

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 JENIS DAN RANCANGAN PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian eksperimental murni yang menggunakan *one shot case study* dimana hanya satu kelompok *variable* yang diamati, yaitu karakteristik emodin dari ekstrak lidah buaya (*Aloe vera L.*) kemudian ekstrak diformulasikan menjadi sediaan kapsul dan pengujian stabilitas sediaan kapsul dilakukan dengan variasi suhu 5 °C dan 35 °C diamati pada hari ke 0, 3, 7, 14, 21, 28.

3.2 PREPARASI SAMPEL

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) yang didapatkan dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu Malang. Ekstrak lidah buaya dibuat menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut akuades.

3.3 BAHAN DAN ALAT YANG DIGUNAKAN

3.3.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain Ekstrak Air Lidah Buaya (*Aloe vera L.*), Emodin, komponen kapsul seperti Laktosa, Magnesium stearate, Talkum dan Aerosil.

3.3.2 Alat

Alat-alat yang diperlukan dalam penelitian ini yaitu sarung tangan steril (*sensi*), cawan (*pyrex*), Spatula, mortar dan stamfer, desintegritas tester, alat uji daya alir, oven (*Gemmyco YCO-NO1*), seperangkat HPLC (*Shimadzu LC-10AT*), penjepit tabung reaksi, seperangkat alat maserasi,

rotary evaporator (eyela osb-2100), timbangan analitik digital (shimadzu), kertas perkamen, rak dan tabung reaksi (iwaki).

3.4 VARIABEL PENELITIAN

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang terlibat dalam penelitian ini yaitu karakteristik dan stabilitas fisik kapsul ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera L.*).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini meliputi pengujian granulasi yaitu uji daya alir, *moisture content*, uji sudut diam, uji kerapatan mampat dan kerapatan sejati. Sedangkan untuk pengujian kapsul dilakukan uji organoleptis, uji waktu hancur dan keseragaman bobot.

3.4.3 Defisini Operational Variable

Definisi operasional variabel merupakan suatu sifat atau nilai dari subjek, objek atau kegiatan yang memiliki variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti meliputi variabel bebas dan terikat untuk dipelajari kemudian diambil kesimpulan (Sugiyono, 2013).

Pada penelitian ini, definisi operasional variabel dijelaskan dalam table 3.1 berikut :

Table 3.1 Definisi operasional variabel

No	Variabel bebas	Definisi	Alat ukur	Skala	Persyaratan pengujian
1	Karakteristik emodin dan stabilitas fisik kapsul ekstrak	Karakteristik emodin diambil melalui pengujian	-	-	-

	Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i> L.).	kualitatif emodin dengan ekstrak air lidah buaya (<i>Aloe vera</i>)			
	Variabel terikat				
2	Uji daya alir	Waktu yang diperlukan untuk mengalirkan sejumlah granul pada suatu alat. Kecepatan alir dipengaruhi oleh bentuk, ukuran, kondisi permukaan, kelembaban granul dan penambahan bahan pelican	Flow tester	Rasio	Waktu alir yang baik tidak kurang dari 10 g/detik
3	Moisture Content	Untuk memastikan bahwa granul yang	Moisture analyzer	Rasio	2 – 5 %

		dihasilkan memiliki kandungan lembab yang memenuhi persyaratan				
4	Sudut diam	Sudut diam yaitu sudut tetap yang terjadi antara timbunan partikel bentuk kerucut dengan bidang horizontal	Busur	Rasio	Tidak lebih dari 25°	
5	Uji kerapatan mampat dan kerapatan sejati	Kerapatan adalah massa per unit volume suatu zat pada temperatur tertentu, digunakan untuk menentukan kemurnian suatu zat	Gelas Ukur	Rasio	Tidak kurang dari 0,21 g/ml	



6	Uji organoleptis	Pengujian sediaan yang dilakukan menggunakan indera manusia	Menggunakan indera manusia seperti mata, hidung, kulit	Nominal	Sediaan bebas partikel asing, bersing dan kering
7	Uji waktu hancur kapsul	Digunakan untuk melihat berapa lama waktu yang diperlukan kapsul untuk hancur, bertujuan agar menjamin kapsul hancur pada cairan tubuh	Disintegration tester	Rasio	Tidak lebih dari 15 menit
8	Uji keseragaman bobot kapsul	Berdasarkan persyaratan Farmakope Indonesia edisi III bahwa kapsul dengan bobot rata-rata lebih dari 120 mg tidak boleh memiliki	Timbangan analitik	Rasio	Tidak kurang dari 10%

perbedaan
dalam persen
bobot isi tiap
kapsul
terhadap
bobot rata-
rata isi kapsul

3.5 PROSEDUR PENELITIAN

3.5.1 Determinasi

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian sehingga menghindari terjadinya kesalahan dalam mengumpulkan bahan. Proses determinasi tanaman dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi tanaman yang akan diteliti berdasarkan pustaka yang telah dibuktikan (Widyastuti *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini determinasi simplisia lidah buaya (*Aloe vera* L.) dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu Malang dengan menggunakan 500 g simplisia Lidah buaya (*Aloe vera* L.) bagian yang digunakan ialah seluruh bagian tanaman.

