. Pembuatan ekstrak daun matoa

Serbuk daun matoa kering dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 24 jam, Kemudian diaduk setelah itu disaring dan didapat maserat satu. Ampas yang tersisa waktu penyaringan maserat satu dimaserasi lagi menggunakan etanol setengah dari jumlah etanol, yaitu

8 liter. Maserasi kedua dilakukan selama 1x24 jam (Kemenkes RI, 2017). Larutan maserasi disaring dan mendapat maserat kedua. Maserat pertama dan maserat kedua dipekatkan menggunakan rotary evaporator sampai menjadi ekstrak kental. Ekstrak kental yang dihasilkan dihitung rendemennya. Rendemen dihitung untuk menentukan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh pada saat dipekatkan menggunakan rotary evaporator dan untuk mengetahui banyaknya senyawa yang terkandung dalam ekstrak (Kemenkes RI, 2017).

5. Penetapan kadar air ekstrak

Kadar air dengan menggunakan metode gravimetri 10 gram ekstrak dan ditimbang seksama dalam cawan porselin yang telah ditara. Keringkan pada suhu 105°C selama 5 jam, setelah itu masukan dalam desikator hingga dingin dan ditimbang. Hitung persen kadar air yang terdapat dalam sampel (Ahmad, AR, Dahlia, AA, & Kosman, R., 2014)

6. Karakteristik ekstrak

6.1. Identifikasi flavanoid. Ambil 0,5 gram ekstrak dimasukan dalam tabung reaksi dilarutkan dalam 2 mL etanol 70% kemudian diaduk, ditambahkan serbuk magnesium 0,5 g dan 3 tetes HCl pekat. Apabila terbentuk warna jingga sampai merah menunjukkan adanya flavon, merah sampai jingga menunjukkan flavanol, jingga sampai keunguan flavanon (Kusumawati, dkk., 2003).

6.2. Identifikasi Alkaloid. Ekstrak sebanyak 2 ml diuapkan dalam cawan porselen hingga menghasilkan residu. Residu kemudian dilarutkan dalam 5 ml HCL 2N. Larutan yang didapat kemudian dibagi ke dalam 2 tabung reaksi. Tabung pertama ditambah dengan pereaksi Dragendorff sebanyak 3 tetes. Tabung kedua ditambah pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes. Terbentuknya endapan jingga pada tabung pertama dan endapan putih hingga kekuningan pada tabung kedua menunjukkan adanya alkaloid (Mondong, dkk, 2015).

6.3. Identifikasi Tannin dan Polifenol. Ekstrak sebanyak 2 mL filtrat cair dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi besi (III) klorida (FeCl_3). Reaksi positif ditunjukkan jika larutan berwarna biru atau hitam serta ditambahkan gelatin hingga terbentuk endapan putih untuk memastikan keberadaan tannin (Permadi et al. 2017).

6.4. Identifikasi Steroid/Triterpenoid. Ekstrak daun mataoa ditimbang sebanyak 1 gram. Mereka dimasukkan ke dalam cawan dan ditambahkan 5 ml etanol 70%, dipanaskan di atas waterbath selama 2

menit, dan disaring dalam keadaan panas. Ampas di panaskan sampai kering, ditambahkan CHCl_3 hingga larut, dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan ditambahkan air hingga membentuk 2 lapisan CHCl_3 dan air. Lapisan CHCl_3 diambil dan diletakkan di drop plate sebanyak 3 tetes, diikuti dengan penambahan 3 tetes asam asetat anhidrat dan 2-3 tetes H_2SO_4 pekat. Steroid ditunjukkan dengan warna hijau atau biru, sementara triterpenoid ditunjukkan dengan warna merah atau ungu (Depkes RI, 1979).

6.5. Identifikasi Saponin. Sebanyak 1 mL filtrat cair dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 9 mL air panas, didinginkan, dan dihomogenkan selama 10 detik. Kemudian sebanyak 1 mL sediaan awal ditambah dengan 10 mL air dan dihomogenkan selama 10 menit. Reaksi positif jika terbentuk buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm serta pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang (Permadi et al 2017).

