**BAB III**

**METODE PENELITIAN**

**3.1 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian ini adalah penelitian dengan metode eksperimental yang dilakukan di laboratorium yang meliputi pengambilan sampel, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, penghalusan simplisia hingga serbuk, pembuatan sediaan*Orally Disintegrating Tablet* (ODT), evaluasi massa serbuk dan evaluasi sediaan ODT.

**3.1.1 Variabel Penelitian**

 Variabel bebas pada penelitian ini adalah kembang kol (*Brassica Oleracea var. botrytis* L.).Variabel terikat meliputi, karakterisasi simplisia, pembuatan formulasi serbuk ODT, evaluasi preformulasi, dan evaluasi *Orally Disintegrating Tablet* (ODT).

**3.1.2 Parameter Penelitian**

 Parameter pada penelitian ini adalah penentuan kadar air, penentuan kadar abu total, penentuan kadar abu tidak larut asam, penentuan kadar sari larut air, penentuan kadar sari larut etanol, waktu alir, sudut diam, kompresibilitas, organoleptis, kekerasan tablet, kerapuhan tablet, keseragaman ukuran, keseragaman bobot, waktu hancur menggunakan cawan petri, waktu hancur dalam rongga mulut dan waktu pembasahan.

**3.2 Jadwal dan Lokasi Penelitian**

**3.2.1 Jadwal Penelitian**

 Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2024 sampai Juni 2024.

**3.2.2 Lokasi Penelitian**

 Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Terpadu, Laboratorium Botani, Laboratorium Teknologi Formulasi Sediaan Padat Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah Medan,Laboratorium Penelitian Farmasi Universitas Sumatera Utara Medan, dan Laboratorium Teknologi Sediaan Padat STIKES Indah Medan.

**3.3 Bahan dan Peralatan**

**3.3.1 Bahan Penelitian**

 Bahan yang digunakan dalam penelitian ini,antara lain : Kembang kol (*Brassica oleracea var. botrytis*L*.*), sari tapai, magnesium stearate (*Eur Phar*), aerosil (*Pharma*), talcum (*Avantor Performance Materials*), PVP K-30 (*Green PharcmChem*), avicel PH 102 (*DFE Pharma*), SSG (*Gujarat Overseas INC*), manitol (*Shijazhuang Huaxu Pharmaceutical*), kertas saring, kertas perkamen aquades, Asam klorida (p) kloroform dan etanol 96%.

**3.3.2 Peralatan Penelitian**

 Alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain : Timbangan analitik (Shidmazu),blender (Phillips), *friability tester* (CS-II), *hardness tester* (YD-I), alat cetak tablet (*single punch*), oven (*B-ONE*), tanur, desikator, hot plate, wadah, pisau, mortir, stamper, krus porselin, waterbath, sudip, penggaris, dan alat-alat gelas.

**3.4 Persiapan Bahan**

**3.4.1 Determinasi Sampel**

 Determinasi sampel dilakukan di Herbarium Medanese (MEDA) Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara Medan.

**3.4.2 Pengambilan Sampel**

 Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kembang kol yang diambil dari Pasar simpang limun medan.

**3.4.3 Pengumpulan Sampel**

 Pengumpulan sampel dilakukan secara purposive yaitu tanpa membandingkan sampel yang diambil dari tempat yang berbeda dengan sampel yang sama.

**3.4.4 Pembuatan Serbuk Kembang Kol**

 Kembang kol terlebih dahulu dipisahkan dari bagian yang tidak diperlukan, lalu dicuci dengan air mengalir, ditiriskan kemudian dipotong-potong untuk memperkecil ukuran agar mempermudah pengeringan.Kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari hingga kering.Setelah pengeringan, dilakukan sortasi kering.simplisia diblender dan diayak hingga didapatkan massa berupa serbuk.

