

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Bahan Penelitian

4.1.1 Bahan

1. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn).
2. Aquadest
3. Primojel
4. Avicel
5. Etanol 96%
6. Kloroform
7. Metanol
8. Laktosa
9. Standar kurkumin
10. Standar skopoletin

4.2 Alat

1. Maserator
2. Penyaring Buchner
3. Rotary Evaporator Buchi R-153
4. Corong Pisah 1 L
5. Beaker Glass 100 mL
6. Gelas Ukur 10, 50, 100 mL
7. Batang pengaduk
8. Corong

9. Erlenmeyer 250 mL
10. Mortir dan stamper
11. Labu Ukur 5 dan 10 mL
12. Pipet
13. Mikro Pipet Soccorex
14. Kertas saring
15. Erweka Disintegration Tester Type ZT501
16. Densitometer

4.3 Prosedur

4.3.1 Pembuatan Ekstrak Kental Rimpang Temulawak

Serbuk simplisia rimpang temulawak seberat 3 kg diekstraksi dengan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan 6 liter etanol 96% selama 24 jam. Setelah itu hasil maserasi disaring menggunakan corong Buchner untuk mendapatkan filtrat berupa ekstrak temulawak. Maserasi dilakukan sebanyak 4 kali kali. Filtrat dari 4 kali maserasi dikumpulkan dan diuapkan menggunakan rotavapor dengan tekanan rendah sampai $\pm 10\%$ volume awal.

4.3.2 Pembuatan Ekstrak Kering Rimpang Temulawak

Mengeringkan ekstrak kental rimpang temulawak :

- a. Menimbang 10,0 gram ekstrak kental rimpang temulawak, masukkan ke dalam mixer
- b. Menimbang cab-o-sil : avicel : primogel masing-masing sebanyak 2,5 gram : 1,5 gram : 1,0 gram (perbandingan 5: 3 : 2 sebanyak 50 % dari jumlah ekstrak kental rimpang temulawak)

- c. Campurkan ekstrak kental temulawak dengan primogel ad homogen di dalam mixer
- d. (c) dicampurkan dengan avicel ad homogen
- e. (d) dicampurkan dengan cab-o-sil sedikit demi sedikit ad homogen
- f. Siapkan 3 buah nampan aluminium bersih
- g. Tuangkan (e) di nampan aluminium dan ratakan
- h. Kemudian (g) dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat yang terhindar cahaya matahari langsung selama kurang lebih 1 jam
- i. Setelah kering, granul yang sudah jadi dikumpulkan, kemudian di masukan ke oven dengan suhu 37°C selama 24 jam.
- j. Kemudian granul yang sudah kering dimasukan di dalam toples dan simpan di tempat kering yang terhindar dari sinar matahari langsung

4.3.3 Pembuatan Ekstrak Kental Buah Megkudu

Serbuk simplisia buah megkudu seberat 3 kg diekstraksi dengan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan 5 liter etanol 96% selama 24 jam. Setelah itu hasil maserasi disaring menggunakan corong Buchner untuk mendapatkan filtrat berupa ekstrak cair temulawak. Maserasi dilakukan sebanyak 4 kali. Filtrat dari 4 kali maserasi dikumpulkan dan diuapkan menggunakan rotavapor dengan tekanan rendah sampai $\pm 10\%$ volume awal.

4.3.4 Pembuatan Ekstrak Kering Buah Mengkudu

Mengeringkan ekstrak kental buah mengkudu :

- a. Menimbang 20,0 gram ekstrak kental buah mengkudu, masukkan ke dalam mixer
- b. Menimbang cab-o-sil : avicel : primogel masing-masing sebanyak 7,0 gram : 4,2 gram : 2,8 gram (perbandingan 5 : 3 : 2 sebanyak 70 % dari jumlah ekstrak kental buah mengkudu)
- c. Larutkan ekstrak kental buah mengkudu dengan etanol 2 dan ad larut di dalam mixer
- d. Campurkan (c) dengan primogel ad homogen di dalam mixer
- e. (d) dicampurkan dengan avicel ad homogen di dalam mixer
- f. (e) dicampurkan dengan cab-o-sil sedikit demi sedikit ad homogen di dalam mixer
- g. Siapkan 3 buah nampan aluminium bersih
- h. Tuangkan (f) di nampan aluminium dan ratakan tipis-tipis
- i. Kemudian (h) dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat yang terhindar cahaya matahari langsung selama kurang lebih 24 jam
- j. Setelah kering, granul yang sudah jadi dikumpulkan, kemudian di masukan ke oven dengan suhu 37°C selama 24 jam.
- k. Kemudian granul yang sudah kering dimasukan di dalam toples dan yang terhindar dari sinar matahari langsung