7. Penentuan dosis tablet

Ekstrak daun matoa memiliki aktivitas dengan dosis 50 mg/kg BB sudah memiliki efek antidiuretik ditinjau dari parameter %EUV, kadar kalium dan kadar natrium dan dikonversi dosis ke manusia 560 mg, dikonsumsi untuk 3 kali sehari maka dosis sekali minum 175 mg perhitungan dapat dilihat pada lampiran 13.

8. Formula tablet effervescent ekstrak daun matoa

Formula tablet effervescent yang akan digunakan mengacu pada penelitian Kholidah, Yuliet, & Khumaidi (2014). Variasi yang dilakukan yaitu pada komposisi asam tartrat, asam sitrat, dan natrium bikarbonat dengan konsentrasi 45%, 50%, 55%, dan 60% dari bobot tablet (2000 mg).

Tabel 2. Formula acuan tablet effervescent (Kholidah, Yuliet, & Khumaidi, 2014).

Bahan	Formula(mg)			
	F1	F-2	F-3	F-4
Granul campuran ekstrak daun katuk (30%)	600	600	600	600
Asam sitrat	280	320	220	140
Asam tartrat	180	200	360	460
Natrium bikarbonat	440	480	520	600
Polivinilpirolidon (2,5%)	50	50	50	50
Natrium benzoat (0,16%)	3,2	3,2	3,2	3,2
Aspartam (2%)	40	40	40	40
PEG 6000 (1%)	20	20	20	20
Perisa lemon (2%)	40	40	40	40
Laktosa (sampai 100%)	346,8	246,8	146,8	46,8
Jumlah	2000	2000	2000	2000

Tabel 3. Penentuan komponen formula optimum tablet effervescent ekstrak daun matoa dengan variasi asam sitrat dan asam tartrat menggunakan metode *simple lattice design* .

Run	Komponen (mg)	
	Asam sitrat	Asam tartrat
1.	140	460
2.	300	300
3.	300	300
4.	220	380
5.	460	140
6.	140	460
7.	380	220
8.	460	140

Tabel 4. Variasi formulasi tablet effervescent

Bahan	Variasi Formula(mg)								Keterangan
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	
Ekstrak daun matoa	175	175	175	175	175	175	175	175	Zat aktif
Asam sitrat	140	300	300	220	460	140	380	460	Pereaksi asam
Asam tartrat	460	300	300	380	140	460	220	140	Pereaksi asam
Na. bikarbonat	600	600	600	600	600	600	600	600	Pereaksi basa
PVP 2%	40	40	40	40	40	40	40	40	Pengikat
PEG 6000 1%	20	20	20	20	20	20	20	20	Pelicin
Aspartam 2%	40	40	40	40	40	40	40	40	Pemanis
Laktosa	525	525	525	525	525	525	525	525	pengisi
Jumlah	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	

E. Pembuatan Granul Ekstrak Daun Matoa

Ekstrak kering daun matoa dicampur dengan laktosa dengan perbandingan massa 1:4, campuran diaduk sampai membentuk massa yang kompak kemudian diayak menggunakan ayakan mesh 20. Campuran dikeringkan di dalam climatic chamber dengan suhu 60°C RH dibawah 25° hingga kering. Selanjutnya campuran yang kering diayak menggunakan ayakan mesh 20 sampai terbentuk granul ekstrak daun matoa.

F. Pembuatan Tablet Effervescent Ekstrak Daun Matoa

Pembuatan tablet effervescent dimulai dengan pembuatan granul effervescent terlebih dahulu sebelum dikempa. Granul effervescent dibuat secara terpisah antara granul asam dan granul basa untuk menghindari reaksi effervescent dini.

