

## **BAB IV**

### **PROSEDUR KERJA**

#### **4.1. Pengumpulan Tanaman**

Bahan yang digunakan adalah daun keji beling (*S. crisper*), yang diperoleh dari daerah Padasuka, Bandung.

#### **4.2. Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman keji beling (*S. crisper*) dilakukan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

#### **4.3. Pembuatan Simplisia**

Daun keji beling (*S. crisper*) dikumpulkan dan dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan air bersih yang mengalir lalu ditiriskan agar terbebas dari sisa air cucian setelah itu dilakukan perajangan lalu dikeringkan pada suhu kamar dengan cara diangin-anginkan dan dilakukan sortasi kembali. Simplisia yang sudah kering kemudian diblender, lalu simplisia disimpan pada wadah yang kering dan tertutup rapat, serta dalam ruangan yang terlindung dari cahaya (Agoes, 2009:14).

#### **4.4. Penapisan Fitokimia pada Simplisia dan Ekstrak**

##### **4.4.1. Penapisan Alkaloid**

Simplisia atau ekstrak ditempatkan dalam mortir dan ditambahkan amoniak 25% yang kemudian digerus dan ditambahkan 20 mL  $\text{CHCl}_3$ , gerus dengan kuat. Selanjutnya disaring dan diambil filtratnya (larutan 1). Larutan 1 tersebut ditambahkan dengan HCl 10% v/v hingga terbentuk dua fasa, kemudian pisahkan fasa air (larutan 2). Larutan 1 diteteskan pada kertas saring, semprotkan pereaksi Dragendorff. Apabila terbentuk warna merah atau jingga maka positif alkaloid (Fransworth, 1966:253).

##### **4.4.2. Penapisan Senyawa Polifenolat**

Simplisia atau ekstrak sebanyak 1 gram ditempatkan pada tabung reaksi, ditambahkan air secukupnya dan dipanaskan di atas penangas air, kemudian di saring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan larutan pereaksi besi (III) klorida. Apabila timbul warna hijau atau biru- hijau, merah ungu, biru hitam sampai hitam, maka menandakan positif fenolat atau timbul endapan coklat menandakan adanya polifenolat (Fransworth, 1996:255).

##### **4.4.3. Penapisan Flavonoid**

Simplisia atau ekstrak sebanyak 1 gram ditempatkan pada tabung reaksi lalu ditambahkan 100 mL air panas kemudian dididihkan selama 10 menit, campuran tersebut disaring, (Larutan A). Larutan A ini akan digunakan untuk pemeriksaan golongan senyawa flavonoid, saponin dan kuinon). Sebanyak 5 mL larutan A dicampur dengan serbuk magnesium dan 1 mL asam klorida pekat dan 8 tetes

amilalkohol, kocok dengan kuat. Biarkan sampai terjadi pemisahan dan timbulnya warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol menandakan positif flavonoid (Fransworth, 1966:263).

#### **4.4.4. Penapisan Saponin**

Simplisia atau ekstrak ditempatkan pada tabung reaksi dan ditambahkan air secukupnya, kemudian dipanaskan di penangas air selama 30 menit dan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dibiarkan sampai dingin, kemudian dikocok kuat- kuat selama 10 detik dengan arah vertikal dan terjadinya busa setinggi kurang lebih 1 cm yang bertahan selama 10 menit menandakan positif saponin dan busa tersebut masih bertahan setelah penambahan beberapa tetes HCl (Fransworth, 1966:258).

#### **4.4.5. Tannin**

Simplisia atau ekstrak sebanyak 1 gram ditempatkan pada tabung reaksi, ditambahkan 100 mL air dan dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit kemudian didinginkan dan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi dua bagian. Bagian pertama ditambahkan larutan gelatin 1% dan adanya endapan putih menandakan positif tanin dan bagian keduanya ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  1%, apabila terbentuk warna biru tua/ hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin (Fransworth, 1966:264).