4.3.5 Penetapan Kadar Kurkumin dalam Ekstrak Kering Rimpang Temulawak dengan KLT-Densitometri

Penetapan kadar dilakukan dengan beberapa parameter validasi, diantaranya :

4.3.5.1 Presisi

1. Dibuat larutan sampel dengan melarutkan 114,33 mg ekstrak kering rimpang temulawak kemudian dilarutkan dengan etanol 96% ad 5 mL
2. Disiapkan eluen yaitu toluen : etil asetat dengan perbandingan 65:35 sebanyak 54 mL, dimasukkan ke dalam chamber, ditunggu ad chamber jenuh.
3. Standar dan sampel ditotolkan pada plat KLT masing-masing sebanyak 2 μ L, kemudian plat dieluasi.
4. Dilakukan scanning di densitometer pada panjang gelombang 425 nm, tentukan SD dan KV

4.3.5.2 Akurasi

1. Dibuat larutan sampel dengan menimbang 80,0 mg ekstrak kering rimpang temulawak kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml
2. (3) ditambahkan dengan 225 μ L baku induk, kemudian di tambahkan etanol 96% ad 5 mL.
3. Disiapkan eluen yaitu toluen : etil asetat dengan perbandingan 65:35 sebanyak 54 mL, dimasukkan ke dalam chamber, ditunggu ad chamber jenuh.
4. Standar dan sampel ditotolkan pada plat KLT masing-masing sebanyak 2 μ L, kemudian plat dieluasi.
5. Dilakukan scanning di densitometer pada panjang gelombang 425 nm, hitung % recovery, LOD dan LOQ

4.3.5.3 Linieritas

1. Dibuat larutan baku induk kurkumin dengan kadar 5000 ppm
2. Dibuat larutan baku kerja kurkumin dengan kadar 50, 100, 200, 300, 400, 500 ppm
3. Disiapkan eluen yaitu toluen : etil asetat dengan perbandingan 65:35 sebanyak 54 mL, dimasukkan ke dalam chamber, ditunggu ad chamber jenuh.
4. Standar ditotolkan pada plat KLT masing-masing sebanyak 2 μ L. Kemudian plat dieluasi.
5. Dilakukan scanning di densitometer pada panjang gelombang 425 nm, hitung persamaan regresi dan koefisien korelasi (r)

4.3.5.4 Penetapan Kadar

1. Dibuat larutan sampel dengan melarutkan 114,33 mg ekstrak kering rimpang temulawak
2. Disiapkan eluen yaitu toluen : etil asetat dengan perbandingan 65:35 sebanyak 54 mL, dimasukkan ke dalam chamber, ditunggu ad chamber jenuh.
3. Standar dan sampel ditotolkan pada plat KLT masing-masing sebanyak 2 μ L, kemudian plat dieluasi.
4. Dilakukan scanning di densitometer pada panjang gelombang 425 nm, tentukan kadar kurkumin.

4.3.6 Penetapan Kadar Skopoletin dalam Ekstrak Kering Buah Mengkudu dengan KLT-Densitometri

Penetapan kadar dilakukan dengan beberapa parameter validasi, diantaranya :

4.3.6.1 Presisi

1. Dibuat larutan sampel dengan menimbang 302,28 mg ekstrak kering buah mengkudu kemudian dilarutkan dengan etanol 96% ad 5 mL.
2. Disiapkan eluen yaitu toluen : etil asetat dengan perbandingan 65:35 sebanyak 54 mL, dimasukkan ke dalam chamber, ditunggu ad chamber jenuh.
3. Standar dan sampel ditotolkan pada plat KLT masing-masing sebanyak 2 μ L kemudian plat dieluasi.
4. Dilakukan scanning di densitometer pada panjang gelombang 345 nm tentukan SD dan KV