Granul asam dibuat dengan mencampurkan granul ekstrak, asam sitrat, asam tartrat, diayak menggunakan pengayak no 16 kemudian dikeringkan dengan climatic chamber pada suhu 60°C dengan rh dibawah 40°C setelah kering diayak dengan pengayak no 18. Granul basa dibuat dengan mencampurkan natrium bikarbonat, Aspartam dan PVP lalu

dibasahi dengan etanol 95% tetes demi tetes sampai terbentuk massa yang elastis, kemudian diayak menggunakan pengayak no 16 dan dikeringkan dengan climatic chamber pada suhu 60°C dengan rh dibawah 40°C setelah kering diayak dengan pengayak no 20.

Granul asam dan granul basa dicampur dengan PEG 6000 kemudian dilakukan uji mutu fisik granul. Kemudian dilanjutkan proses pencetakan tablet effervescent. Tablet yang dihasilkan dilakukan Uji mutu fisik tablet.

G. Uji Mutu Fisik Granul

1. Uji organoleptik granul

Granul diperiksa untuk mengevaluasi bentuk, warna, aroma, dan rasa. Hal ini mencakup pengamatan organoleptik pada granul (BPOM RI, 2019).

2. Uji waktu alir

Timbang serbuk dengan berat 100 gram lalu tuang dalam corong alir yang tertutup secara perlahan. Tutup corong dibuka secara perlahan maka granul akan mengalir keluar. Waktu yang diperlukan semua serbuk untuk melewati corong dihitung menggunakan stopwatch, kemudian catat waktunya (Patel et al, 2012).

3. Sudut Diam

Penentuan sudut diam, menggunakan metode corong yang berdiri bebas pada ketinggian (h) di atas kertas pada bidang horizontal. Granul dituang perlahan-lahan sampai ke ujung corong (r), diameter dan tinggi yang terbentuk diukur kemudian dihitung sudut diam granul (Noval dkk, 2021).

4. Susut pengeringan granul

Granul effervescent dimasukkan kedalam moisture balance sebanyak 2 gram untuk dilihat kadar air nya. Kar yang baik sediaan effervescent adalah <5% (BPOM, 2019)

H. Uji Mutu Fisik Tablet Effervescent Ekstrak Daun Matoa

1. Uji organoleptik

Uji organoleptik tablet efferecent dilakukan terhadap parameter bentuk, rasa, aroma dan warna (Kusumawati, et al., 2014).

2. Uji keseragaman bobot

Penimbangan bobot ini dengan menimbang satu persatu masing-masing tablet sebanyak 20. Setelah penimbangan tidak boleh

lebih dari 2 tablet yang melebihi bobot rata-rata berdasarkan kolom A dan tidak boleh lebih dari 1 tablet yang lebih daripada kolom B, yang tertera pada daftar berikut:

Tabel 5. Uji keseragaman bobot

Bobot rata-rata	Penyimpangan terhadap bobot rata-rata	
	A	B
25 mg atau kurang	15%	30%
26 mg sampai 150 mg	10%	20%
151 mg sampai 300 mg	7,5%	15%
Lebih dari 300 mg	5%	10%.

(BPOM,2019).

3. Uji kekerasan tablet

Letakkan satu tablet pada ujung alat kemudian disisi ujung lain lakukan pemutaran sekrup sehingga tablet tertekan. Apabila tablet mengalami pemecahan maka pemutaran dihentikan. Tekanan tablet dapat dibaca pada skala. Percobaan ini dapat dilakukan sebanyak 5 kali, selanjutnya hitung harga putarannya (Nurtantri, 2010).

4. Uji kerapuhan tablet

Tablet ditimbang setelah melalui proses bebas debu dan dimasukkan ke dalam friabiliator test kemudian diputar 100 kali dengan waktu 4 menit. Tablet diambil dan ditimbang kembali, kemudian dihitung bobot akhir setelah melalui alat friabiliator test. Tablet memenuhi syarat apabila kerapuhan kurang dari 1% (Noorjannah & Noval, 2020).