#### **4.4.6. Kuinon**

Simplisia atau ekstrak ditempatkan pada tabung reaksi, ditambahkan air secukupnya, dipanaskan di atas penangas air kemudian disaring menggunakan kertas

saring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan 20 mL larutan natrium hidroksida 1 N dan apabila timbul warna kuning sampai merah menandakan positif kuinon (Fransworth, 1966:265-266).

#### **4.4.7. Monoterpen dan Sesquiterpen**

Simplisia atau ekstrak digerus dengan eter kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh ditempatkan dalam cawan penguap dan dibiarkan menguap sampai kering, kemudian ditambahkan larutan vanillin 10% dalam asam sulfat pekat dan apabila timbul warna- warna menandakan positif senyawa monoterpen dan sesquiterpen (Fransworth, 1966:132).

#### **4.4.8. Triterpenoid dan Steroid**

Simplisia atau ekstrak digerus dengan eter kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh ditempatkan dalam cawan penguap dan dibiarkan menguap sampai kering, kemudian ditambahkan larutan pereaksi Liebermann-Burchard dan apabila timbul warna merah- ungu menandakan positif triterpenoid, sedangkan apabila timbul warna hijau- biru menandakan positif steroid (Fransworth, 1966:259).

### **4.5. Pemeriksaan Karakterisasi**

#### **4.5.1. Penetapan Kadar Air dengan Metode Azeotroph**

Tabung penampung dan kondensor dibilas dengan air, kemudian dikeringkan didalam oven. Dimasukkan 200 mL toluen yang telah dijenuhkan dengan aquadest, masukkan sejumlah simplisia 20 gram atau ekstrak 20 gram yang diperkirakan

mengandung air 2-3 mL ke dalam labu bundar. Lalu dididihkan perlahan-lahan selama kurang lebih 15 menit (tambahkan serpihan batu didih). Setelah mendidih, suling dengan kecepatan 2 tetes/ detik hingga sebagian besar air tersuling, naikan kecepatan penyulingan menjadi 4 tetes/detik. Setelah semua air tersuling, bilas bagian kondensor dengan toluen. Lanjutkan penyulingan selama 5 menit, kemudian hentikan pemanasan. Dinginkan tabung penerima sampai suhu kamar, hilangkan tetesan air yang menempel pada dinding tabung penerima. Biarkan air dan toluen dalam tabung penerima memisah. Baca volume air dalam tabung penerima. Hitung kadar air dalam % dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{volume air (ml)} \times \text{Bj air (g/ml)}}{25 \text{ gram simplisia}} \times 100\% \quad (1)$$

(DepKes RI, 2000:14)

#### 4.5.2. Penetapan Kadar Abu

Timbang simplisia sebanyak 2 gram yang telah digerus, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, ratakan. Pijarkan perlahan- lahan hingga arang habis, dinginkan timbang hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

$$\text{Kadar abu total (\%)} = \frac{W_{\text{akhir}} - W_{\text{cawan}}}{W_{\text{sampel}}} \times 100\% \quad (2)$$

(DepKes RI, 2000:17)

#### 4.5.3. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia daun keji beling dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL air dan 10 tetes kloroform menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama enam jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam lalu disaring. Sebanyak 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara, kemudian sisanya dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar sari larut dalam air dinyatakan dalam persen (%), dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara. Kadar sari larut air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar sari larut air} = \frac{\text{berat sari larut air (gram)}}{\text{berat bahan awal (gram)}} \times 100\% \quad (3)$$

(DepKes RI, 2000:31)

#### 4.5.4. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia daun keji beling dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol (95%) menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama enam jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam lalu disaring dengan cepat untuk menghindari penguapan etanol. Sebanyak 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara, kemudian sisanya dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar sari larut dalam etanol dinyatakan dalam persen (%) dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara. Kadar sari larut etanol dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar sari larut etanol} = \frac{\text{berat sari larut etanol (gram)}}{\text{berat bahan awal (gram)}} \times 100\% \quad (4)$$

(DepKes RI, 2000:31)

#### 4.6. Ekstraksi

Metoda yang digunakan pada proses ekstraksi ini yaitu menggunakan metode infusa. Simplisia sebanyak 500 gram yang sudah dirajang ditambahkan 2 liter air lalu dipanaskan menggunakan pemanas air selama 15 menit terhitung setelah suhu dalam panci mencapai 90°C, sambil sesekali diaduk. Lalu disaring, Jika volumenya kurang dari dua liter dapat ditambahkan air panas yang dilewatkan pada ampas daun hingga diperoleh 2 liter infusa daun keji beling (*S. crispa*). Kemudian dijadikan serbuk kering dengan menggunakan *freeze dryer* sehingga dapat digunakan dalam pembuatan tablet.