**3.5 Pembuatan Sari Tapai**

Proses pembuatannya dilakukan dengan cara beras ketan direndam dengan menggunakan air didalam wadah dengan suhu ruangan. Kemudian dilakukan pengukusan menggunakan dandang dilakukan sebanyak 2 kali pengukusan lalu diangkat, jika sudah dingin tambahkan ragi instan yang telah dihaluskan.Disimpan atau dibiarkan selama 5-7 hari.Selanjutnya tapai ketan yang dihasilkan diperas hingga diperoleh sari tapai kemudian dilakukan pemasakan hingga air tapai mengental, dilakukan pengadukan agar mempermudah masuknya udara ke dalam adonan sehingga cepat mengering dan memadat. Tahap terakhir dilakukan proses pencetakan dan penjemuran (F. A. Utami et al., 2023).

**3.6 Pembuatan Larutan Pereaksi**

**3.6.1 Larutan Pereaksi Asam Klorida 2 N**

 Asam klorida pekat sebanyak 17 ml dipipet kemudian dimasukkan dalam gelas kimia 100 ml lalu diencerkan dengan aquades sampai garis tanda (Depkes RI, 1995).

**3.7 Karakterisasi Simplisia**

**3.7.1 Identifikasi Makroskopik**

 Identifikasi makroskopik dapat dilihat dari habitus tumbuhan, yang dapat menunjukkan bahwa suatu tumbuhan termasuk semak, pohon, berkayu atau tidak.Pengamatan dilakukan pada bagian-bagian tumbuhan seperti bentuk batang, daun, akar, tata letak daun, sifat bunga, buah dan bijinya. Pengamatan ini pada umumnya tidak memerlukan alat khusus, tetapi jika ingin mengetahui secara seksama dapat dilakukan dengan lup sebagai alat bantu (Murwani & Iswarin, 2017).

**3.7.2 Identifikasi Mikroskopik**

 Identifikasi mikroskopik dilakukan untuk melihat struktur dalam dari bagian-bagian tumbuhan, dan kemungkinan lokasi dari zat-zat yang berkhasiat dalam tubuh tumbuhan yang dapat dikenali dengan karena ada warna atau bentuk sel-sel yang berbeda dengan sel-sel sekitarnya, serta adanya benda-benda ergastic dalam tubuh tumbuhan. Pengamatan mikroskopik dapat mengenali bentuk butir amilum, kristal kalsium oksalat, kalsium karbonat, di samping keberadaan sel minyak, kelenjar-kelenjar tertentu, komponen-komponen dinding sel, serta komponen lain (Murwani & Iswarin, 2017).

**3.7.3 Penentuan Kadar Air**

 Penetapan kadar air dilakukan dengan metode Azeotropi. Alat yang digunakan yaitu labu alas bulat 500 ml, alat penampung dan pendinginan, tabung penyambung dan penerima 10 ml.

1. Penjenuhan toluene

 Sebanyak 200 ml toluene dan 2 ml air suling dimasukkan ke dalam labu alas bulat, dipasang alat penampung dan kondensor, selanjutnya didestilasi selama 2 jam. Destilasi dihentikan dan dibiarkan dingin selama 30 menit, kemudian volume air dalam tabung penerima dibaca dengan ketelitian 0,05 ml.

1. Penetapan kadar air simplisia

 Sebanyak 5 g serbuk simplisia yang telah ditimbang seksama, dimasukkan kedalam labu berisi toluene jenuh tersebut, kemudian dipanaskan hati-hati selama 15 menit.Setelah toluen mendidih, kecepatan tetesan diatur 2 tetes untuk tiap detik sampai Sebagian besar air terdestilasi, kemudian kecepatan destilasi dinaikkan sampai 4 tetes tiap detik.Setelah semua air terdestilasi, bagian dalam pendinginan dibilas dengan toluene.Dilanjutkan destilasi selama 5 menit.Kemudian tabung penerima dibiarkan dingin pada suhu kamar. Setelah air dan toluen memisah sempurna, volume air dibaca dengan ketelitian 0,05 ml. selisih kedua volume air yang dibaca sesuai dengan kandungan air yang terdapat dalam bahan yang akan diperiksa. Kadar air dihitung dalam persen (v/b) (Indonesia, 1989).