5. Uji waktu larut

Tablet effervescent dimasukan dalam gelas yang berisi 200 mL air , kemudian hitung waktu larut menggunakan stopwatch dari memasukkan tablet ke dalam air hingga larut sempurna (Aslani & Daliri, 2016).

6. Uji derajat keasaman (pH)

Sebuah tablet effervescent dilarutkan dalam 200 mL aquades. Kemudian larutan tersebut diukur pH nya menggunakan pH meter. Tablet effervescent dikatakan baik apabila memiliki nilai pH mendekati netral yaitu 6-7(BPOM, 2012).

7. Uji Tanggapan Rasa

Uji Tanggapan rasa dilakukan dengan metode random sampling (sampling acak) sebanyak 20 responden. Responden memberikan rating pada kuisoner mengenai penampilan, rasa, dan aroma. Setiap responden mendapat kesempatan yang sama dalam merasakan setiap sampel. Tanggapan rasa di bagi menjadi beberapa tingkat yaitu suka, tidak

suka, sangat suka dan sangat tidak suka. Hasil kuisioner dimasukan dalam bentuk tabel berdasarkan nilai yang diberikan respoden beserta tanggapannya.

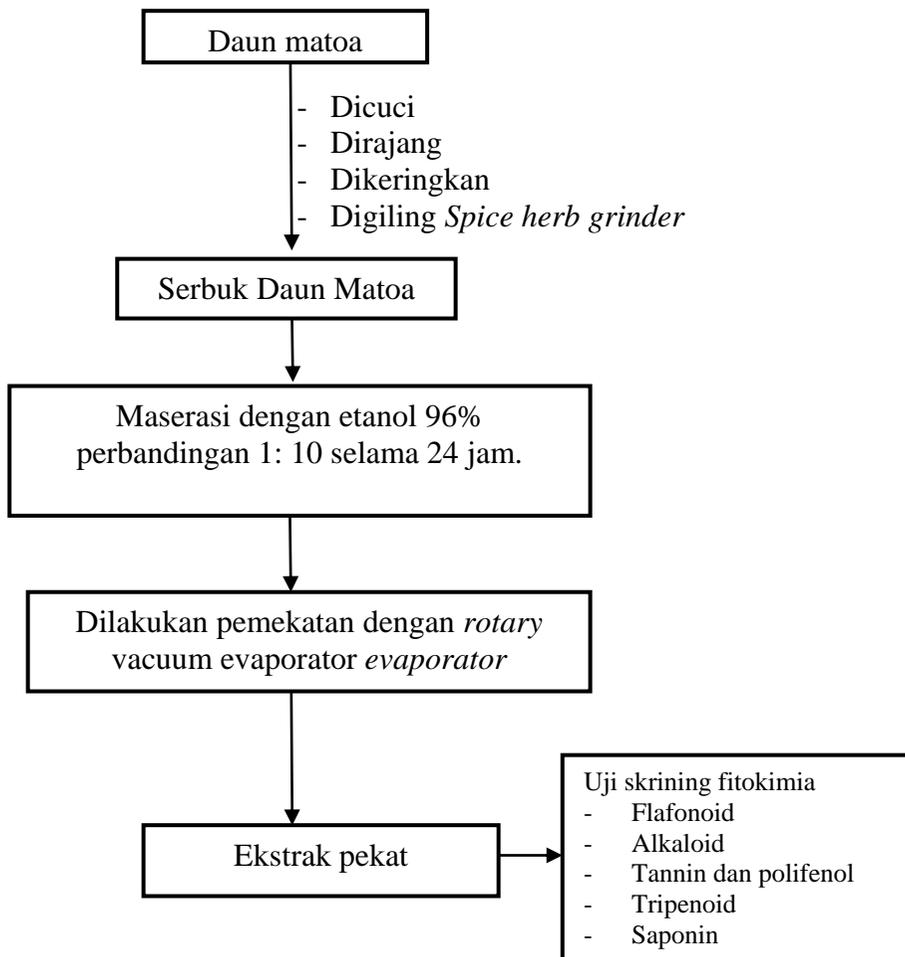
8. Penentuan Formula Optimum

Penentuan formulasi optimum dilakukan menggunakan metode *simplex lattice design*. Metode ini mengoptimasi sesuai data variabel dan data pengukuran respon yang dimasukkan berdasarkan parameter kritis yaitu kekerasan, kerapuhan, dan waktu larut. Penentuan formula optimum dapat dilakukan dengan menggabungkan counter plot pada masing-masing parameter menggunakan software design expert. Respon diberi kriteria sesuai dengan besarnya pengaruh terhadap sediaan Tablet effervescent sehingga hasil tahap optimasi adalah rekomendasi beberapa formula baru yang optimal menurut program.