#### 4.7. Optimasi Formulasi Tablet

Rancangan formula tablet ekstrak daun keji beling (*S. crispa*) dibuat dengan metode granulasi kering dan variasi PVP sebagai pengikat dengan konsentrasi 1, 3, 5%. Bobot yang diinginkan adalah 250 mg. Rancangan formula tablet ekstrak daun keji beling (*S. crispa*) dapat dilihat pada **tabel IV.1**.

Tabel IV.1 Optimasi Formula Tablet Ekstrak Air Daun Keji Beling

Fase	Bahan	Formula (%)		
		1	2	3
Fase Dalam (92%)	Ekstrak (mg)	4,54	4,54	4,54
	PVP	1	3	5
	Amprotab	10	10	10
	Avicel PH 101	79,184	77,184	75,184
Fase Luar (8%)	Amprotab	5	5	5
	Talk	2	2	2
	Mg Stearat	1	1	1

#### 4.8. Pembuatan Tablet

Tablet ekstrak air daun keji beling (*S. crispera*) dibuat menggunakan metode granulasi kering. Semua bahan yang akan digunakan ditimbang sesuai kebutuhan untuk membuat tablet sebanyak 300 tablet dengan bobot 250 mg, kemudian dicampurkan ekstrak kering daun keji beling, PVP, amprotab, dan avicel PH 101 sampai homogen (selama 15 menit). Lalu setengah dari formula fasa luar yaitu magnesium stearat dan talk ditambahkan sampai homogen (selama 2 menit). Setelah itu massa dikempa hingga menjadi bongkahan tablet. Granul dibuat dengan menghancurkan bongkahan tersebut menjadi bongkahan dalam bentuk yang lebih kecil sehingga dapat diayak dengan menggunakan ayakan mesh nomer 16. Setelah itu lakukan evaluasi massa granul. Setelah massa granul memenuhi persyaratan evaluasi, kemudian dilakukan pencampuran dari fasa luar. Massa granul ditabletasi dengan menggunakan alat pencetak tablet dan tablet yang dihasilkan kemudian di evaluasi.

## 4.9. Evaluasi Granul

### 4.9.1. Kelembaban (Kadar Air)

Ditimbang 2 gram massa granul yang telah dikeringkan masukan ke dalam alat *Moisture Analyzer* yang telah disiapkan. Dipanaskan massa kempa pada suhu 60-70°C sampai skala pada alat tidak berubah (stabil), kemudian baca kadar air yang tertera pada skala. Kadar air yang baik berkisar pada 1-3%.

### 4.9.2. Penentuan Bobot Jenis

#### 1) BJ Nyata

Timbang 100 gram granul dan masukkan dalam gelas ukur. Catat volumenya.

$$P = \frac{W}{V}$$

(5)

**Keterangan:**

**P** = Bj nyata

**W** = Bobot granul

**V** = Volume granul tanpa pemampatan

#### 2) BJ Mampat

Timbang 100 gram granul dan masukkan ke dalam gelas ukur lalu catat volumenya ( $V_0$ ). Gelas ukur diketuk sebanyak 500 kali. Catat volumenya ( $V_{10}$  dan  $V_{500}$ ).

$$P = \frac{W}{V_{500}}$$

(6)

**Keterangan:****P** = Bj nyata**W** = Bobot granul**V** = Volume granul tanpa pemampatan

## 3) BJ Sejati

Bj sejati merupakan masa granul dibagi volume granul yang tidak termasuk pori granul, dengan menggunakan alat piknometer.

$$\text{BJ Sejati} = \frac{(b-a) \square \text{Bj cairan pendispersi}}{(b+d) - (a+c)} \quad (7)$$