**3.7.4 Penentuan Kadar Abu Total**

 Sebanyak 2 g serbuk simplisia dimasukkan dalam krus porselin yang telah dipijar dan ditara, kemudian diratakan.Krus dipijar perlahan-lahan, lalu suhu dinaikkan secara bertahap hingga 600oC sampai arang habis, jika arang masih tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa dan kertas saring dalam krus yang sama. Masukkan filtrat kedalam krus, uapkan, pijarkan hingga bobot tetap, lalu ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan (Indonesia, 1989).

**3.7.5 Penentuan Kadar Abu Tidak Larut Asam**

 Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 ml asam klorida encer selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring melalui kurs kaca masir atau kertas saring bebas abu yang telah diketahui beratnya, lalu sisanya dipanaskan, selanjutnya didinginkan dan ditimbang sampai bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Indonesia, 1989).

**3.7.6 Penentuan Kadar Sari Larut Air**

 Sebanyak 5 g serbuk simplisia dimaserasi dengan 2,5 ml kloroform dalam 100 ml aquadest selama 24 jam menggunakan labu bersumbat sambil sekali-kali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian diamkan selama 18 jam. Kemudian saring 20 ml filtrat diuapkan dalam cawan dangkal berdasar rata (yang telah ditara) di atas penangas air hingga kering, sisa dipanaskan pada suhu 105oC hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Indonesia, 1989).

**3.7.7 Penetapan Kadar Sari Larut Etanol**

 Ditimbang sebanyak 5 g serbuk simplisia yang telah dikeringkan diudara dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml etanol 95% dalam labu bersumbat sambil dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama lalu didiamkan selama 18 jam. Selanjutnya disaring, 20 ml filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara dan sisanya dipanaskan pada suhu 105oC sampai bobo tetap. Kadar sari larut dalam etanol dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Indonesia, 1989).

**3.8 Formulasi Sediaan ODT Serbuk Kembang Kol**

Tablet ODT dibuat menggunakan metode kempa langsung dengan bobot tablet 200 mg, diameter 9 mm. Beberapa formula tablet ODT dapat dilihat pada tabel 3.1 sebagaiberikut :

**Tabel 3.1** Formulasi Sediaan ODT Serbuk Kembang Kol

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **No.** | **Bahan** |  | **Formula(mg)** | **Fungsi** |
|  |  | **F0** | **FI** | **FII** | **FIII** |  |
| 1. | Serbuk kembang kol | 20 | 20 | 20 | 20 | Zak aktif |
| 2. | SSG | 10 | - | - | - | Penghancur |
| 3. | Sari tapai | - | 10 | 15 | 20 | Penghancur |
| 4. | Magnesium stearate | 2 | 2 | 2 | 2 | Lubrikan |
| 5. | Aerosil  | 1 | 1 | 1 | 1 | Glidan |
| 6. | Talkum | 2 | 2 | 2 | 2 | Pelicin |
| 7. | PVP K-30 | 2 | 2 | 2 | 2 | Pengikat |
| 8. | Avicel PH 102 | 50 | 50 | 50 | 50 | Pengisi |
| 9. | Manitol | 113 | 113 | 118 | 103 | Pemanis |

Keterangan :

F0 : Bahan penghancur SSG dengan konsentrasi 5% (sebagai pembanding)

F1 : Bahan penghancur sari tapai dengan konsentrasi 5%

F2 : Bahan penghancur sari tapai dengan konsentrasi 7,5%

F3 : Bahan penghancur sari tapai dengan konsentrasi 10%

**3.8.1 Pembuatan sediaan ODT Serbuk Kembang Kol**

 Pada proses formulasi diawali dengan menimbang seluruh bahan pada formula. Serbuk kembang kol, manitol, avicel PH 102, sari tapai, PVP K-30, magnesium stearate, talcum dan aerosil dicampur hingga homogen. Setelah didapatkan massa serbuk, sebagian massa serbuk dilakukan evaluasi fisik. Setelah itu massa serbuk dicetak menjadi tablet kemudian dilakukan evaluasi tablet.