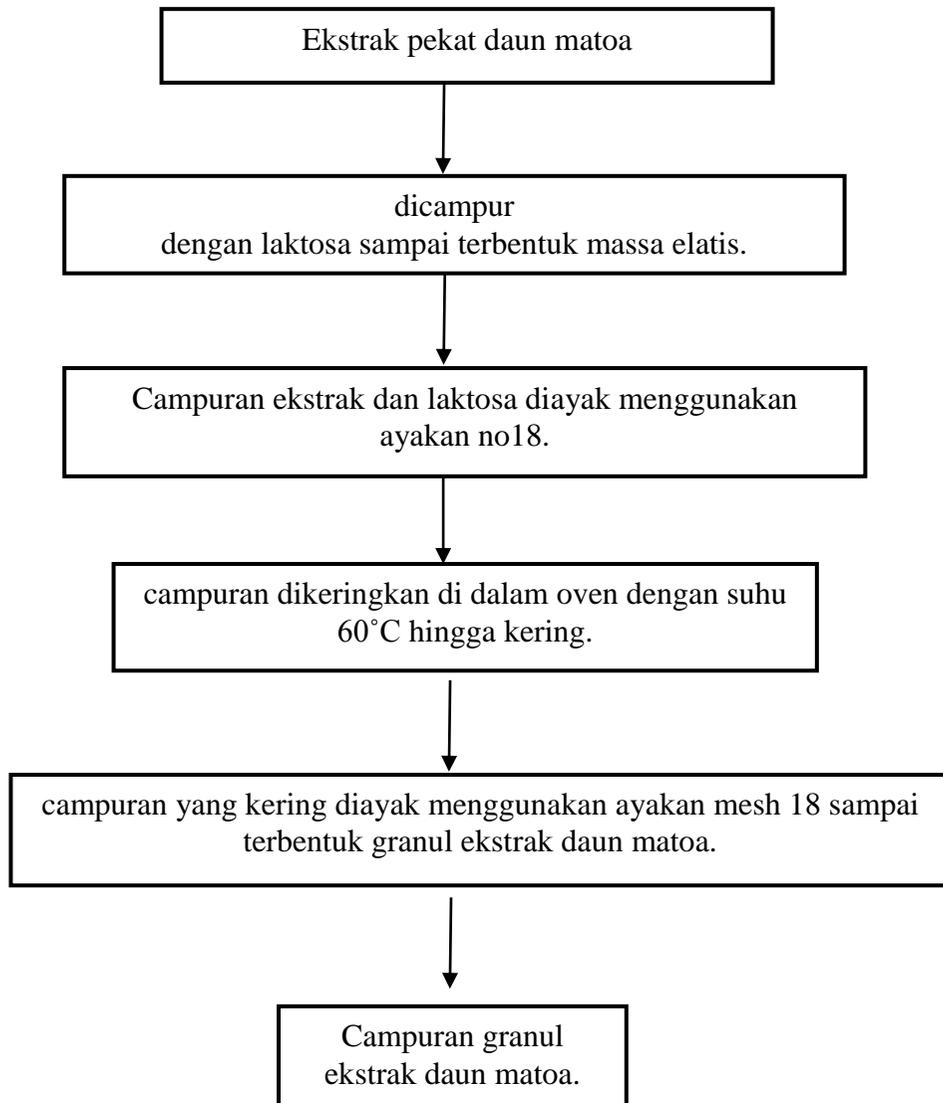
I. Analisis Data

Analisis data secara statistik dilakukan secara optimasi formula menggunakan software *Design expert simplex lattice design 11* untuk mencari sediaan yang paling optimum dengan variasi asam sitrat dan asam tatarat. Kombinasi pada *simplex lattice design* dievaluasi menggunakan analisis ANOVA untuk mengidentifikasi pengaruh pada sediaan dengan menentukan titik kritis pada *simplex lattice design*.

