BAB III
METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Parasetamol (kualitas farmasetik) dari PT. Brataco, laktosa (kualitas farmasetik), primojel (kualitas farmasetik), amilum kentang dari pegunungan Dieng Jawa Tengah, talkum (kualitas farmasetik), magnesium stearat (kualitas farmasetik), dan aquades.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas (PYREX), cawan porselen, tabung reaksi, neraca elektrik (METLER/PL303), *hardnes tester*, *friabilator tester* (TA-100/TA200), *disintegrant tester* (2T502), oven (MEMMERT), mesin tablet *single punch* (KORSH/EK-0), ayakan ukuran 16 Mesh (LOKAL), *climatic chamber* (CLIMECELL 111), spektrofotometer UV-Vis (HITACHI U-2810(PC)), *stopwatch,* jangka sorong (TRICLE BRABD), penghisap debu (LUX), dan alat-alat yang umumnya digunakan.

B. Cara Penelitian

1. Formula tablet parasetamol

Formula tablet parasetamol dengan berbagai konsentrasi amilum kentang sebagai bahan pengikat yang didapatkan dari penelitian sebelumnya yang didapatkan pada tabel dibawah ini[(6)]:

Tabel I. *Formula tablet parasetamol dengan bahan pengikat amilum kentang*[6]

Bahan	Formula I	Formula II	Formula III
Parasetamol (mg)	500	500	500
Laktosa (mg)	104,5	104,5	104,5
Primojel (mg)	32,5	32,5	32,5
Mucilago amilum kentang (mg)	4,5	6,3	8,4
Talk (mg)	11,7	11,7	11,7
Magnesium Stearat (mg)	1,3	1,3	1,3

Keterangan :
Formula I : Bahan pengikat amilum kentang 10 %.
Formula II : Bahan pengikat amilum kentang 15%.
Formula III : Bahan pengikat amilum kentang 20%.

2. Determinasi

Determinasi tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) dilakukan menggunakan tanaman utuh disesuaikan antara bentuk fisik tanaman dengan buku pedoman "*Flora of Java*"[23] di laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi Bagian Biologi Farmasi, Jurusan Farmasi FMIPA UII, Yogyakarta.

3. Pembuatan amilum kentang

Kentang sebanyak 1 kg dicuci dan dikupas kulitnya. Kemudian dicuci kembali dan diparut sampai kentang halus. Hasil parutan direndam dengan air secukupnya selama ±12 jam. Setelah itu disaring menggunakan saringan kain kasa halus, diperas dan filtrat hasil saringan ditampung. Ampas kentang ditambah dengan air secukupnya dan diperas kembali. Filtrat didiamkan sampai mengendap. Endapan yang terbentuk kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 48 jam. Selanjutnya endapan kering yang diperoleh dihaluskan menggunakan mortir dan stamper. Serbuk yang diperoleh merupakan amilum kentang.

4. Pembuatan granul.

Parasetamol (zat aktif), laktosa, primojel dicampurkan sampai homogen, tambahkan amilum kentang sedikit demi sedikit sambil diaduk sampai terbentuk massa basah. Massa basah diayak dengan ayakan yang berukuran 16 Mesh lalu dikeringkan dalam oven 60^{o}C. Granul kering diayak kembali dengan ayakan berukuran 16 Mesh. Granul kering tersebut ditambahkan dengan Magnesium Stearat, talkum, dan sisa primojel aduk sampai homogen.

5. Pemeriksaan Fisik granul

a) Uji Waktu Alir

Sejumlah 100 g granul dimasukkan kedalam corong yang terdapat pada alat. Tutup corong dibuka sehingga granul mulai meluncur melewati lubang corong. Dicatat waktunya dengan menggunakan *stopwatch*, timbunan granul ditampung dalam kertas *milimeterblock*. Pada umumnya serbuk dikatakan mempunyai sifat alir yang baik jika 100 g serbuk yang diuji mempunyai waktu alir ≤10 detik atau mempunyai kecepatan alir 10g/detik[24].