**3.9 Evaluasi Preformulasi**

**3.9.1 Uji Waktu Alir dan Sudut Diam**

 Untuk uji waktu alir menggunakan metoda corong.100 gram granul dimasukkan kedalam corong dengan ukuran tertentu dan bagian bawahnya tertutup.Siapkan stopwatch, lalu buka penutup dan catat waktu yang perlukan seluruh granul melalui corong tersebut. Waktu alir yang baik adalah jika waktu alir menunjukkan kurang lebih atau sama dengan 10 detik. Persyaratan waktu alir dapat dilihat pada Tabel 3.3(Murtini, G dan Yetri, 2018).

 Selanjutnya dilakukan pengukuran tinggi kerucut dan jari-jari kerucut yang terbentuk dengan menggunakan penggaris.Semakin kecil sudut diam maka alir granul lebih baik. Persyaratan sudut diam dapat dilihat pada Tabel 3.4 *(Saputri et al*., 2022).

Rumus sudut diam : Tan α = $\frac{h}{r}$

Keterangan :

α = Sudut

h = Tinggi bukit

r = jari-jari alas bukit

**Tabel 3.2**Syarat Waktu Alir (Murtini, G dan Yetri, 2018).

|  |  |
| --- | --- |
| **Nilai** | **Gambaran Alir** |
| >10 | Mengalir bebas |
| 4-10 | Mudah mengalir |
| 1,6-4 | Kohesif |
| <1,6 | Sangat kohesif |

**Tabel 3.3** Syarat Sudut Diam(Nurdianti *et al*., 2022)

|  |  |
| --- | --- |
| **Sudut** | **Keterangan** |
| 25-30 | Sangat baik |
| 31-35 | Baik |
| 36-40 | Cukup |
| < 41-45 | Sukar |

**3.9.2 Uji Indeks Kompresibilitas**

 Menurut Farmakope Indonesia Edisi VI (2020), uji ini dilakukan dengan cara massa serbuk dimasukkan kedalam gelas ukur. Kemudian dilakukan pengetapan sebanyak 300 kali lalu amati perubahan volume sebelum pengetapan (V0) dan volume setelah pengetukan konstan (Vf). Kemudian hitung persen kompresibilitasnya (Depkes RI, 2020). Dengan rumus :

Indeks kompresibilitas = $\frac{V0-Vf}{V0}$x 100 %

Persyaratan kompresibilitas dapat dilihat pada tabel 3.4 sebagai berikut :

**Tabel 3.4**Syarat Kompresibilitas (Murtini, G dan Yetri, 2018)

|  |  |
| --- | --- |
| **% Kompresibilitas** | **Kriteria Aliran** |
| 5-12 | Baik sekali |
| 12-16 | Baik |
| 18-21 | Cukup |
| 23-35 | Buruk |
| 35-38 | Sangat buruk |
| >40 | Sangat-sangat buruk |

**3.10 Evaluasi Sediaan ODT**

 Setelah melewati proses pencetakan, dilakukan uji terhadap sediaan tablet diantaranya sebagai berikut :

**3.10.1 Uji Organoleptis**

 Dilakukan pengamatan penampilan berupa bau, rasa, warna, dan tekstur permukaan tablet yang dihasilkan(Murtini, G dan Yetri, 2018).

**3.10.2 Uji Keseragaman Bobot**

 Untuk uji keseragaman tablet, pilih dua puluh tablet kemudian ditimbang satu persatu dengan timbangan elektrik lalu dihitung bobot rata-rata tiap tablet dan persen penyimpangan bobot.Hasil dibandingkan dengan persyaratan yang ada dalam Farmakope Indonesia Edisi III.Tidak boleh lebih dari 2 tablet yang bobotnya menyimpang dari bobot rata-ratanya lebih dari 7,5%, dan tidak ada satu tablet pun yang bobotnya menyimpang dari bobot rata-ratanya lebih dari 15%(Murtini, G dan Yetri, 2018). Penyimpangan bobot dapat dilihat pada Tabel 3.4 sebagai berikut :

**Tabel 3.4** Standar Penyimpangan Bobot Rata-Rata Tablet

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

**3.10.3 Uji Keseragaman Ukuran**

 Untuk uji keseragaman tablet, diambil dua puluh tablet lalu diukur diameternya menggunakan alat jangka sorong, hasilnya dibandingkan dengan persyaratan yang ada dalam Farmakope Indonesia Edisi III, yaitu diameter tablet tidak lebih dari 3 kali dan tidak kurang dari 1 1/3 kali tebal tablet(Murtini, G dan Yetri, 2018).