4.3.6.2 Akurasi

1. Dibuat larutan sampel dengan menimbang 120,0 mg ekstrak kering buah mengkudu kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 ml
2. (3) ditambahkan dengan 200 μ L baku induk, kemudian di tambahkan etanol 96% ad 5 mL.
3. Disiapkan eluen yaitu toluen : etil asetat dengan perbandingan 65:35 sebanyak 54 mL, dimasukkan ke dalam chamber, ditunggu ad chamber jenuh.
4. Standar dan sampel ditotolkan pada plat KLT masing-masing sebanyak 2 μ L kemudian plat dieluasi.
5. Dilakukan scanning di densitometer pada panjang gelombang 345 nm, hitung % recovery, LOD dan LOQ

4.3.6.3 Linieritas

1. Dibuat larutan baku induk skopoletin dengan kadar 1000 ppm
2. Dibuat larutan baku kerja skopoletin dengan 5, 10, 15, 20, 25, 35 ppm

3. Disiapkan eluen yaitu toluen : etil asetat dengan perbandingan 65:35 sebanyak 54 mL, dimasukkan ke dalam chamber, ditunggu ad chamber jenuh.
4. Standar ditotolkan pada plat KLT masing-masing sebanyak 2 μL , kemudian plat dieluasi.
5. Dilakukan scanning di densitometer pada panjang gelombang 345 nm, hitung persamaan regresi dan koefisien korelasi (r)

4.3.6.4 Penetapan Kadar

1. Dibuat larutan sampel dengan melarutkan 302,28 mg ekstrak kering buah mengkudu
2. Disiapkan eluen yaitu toluen : etil asetat dengan perbandingan 65:35 sebanyak 54 mL, dimasukkan ke dalam chamber, ditunggu ad chamber jenuh.
3. Standar dan sampel ditotolkan pada plat KLT masing-masing sebanyak 2 μL , kemudian plat dieluasi.
4. Dilakukan scanning di densitometer pada panjang gelombang 345 nm, tentukan kadar skopoletin.

4.3.7 Pembuatan Kapsul Campuran Ekstrak Rimpang Temulawak dan Ekstrak Buah Mengkudu

Tabel 4.1 Formula Kapsul Campuran Ekstrak Rimpang Temulawak dan Ekstrak Mengkudu

| Bahan | Fungsi | Jumlah | |
|---------------------------|-------------|------------------|---------------------|
| | | Tiap Kapsul (mg) | Tiap 100 Kapsul (g) |
| Ekstrak buah mengkudu | Bahan aktif | 200 | 20 |
| Ekstrak rimpang temulawak | Bahan aktif | 100 | 10 |
| Primojel | Disintegran | 38 | 3,8 |
| Avicel | Glidan | 57 | 5,7 |
| Cab-O-Sil | Pengisi | 95 | 9,5 |

Cara pembuatan kapsul campuran ekstrak rimpang temulawak dan ekstrak buah mengkudu adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak kering rimpang temulawak dicampurkan dengan ekstrak kering buah mengkudu aa diaduk ad homogen
2. (3) ditambahkan sisa ekstrak kering buah mengkudu
3. Siapkan cetakan kapsul no 0, tata cangkang kapsul yang sudah dibuka pada cetakan
4. (4) dimasukkan ke (5), kemudian diratakan
5. Tutup cangkang kapsul yang sudah diisi, simpan di tempat yang kering dan terhindar dari sinar matahari langsung.

4.4 Uji Mutu Kapsul

4.4.1 Keseragaman Bobot Kapsul

Ditimbang 20 kapsul. Ditimbang lagi satu per satu. Dikeluarkan isi semua kapsul, ditimbang seluruh bagian cangkang kapsul. Dihitung bobot isi kapsul dan bobot rata-rata tiap isi kapsul. Perbedaan dalam persen bobot isi tiap kapsul terhadap bobot rata-rata tiap isi kapsul tidak boleh lebih dari

yang ditetapkan kolom A dan untuk setiap 2 kapsul tidak boleh lebih dari yang ditetapkan kolom B (Depkes RI, 1995).