$$\text{Kecepatan alir} = \frac{\text{bobot granul}}{\text{waktu}} \quad \ldots\ldots(3)$$

b) Uji Sudut Diam

Mula-mula granul dimasukkan dalam silinder dengan hati-hati. Serbuk akan keluar melalui lubang penyangga dengan membentuk kerucut dan diameter lempeng penyangga. Hitung tinggi tumpukan granul (h) dan jari-jari tumpukan granul (r)[24].

$$Tg = \frac{h}{r} \quad \ldots\ldots(4)$$

Tabel II. *Indeks sudut diam dan sifat alir*[25]

Sudut diam	Sifat alir
<25	Sangat baik
25-30	Baik
30-40	Sedang
>40	Sangat jelek

c) Uji Pengetapan

Kedalam gelas ukur dimasukkan sejumlah granul tertentu lalu diletakkan di atas alat dan motor dinyalakan. Gelas ukur akan bergerak ke atas dan ke bawah dengan kecepatan tertentu. Pengurangan volume granul akibat pengetapan dicatat, dan hasilnya dinyatakan dengan harga tap (T%). Serbuk dikatakan memiliki sifat alir yang baik jika indeks pemampatannya kurang dari 20%[24].

$$T\% = \frac{Vo - Vt}{Vo} \quad \ldots\ldots(5)$$

Keterangan : Vo = Volume sebelum pengetapan
Vt = Volume setelah pengetapan

d) Uji Kandungan Air

Kadar air yang diterima kurang dari 2-4%[26]. Caranya ditimbang 5 gram granul, letakkan pada piring yang tepat dibawah lampu, sinari terus menerus sampai berat konstan (alat: *Moisture balance*). Hitung kadar air granul. Jika mula-mula a dan setelah disinari b, maka kadar air adalah :

$$\text{Kadar air\%} = \frac{a-b}{a} \times 100\% \quad \text{.....(6)}$$

Keterengan : a = bobot awal granul
b = bobot akhir granul

6. Pembuatan tablet

Setelah dilakukan pembuatan amilum kentang, kemudian dilanjutkan pada pembuatan formula tablet parasetamol dengan amilum kentang sebagai bahan pengikat. Pertama dilakukan pencampuran zat aktif yaitu parasetamol dengan laktosa beserta sebagian primogel dan akan menjadi campuran serbuk. Selanjutnya campuran serbuk ditambahkan dengan mucilago amilum kentang sebagai pengikat, yang kemudian akan menjadi granul basah. Granul basah yang terbentuk kemudian di ayak menggunakan ayakan mesh 14, lalu dikeringkan. Setelah pengeringan akan terbentuk granul kering, yang selanjutnya di ayak menggunakan ayakan mesh 16, dan kemudian dicampurkan dengan sisa primojel, magnesium stearat dan talkum. Bahan aktif dan bahan tambahan yang telah digranulasi tersebut kemudian di kempa dengan mesin kempa *single punch* dengan tekanan yang dikontrol tiap 20 tablet (tekanan tetap).

7. Pemeriksaan fisik tablet

a) Uji organoleptis

Tablet yang dihasilkan diamati secara visual, apakah terjadi ketidakhomogenan zat warna atau tidak, bentuk tablet, permukaan cacat atau tidak dan harus bebas dari noda atau bintik-bintik.

b) Uji keseragaman bobot

Ditimbang 20 tablet satu per satu pada neraca elektrik, X, SD, dan %M dihitung. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan persyaratan yang ada dalam Farmakope Indonesia.

$$CV = \frac{SD}{X} \times 100\% \quad \text{.....(7)}$$

Keterangan : CV = koefisien varian
SD = Standar deviasi
X = bobot rata-rata

Tabel III. *Klasifikasi penafsiran keseragaman bobot*[25]

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

c) Uji keseragaman ukuran

Diambil 20 tablet secara acak, kemudian dilakukan pengukuran diameter dan ketebalan setiap tablet menggunakan jangka sorong[13]. Persyaratan Farmakope Indonesia edisi III, tablet yang baik memiliki diameter tidak lebih dar 3 kali dan tidak kurang dari 1 1/3 tebal tablet[27].