3.5.2 Pembuatan Ekstrak

Ekstrak lidah buaya (*Aloe vera* L.) dibuat dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut air. Simplisia lidah buaya dibersihkan menggunakan air mengalir kemudian dilakukan sortasi basah, setelah itu simplisia mulai dirajang untuk diambil bagian daging dan kulitnya. Proses metode maserasi dilakukan dengan merendam lidah buaya didalam wadah kaca menggunakan air kemudian disimpan ditempat yang terlindung dari cahaya, pelarut diganti setelah maserat pertama disaring dan seterusnya (Sari *et al.*, 2017). Perhitungan rendemen ekstrak dilakukan untuk mengetahui perbandingan bobot ekstrak dengan bobot simplisia. Adapun

untuk perhitungan rendemen ekstrak menggunakan rumus berikut (Maulida *et al.*, 2015) :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\%$$

3.5.3 Skrining Fitokimia

Pada penelitian ini, ekstrak lidah buaya (*Aloe vera* L.) dilakukan uji skrining fitokimia terlebih dahulu. Skining fittokimia yang dilakukan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak lidah buaya (*Aloe vera* L.) antara lain :

a. Antrakuinon

Ekstrak lidah buaya (*Aloe vera* L.) dimasukkan kedalam 2 tabung reaksi sebanyak 3 ml, kemudian tabung 1 diberi tetesan larutan NaOH 1 N, larutan ke 2 sebagai kontrol. Identifikasi dinyatakan positif bila terjadi perubahan warna larutan menjadi merah pada larutan 1 (Putri *et al.* 2015).

b. Tannin

Pada pengujian tannin, sebanyak 50 mg ekstrak lidah buaya dimasukkan kedalam tabung reaksi, tetesi dengan FeCl_3 0,1%, terjadi perubahan warna hijau/biru menunjukkan adanya tannin (Sari *et al.* 2012).

c. Saponin

Saponin merupakan senyawa yang mirip seperti sabun, sehingga hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil. Identifikasi dilakukan dengan ekstrak lidah buaya dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian tambahn 5 ml akuades kocok kuat hingga terbentuk busa. Setelah itu tambahkan 2 tetes HCl 1 N, kocok kuat hingga terbentuk busa yang stabil hingga 10 menit (Warditianin, 2013).

d. Flavonoid

Pada pengujian identifikasi flavonoid, ekstrak lidah buaya dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 2 mg, kemudian ditambahkan dengan

1-2 ml metanol panas, tambahkan HCl pekat sebanyak 4-5 tetes. Hasil positif ditandai dengan terdapat endapan kuning pada larutan (Sari *et al.*, 2012).

3.5.4 Karakterisasi Emodin

Analisis dilakukan dengan Sistem HPLC dengan merek dan tipe alat Shimadzu LC-10AT pada kolom C18 (150x4,6 mm), 5 μ m, Inertsil ODS-3, GL-Science. Menggunakan fasa gerak Metanol : Asam Asetat 2% dalam Aquadest, laju alir 1 mL/menit, Panjang gelombang 254 nm, volume injeksi 20 μ L dan waktu analisis selama 20 menit. (Tabin *et al.*, 2016).

a. Preparasi Standar

Dalam perparasi standar pembuatan larutan terdiri dari larutan induk dan larutan kerja. Dalam larutan induk 10 mg standar emodin dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dengan tanda batas menggunakan metanol p.a. kemudian campur dengan sonikator sampai homogen selama 5 menit. Kemudian simpan larutan induk dalam vial. Larutan induk untuk selanjutnya dipipet sebanyak 0,1 ml, 0,2ml, 0,4 ml, 0,8 ml dan 1,6 ml kedalam labu ukur 10 ml masing-masing untuk mendapatkan konsentrasi larutan kerja. Saring masing-masing larutan kerja menggunakan *syringe filter* PTFE 0,45 mikrometer simpan dalam vial untuk selanjutnya dianalisis menggunakan HPLC.

b. Preparasi Sampel

Sebanyak 0,1 g sampel dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml tanda bataskan dengan metanol p.a. campur dengan sonikator hingga homogen selama 5 menit. Saring menggunakan *syringe filter* PTFE 0,45 mikrometer simpan dalam vial untuk selanjutnya dianalisis menggunakan HPLC.