**3.10.4 Uji Kekerasan**

 Untuk uji kekerasan, dengan memberikan tekanan pada tablet sampai tablet tidak pecah, kekuatan minimum untuk tablet konvensional adalah sebesar 4 kg. Namun untuk tablet terdisintegrasi cepat yaitu 1-3 kg. Alat yang digunakan pada uji ini adalah *hardness tester*(Murtini, G dan Yetri, 2018).

**3.10.5 Uji Waktu Hancur Menggunakan Cawan Petri**

 Metode ini menggunakan cawan petri yang di isi dengan air.Tablet diletakkan secara perlahan pada bagian tengah cawan petri, kemudian dicatat waktu yang diperlukan untuk terdisentegrasinya seluruh tablet.

**3.10.6 Uji Waktu Hancur Dalam Rongga Mulut**

 Metode uji waktu hancurdalam mulut menggunakan sukarelawan.Sebelum memulai uji, sukarelawan diharuskan kumur-kumur terlebih dahulu. Satu tablet ODT diletakkan diatas lidah dan dibiarkan tablet hingga hancur sempurna. Dicatat waktu yang dibutuhkan tablet untuk hancur sempurna di mulut (Puspitasary & Novitasari, 2022)

**3.10.7 Uji Kerapuhan**

 Sering juga disebut dengan uji kerenyahan. Timbang dua puluh tablet yang telah dibersihkan dari debu dengan menggunakan kuas kecil dan dimasukkan ke dalam friability tester. Mesin *friability tester* dijalankan selama 4 menit dengan kecepatan 25 putaran/menit. Kemudian tablet dikeluarkan dan dibebasdebukan, lalu ditimbang. Persentase kehilangan bobot menunjukkan kerapuhannya.Kerapuhan tablet dianggap cukup baik Ketika nilainya kurang dari 1%. Dengan rumus :

%F = (Bobot awal- Bobot setelah uji)/(Bobot awal) x 100%(Murtini, G dan Yetri, 2018).

**3.10.8 Uji Waktu Pembasahan**

 Waktu pembahasan tablet dapat dilakukan dengan prosedur yang sederhana. pengujian waktu pembasahan sediaan ODT dilakukan dengan meletakkan tablet pada permukaan kertas saring yang diletakkan di atas cawan petri. Ditambahkan 10 ml larutan erosin atau metilen blue kedalam cawan petri. Kemudian dihitung waktu sejak awal tablet diletakkan pada cawan petri hingga seluruh permukaan tablet terbasahi. (Parfati & Rani, 2018).

**3.11 Analisa Data**

Data hasil pengamatan dikumpulkan dalam bentuk tabel, kemudian data dianalisis dengan uji ANOVA one way menggunakan software SPSS versi 22.Uji ANOVA (Analysis of variance) adalah uji yang memberikan gambaran hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat yang mempunyai tingkat kepercayaan 95%. Uji homogenitas dan normalitas merupakan syarat yang harus dipenuhi pada uji ANOVA dengan nilai signifikan (p > 0,05). Uji ini bertujuan untuk membandingkan lebih dari dua kelompok data sampel independen yang diamati (Palupi & Prasetya, 2022). Jika syarat homogenitas dan normalitas tidak terpenuhi maka pengujian menggunakan statistik non parametrik yaitu uji Kruskal Wallis. Jika hasil uji Kruskal Wallis memiliki nilai signifikansi < 0,05, maka dilanjutkan dengan Post hoc test Mann Whitney.