d) Uji kekerasan tablet

Alat yang digunakan adalah *hardness tester*, satu persatu dari 10 tablet diletakkan pada alat *hardness tester*. Alat secara otomatis akan menentukan kekerasan tablet yang kemudian hasilnya dapat dilihat dari angka yang muncul pada alat tersebut. Besarnya tekanan dapat dibaca langsung pada skala. Untuk mengevaluasi keseragaman bobot tablet juga dapat digunakan harga koefisien variasi (CV). Kekerasan tablet yang baik adalah 4 – 8 kg/cm^2[28].

e) Uji kerapuhan tablet

Sebanyak 20 tablet dibebas debukan dengan aspirator, kemudian ditimbang neraca analitik (a) lalu dimasukkan dalam *Friability tester*. Alat dihidupkan dan diputar dengan keceptan 25 rpm selama 4 menit atau sebanyak 100 putaran. Setelah selesai tablet dikeluarkan dari alat, tablet dibebas debukan dan ditimbang (b). Tablet dianggap baik bila kerapuhan tidak lebih dari 1%[24].

$$\text{Kerapuhan} = \frac{a-b}{a} \times 100\% \quad \text{.....(8)}$$

f) Uji waktu hancur

Tablet dimasukkan ke dalam masing-masing tabung dari keranjang pada alat waktu hancur (*Disintegration tester*) kemudian dimasukkan ke dalam gelas beker yang berisi air panas dengan suhu 37^0C. Posisi alat diatur sedemikian rupa sehingga ketinggian air sama dengan kedudukan kawat kasa dalam gelas beker bagian bawah pada saat tabung dinaikkan pada posisi tertinggi. Tablet dinyatakan hancur jika tidak ada bagian tablet yang tertinggal diatas kasa. Dicatat waktu yang diperlukan untuk hancurnya tablet. Kecuali dinyatakan lain, waktu hancur tablet tidak bersalut tidak lebih dari 15 menit[(24)].

g) Penetapan kadar zat aktif

1) Penetapan panjang gelombang serapan maksimum parasetamol

Ditimbang 150,0 mg parasetamol kualitas farmasetis, dimasukkan dalam labu takar 200,0 ml, kemudian ditambahkan 50,0 ml NaOH 0,1 N dan 100,0 ml *aquadest* hingga larut. Dikocok 15 menit dan diencerkan dengan *aquadest* hingga 100,0 ml. Larutan ini dibaca serapannya pada spektrofotometer UV-VIS dan dicari panjang gelombang yang mempunyai serapan maksimal [(27)].

2) Penetapan kurva baku

Ditimbang 150,0 mg parasetamol kualitas farmasetis, dimasukkan ke dalam labu takar 200,0 ml, kemudian ditambah 50,0 ml NaOH 0,1 N dan 100,0 ml *aquadest* hingga larut. Dikocok selama 15 menit dan diencerkan dengan aquadest secukupnya hingga 200 ml. Diambil lagi 10,0 ml dan ditambahkan NaOH sebanyak 10,0 ml, kemudian diencerkan dengan aquadest hingga 100,0 ml . Dari larutan stok dibuat variasi kadar, yaitu 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 µg/ml, masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar dan diencerkan dengan aquadest hingga 25 ml. Larutan dengan variasi kadar tersebut dibaca serapannya pada spektro UV dengan panjang gelombang serapan maksimum. Kemudian dari absorbansi tersebut ditentukan persamaannya, yaitu [(27)]:

$Y = Bx + A$ ……(9)

3) Penetapan kadar parasetamol

Ditimbang dan diserbuk kurang lebih 20 tablet. Ditimbang seksama serbuk tablet yang setara dengan 150,0 mg parasetamol, dimasukkan ke dalam labu takar 200,0 ml, kemudian ditambah 50,0 ml NaOH 0,1 N dan 100,0 ml aquadest hingga larut. Dikocok selama 15 menit dan diencerkan dengan aquadest hingga 200,0 ml. Ambil 10,0 ml larutan dan ditambahkan NaOH 0,1 N sebanyak 10 ml, kemudian diencerkan dengan aquadest hingga 100,0 ml. Di ukur serapannya dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimal. Kadar parasetamol dihitung dengan memasukkan hasil serapan kadar ke dalam kurva baku yang telah dibuat[27].