3.5.6 Formulasi Kapsul

Formulasi kapsul yang akan digunakan dalam penelitian ini sesuai dengan konsentrasi bahan yang memenuhi persyaratan. Formulasi kapsul

yang akan digunakan pada penelitian ini, dilampirkan pada table 3.2 berikut (Lebang *et al.*, 2020) :

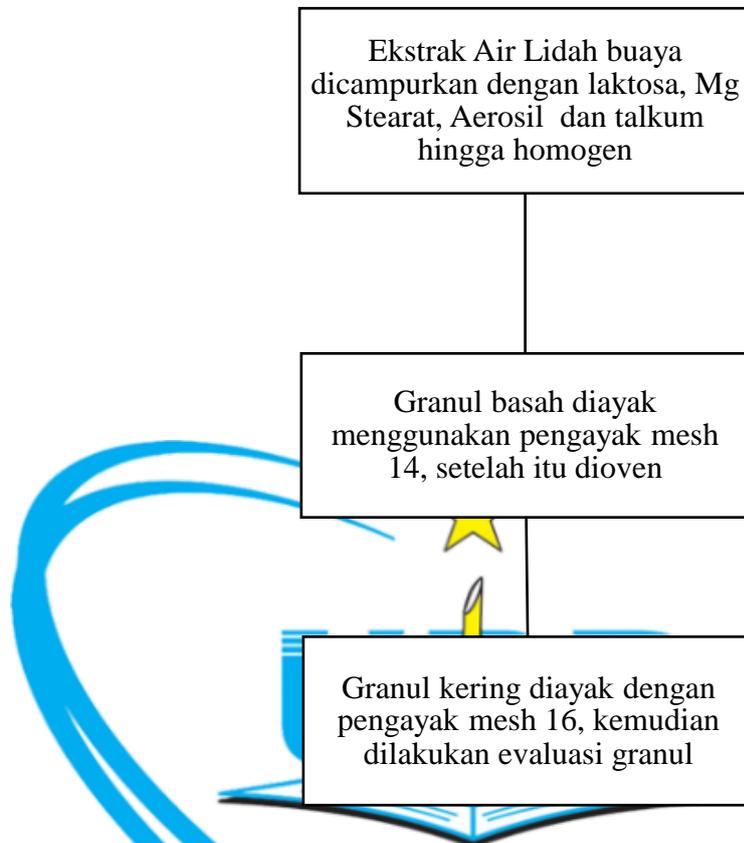
Table 3.2. Formulasi Kapsul Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) (Wulandari, *et al.* .2020)

Bahan	Khasiat	Berat Formula (g)	
		A	B
Emodin dalam Ekstrak Air Lidah Buaya	Zat Aktif	69,8	69,8
Aerosil	Adsorben	5,2	5,2
Mg Stearat	Lubrikan	10	-
Talkum	Glidan	8	8
Laktosa	Pengisi	10	10

Magnesium stearat dipilih sebagai pembeda dari formulasi ini bertujuan untuk mengamati laju alir yang baik dari granul formula A dan B yang menggunakan dan tanpa menggunakan magnesium stearate. Laju alir yang baik akan berpengaruh terhadap proses pelepasan obat.

3.5.7 Pembuatan Granul Ekstrak Air Lidah Buaya (*Aloe vera L.*)

Proses granulasi pada penelitian ini menggunakan metode granulasi basah yang dilakukan dengan mencampurkan ekstrak dengan eksipien hingga terbentuk granul, kemudian granul basah di ayak dengan pengayak mesh 14. Setelah itu granul dioven dengan suhu 40 °C - 60 °C selama 1 jam, kemudian ayak menggunakan pengayak mesh 16. Lakukan evaluasi granul terhadap granul kering (Suhery *et al.*, 2016). Berikut ini skema prosedur pembuatan granul yang terlampir dalam gambar 3.1 :



Gambar 3.1 Skema Pembuatan Granul

3.5.8 Uji Evaluasi Granul

Pada pengujian granul beberapa tahapan pengujian sebagai berikut :