Tabel 4.2 Persyaratan Keseragaman Bobot Kapsul

| Bobot Rata-Rata | Perbedaan Bobot Isi Kapsul (%) | |
|-------------------|--------------------------------|----|
| | A | B |
| 120 mg | 10 | 20 |
| 120 mg atau lebih | 7,5 | 15 |

4.4.2 Uji Keseragaman Kandungan

Ditetapkan kadar 10 satuan satu per satu seperti tertera pada *Penetapan kadar* dalam masing-masing monografi, kecuali dinyatakan lain dalam uji *keseragaman kandungan*. Kecuali dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, persyaratan dari keseragaman dosis dipenuhi jika jumlah zat aktif tidak kurang dari 9 dari 10 satuan sediaan terletak dalam rentang 85% hingga 115,0% dari yang tertera pada etiket dan tidak ada satuan terletak di luar rentang 75,0% hingga 125,0% dari yang tertera pada etiket dan simpangan baku relatif dari 10 satuan sediaan kurang dari atau sama dengan 6,0% (Depkes RI, 1995).

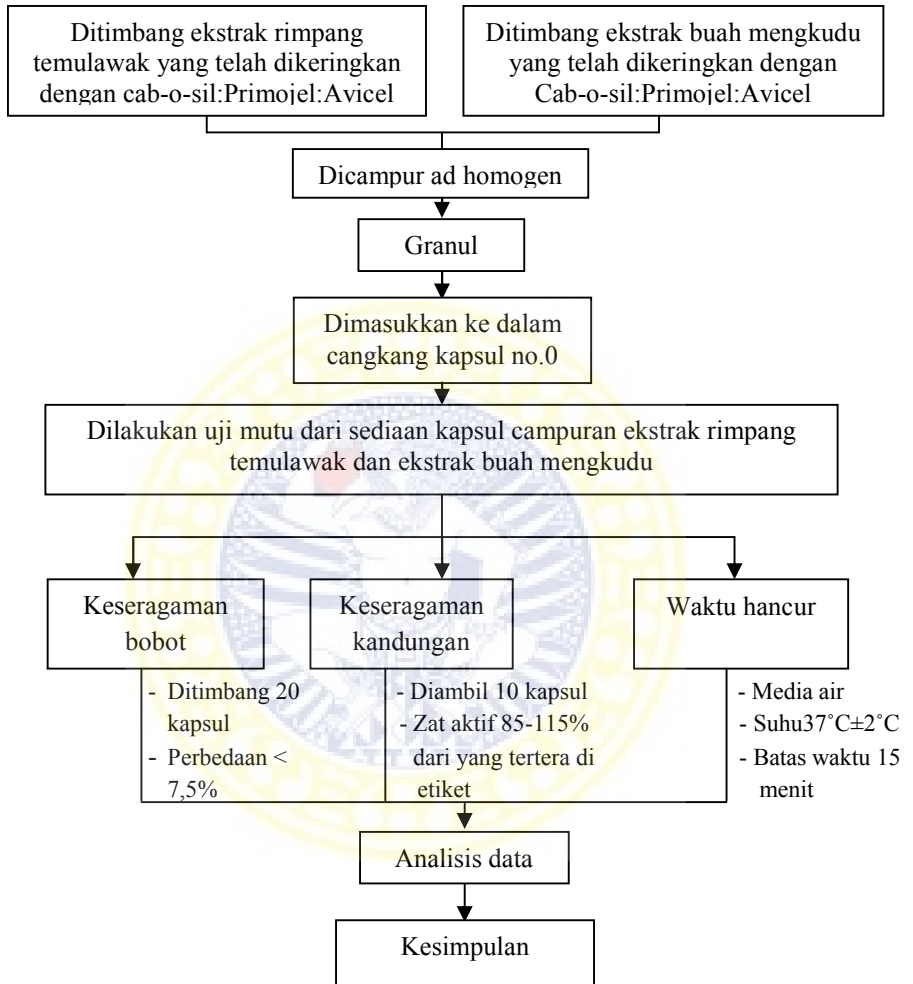
4.4.3 Uji Waktu Hancur

Dimasukkan 6 kapsul pada masing-masing tabung dari keranjang, dimasukkan kasa pada masing-masing tabung dari keranjang, digunakan air bersuhu $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ sebagai media. Kapsul diamati, waktu yang digunakan untuk menghancurkan keenam kapsul tidak lebih dari 15 menit. Semua kapsul harus hancur, kecuali bagian dari cangkang kapsul. Bila 2 kapsul tidak hancur sempurna, pengujian diulangi dengan 12 kapsul lainnya : tidak

kurang 16 dari 18 kapsul yang diuji harus hancur sempurna (Depkes RI, 1995).



4.5 Skema Pembuatan dan Pengujian Sediaan



Gambar 4.1 Skema pembuatan dan pengujian sediaan