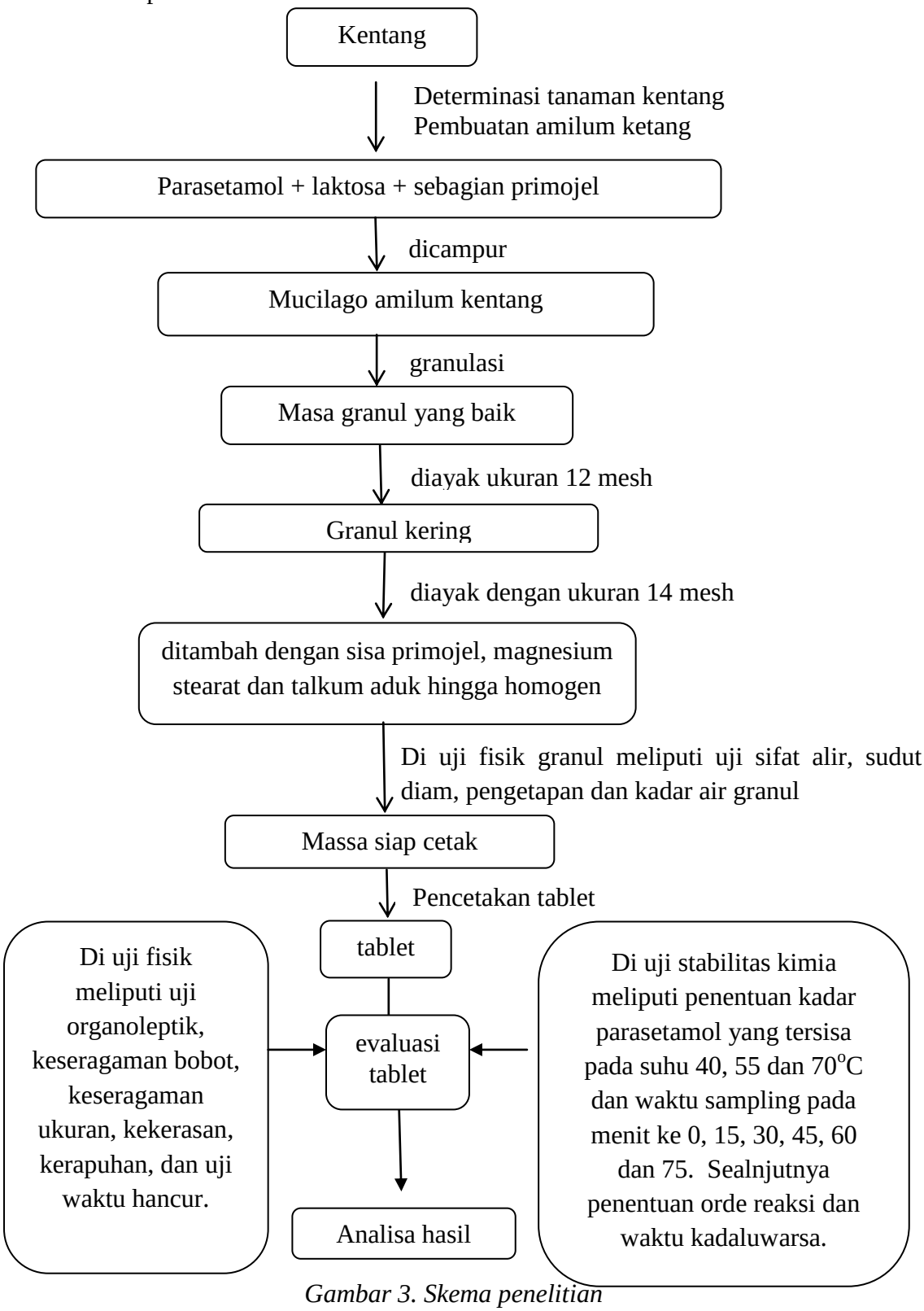
8. Evaluasi Stabilitas Kimia Tablet Parasetamol dengan amilum kentang sebagai bahan pengikat