1. Uji daya alir

Uji daya alir dilakukan dengan memasukkan granul kedalam corong kemudian alirkan, dan catat waktu alir granul menggunakan *stopwatch*. Granul dikatakan memiliki sifat alir yang baik jika kecepatan alirnya tidak kurang dari 10 g/detik atau 100 g granul waktu alirnya tidak lebih dari 10 detik (Wulandari F. *et al.* 2020). Untuk rumus yang digunakan dalam menentukan daya alir granul ini yaitu :

$$\text{Daya alir} = \frac{\text{berat granul}}{\text{waktu alir}}$$

2. Uji kadar air / *Moisture content*

Uji kadar air dilakukan untuk mengevaluasi kandungan lembab dari suatu granul agar memastikan bahwa granul yang dihasilkan memiliki kandungan lembab yang memenuhi persyaratan yaitu < 5% (Supomo, *et al.* 2015).

Pengujian ini dilakukan dengan 10 gr granul ditimbang kemudian keringkan dengan memasukkan kedalam oven selama 30 menit pada suhu 70°C. Kemudian granul yang telah dikeringkan ditimbang, hitung kandungan kadar air dengan rumus berikut :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{bobot penimbangan (akhir-awal)}}{\text{massa zat}} \times 100\%$$

3. Uji sudut diam

Pada pengujian sudut diam dilakukan seperti prosedur pada uji daya alir, yaitu dengan memasukkan 25 g granul kedalam corong kemudian biarkan granul melewati corong. Diameter dan tinggi tumpukan granul dicatat dan dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\tan \alpha = \frac{h}{d}$$

Keterangan :

h = Tinggi tumpukan granul

d = diameter granul

Bila sudut diam lebih kecil dari 25° biasanya menunjukkan bahwa bahan dapat mengalir bebas, bila sudutnya lebih besar atau sama dengan 40° biasanya daya mengalirnya kurang baik (Lannie H, *et al.* 2013).

4. Uji kerapatan mampat granul

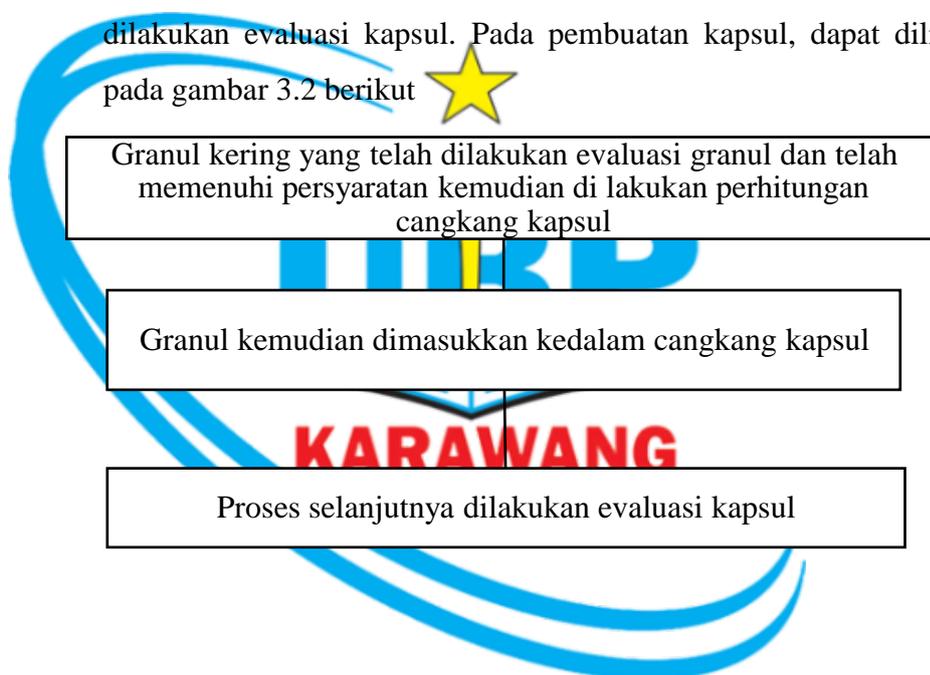
Pada pengujian ini, granul dimasukan kedalam gelas ukur 100 ml sebanyak 30 g (B), dicatat volume awal (Vo) kemudian

dilakukan pengetukan. Volume yang diukur pada ketukan ke 10, 50 dan 100, kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan berikut (Rachmaniar *et al.*, 2016) :

$$BJ \text{ Mampat} = \frac{B}{V_{\text{mampat}}} \text{ g/ml}$$

3.5.9 Pengisian Granul Kedalam Cangkang Kapsul

Granul yang telah memenuhi persyaratan uji granul, kemudian dihitung untuk dimasukan kedalam cangkang kapsul, kemudian dilakukan evaluasi kapsul. Pada pembuatan kapsul, dapat dilihat pada gambar 3.2 berikut