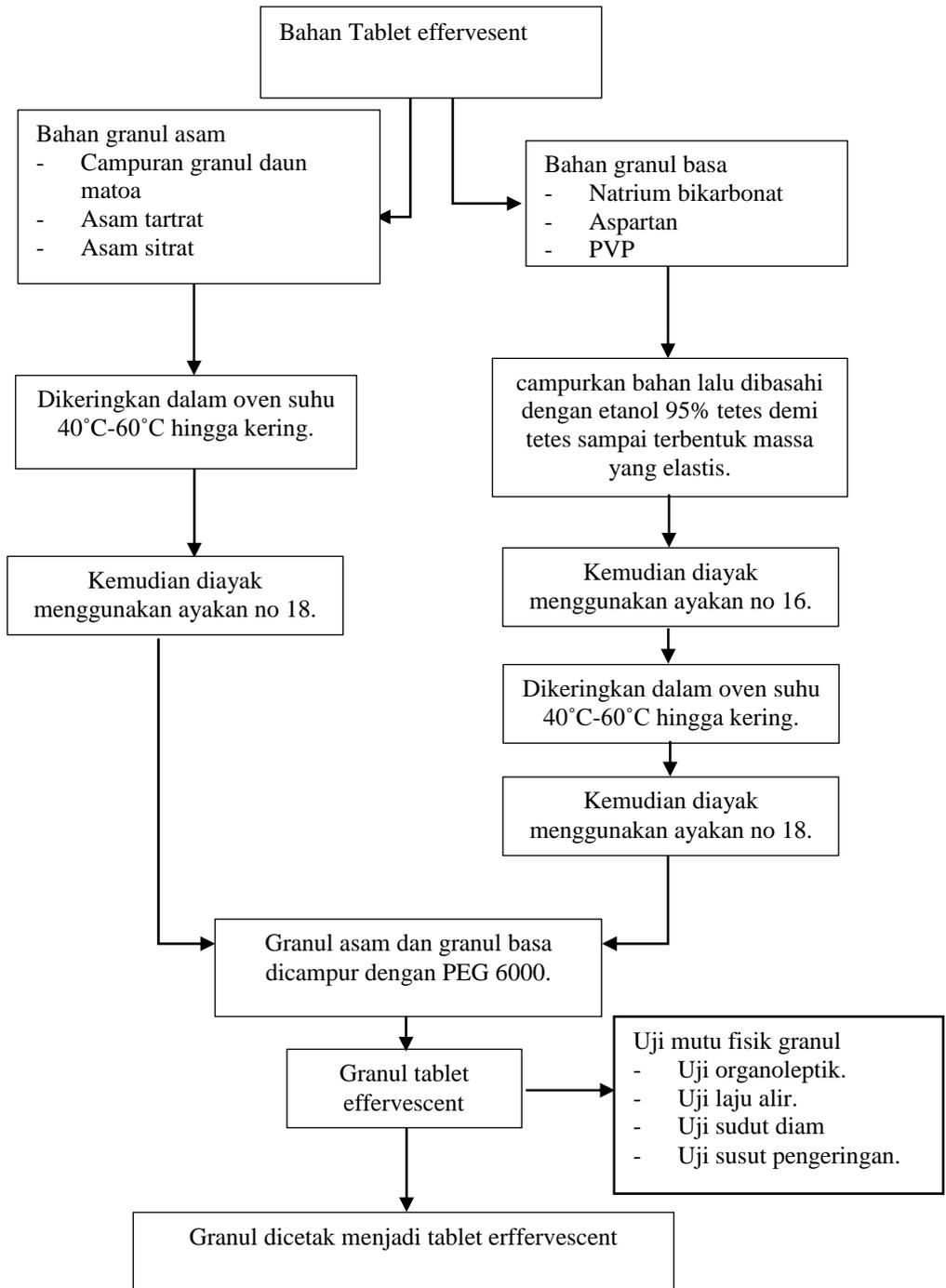
J. Skema Penelitian



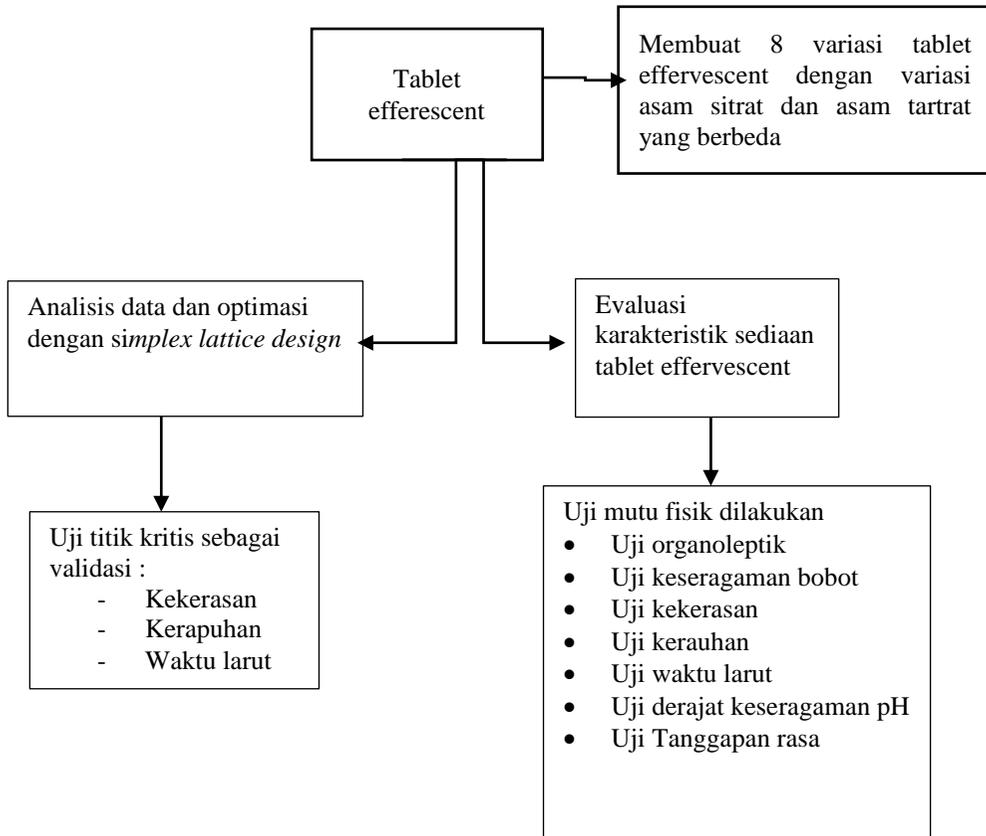
Gambar 9. Skema proses pemekatan ekstrak



Gambar 10. Proses granulasi ekstrak daun matoa



Gambar 11. Skema pembuatan tablet effervescent



Gambar 12. Skema uji mutu fisik tablet