Evaluasi stabilitas kimia tablet parasetamol dilakukan dengan cara evaluasi penetapan kadar zat aktif dari tablet parasetamol dimana tablet parasetamol dimasukkan ke dalam kotak kemudian dimasukkan dalam *climatic chamber* yang telah diatur pada suhu tertentu yaitu 40 ± 1ºC, 55 ± 1ºC, 70 ± 1ºC. Saat suhu telah mencapai suhu yang dikehendaki, kotak yang berisi serbuk tablet parasetamol diambil pada menit ke 0, 15, 30, 45, 60, dan 75. Hasil yang didapatkan digunakan untuk menentukan orde reaksi, laju degradasi dan waktu kadaluwarsa tablet parasetamol dengan amilum kentang sebagai bahan pengikat.

Orde reaksi dapat dicari dengan metode grafik yaitu dengan mencari harga koefisien korelasi r yang mendekati ±1. Jika konsentrasi di plot terhadap t dan didapatkan garis lurus, maka reaksi adalah orde nol. Reaksi dikatakan orde pertama bila log konsentrasi terhadap t menghasilkan garis lurus. Suatu orde reaksi dua akan menghasilkan garis lurus bila 1/konsentrasi diplot t menghasilkan garis lurus. Setelah penentuan orde reaksi maka akan didapatkan persamaan orde reaksi. Persamaan orde reaksi yang diperoleh digunakan untuk menghitung harga tetapan laju degradasi parasetamol. Harga tetapan laju degradasi (k) pada suhu 25º C diperoleh dengan mengguanakn persamaan Arrhenius, yaitu Log K= Log A – Ea/2,303RT. Persamaan Arhenius ini didapat dari plot Arrhenius, yaitu dibuat kurva hubungan 1/T (ºK) dengan log k. Dengan melakukan ekstrapolasi dari

kurva Arrhenius maka besarnya k dapat ditentukan sehingga digunakan untuk mengetahui besarnya waktu paruh ($t_{1/2}$) dan waktu kadaluwarsa(t_{90})[19].

9. Skema penelitian



Gambar 3. Skema penelitian

C. ANALISIS HASIL

a. Pendekatan teoritis

Hasil uji dari sifat fisik granul dan tablet yang diperoleh dibandingkan dengan literatur yaitu uji organoleptik harus memenuhi persyaratan. Pada uji keseragaman bobot tablet harus memenuhi persayaratan dalam *US Pharmacopeia* pada tabel III. Persyaratan Farmakope Indonesia edisi III, tablet yang baik memiliki diameter tidak lebih dar 3 kali dan tidak kurang dari 1 1/3 tebal tablet. Tablet dianggap baik bila kerapuhan tidak lebih dari 1%, kekerasan tablet 4-8 kg/cm^2, dan waktu hancur untuk tablet tidak bersalut adalah 15 menit. Hasil evaluasi penetapan kadar zat aktif pada tablet dengan pemanasan tinggi pada suhu 40 ± 1°C, 55 ± 1°C dan 70 ± 1°C dengan RH 75% digunakan untuk mencari waktu kadaluarsa.

b. Pendekatan statistik

Data waktu kadaluwarsa tablet parasetamol yang diperoleh, dapat dianalisis menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* karena uji normalitas yang paling umum digunakan dan dapat digunakan untuk data ordinal atau nominal. Data terdistribusi normal ($p>0,05$) sehingga diteruskan dengan uji statistik *ANOVA* satu jalan dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil uji *ANOVA* ($p<0,05$) konsentrasi amilum kentang menunjukkan perbedaan signifikan sehingga dilanjutkan dengan uji-t (*Tukey-HSD*).