Gambar 3.2 Skema Pengisian Granul Ekstrak Lidah Buaya kedalam Cangkang Kapsul

3.5.10 Evaluasi Kapsul

Sedangkan untuk pengujian evaluasi kapsul dilakukan untuk menjamin sediaan kapsul terbebas dari partikel asing, menjamin kualitas dan menjamin kapsul hancur pada cairan tubuh (Santoso *et al.*, 2018). Beberapa pengujian yang harus dilakukan sebagai berikut :

1. Uji Organoleptik

Pengujian sediaan yang dilakukan menggunakan indera manusia. Bertujuan agar memastikan kapsul terbebas dari partikel asing, kering dan bersih (Ringo *et al.*, 2017).

2. Uji Keseragaman bobot

Berdasarkan persyaratan Farmakope Indonesia edisi III bahwa kapsul dengan bobot rata-rata lebih dari 120 mg tidak boleh memiliki perbedaan dalam persen bobot isi tiap kapsul terhadap bobot rata-rata isi kapsul lebih dari 7,5% dan 15%.

3. Uji waktu hancur

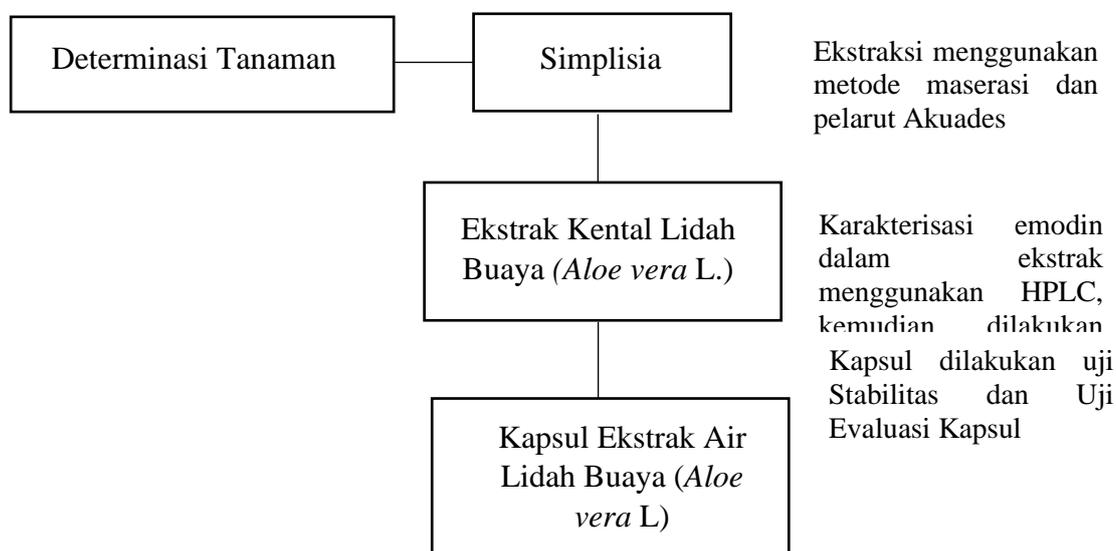
Menurut Farmakope Indonesia edisi III syarat uji waktu hancur yaitu di bawah 15 menit. Bertujuan untuk melihat berapa lama waktu yang diperlukan kapsul untuk hancur, bertujuan agar menjamin kapsul hancur pada cairan tubuh.

3.5.11 Uji Stabilitas Dipercepat

Pengujian stabilitas dipercepat terhadap kapsul yaitu menggunakan suhu 5°C dan 35°C diamati pada hari ke 0, 1, 3, 7, 14, 21, 28 (Aprillanda *et al.*, 2020).

3.6 RANCANGAN PENELITIAN

Dalam penelitian ini, beberapa kegiatan yang telah dirancang dapat dilihat pada gambar 3.3 berikut :



Gambar 3.3 Rancangan Penelitian

3.7 ANALISIS DATA

Pengujian evaluasi granul dan evaluasi kapsul ekstrak air lidah buaya (*Aloe vera* L.) dianalisis menggunakan standar deviasi dari rata-rata tiap pengujian evaluasi. Tujuannya adalah untuk melihat seberapa jauh persebaran data pada suatu sampel dengan nilai rata-ratanya.