**Keterangan:****a** = bobot piknometer kosong**b** = bobot piknometer + 1g granul**c** = bobot piknometer + 1g granul + cairan pendispersi**d** = bobot piknometer + cairan pendispersi**4.9.3. Kerapatan Mampat**

Ditimbang sebanyak 40 gram massa granul, dimasukan ke dalam gelas ukur 1000 ml dan volume dicatat ( $V_0$ ). Dipasangkan gelas ukur ke dalam alat *density bulk*, lalu alat dijalankan. Setelah 500 ketukan, alat dimatikan. Kerapatan mampat didapatkan dari bobot serbuk dibagi dengan volume konstan setelah pengetukan. Granul memenuhi syarat jika  $K_p < 20\%$ .

$$K_p : \frac{V_0 - V_{500}}{V_0} \times 100\% \quad (8)$$

Keterangan :

**Kp** = kadar pemampatan

$V_0$  = volume granul sebelum pemampatan

$V_{500}$  = volume granul pada 500 kali ketukan

#### 4.9.4. Perbandingan Haussner

Ditimbang sebanyak 40 gram massa granul, dimasukkan ke dalam gelas ukur 1000 ml dan volume dicatat ( $V_0$ ). Dipasangkan gelas ukur ke dalam alat *density bulk*, lalu alat dijalankan. Setelah 500 ketukan, alat dimatikan dan catat volume setelah pemampatan.

$$\text{Angka Haussner} = \frac{Bj \text{ mampat}}{Bj \text{ nyata}} \quad (9)$$

#### 4.9.5. Persen Kompresibilitas

Ditimbang sebanyak 40 gram massa kempa, dimasukkan ke dalam gelas ukur 1000 ml dan volume dicatat ( $V_0$ ). Dipasangkan gelas ukur ke dalam alat *density bulk*, lalu alat dijalankan. Setelah 500 ketukan, alat dimatikan dan catat volume setelah pemampatan.

Penafsiran hasil :

% K= 5-15% (aliran sangat baik)

%K = 16 – 25 % aliran baik

%K = > 26% aliran buruk

$$\%K = \frac{BJ \text{ mampat} - BJ \text{ nyata}}{BJ \text{ mampat}} \times 100\%$$

#### 4.9.6. Kecepatan Alir

##### a. Metode Corong

Metode corong dilakukan dengan cara 100 gram massa kempa dimasukkan ke dalam corong, corong digetarkan sampai seluruh granul mengalir lalu bacawaktu yang diperlukan untuk mengalirkan seluruh granul keluar dari corong. Kecepatan aliran dihitung dengan cara membagi bobot granul dengan waktu yang diperlukan granul untuk melewati corong (g/detik). Aliran granul baik jika waktu yang diperlukan untuk mengalirkan 100 gram granul < 10 detik.

##### b. Metode Sudut Baring

Granul dimasukkan ke dalam corong. Biarkan granul mengalir bebas dari lubang corong/ silinder dan ditampung pada suatu bidang datar hingga timbunan granul tersebut membentuk kerucut. Dari timbunan tersebut diukur sudut istirahat (sudut antara lereng granul dengan bidang datar). Semakin kecil sudut istirahat yang terbentuk maka semakin baik alirannya.

$$\tan \alpha = \frac{D}{H}$$

(10)

#### 4.9.7. Granulometri

Timbang 100 gram granul, letakkan granul pada pengayak paling atas. Getarkan mesin 5-30 menit, tergantung dari ketahanan granul pada getaran. Timbang

granul yang tertahan pada tiap- tiap pengayak. Hitung presentase granul pada tiap- tiap pengayak.

#### **4.10. Evaluasi Tablet**

##### **4.10.1. Penampilan Tablet (Organoleptik)**

Dilakukan dengan secara visual terhadap sediaan yang meliputi bentuk, warna, bau dan rasa.

##### **4.10.2. Keseragaman Ukuran**

Diambil secara acak 20 tablet, lalu diukur diameter tebalnya menggunakan jangka sorong. Diameter tablet tidak lebih dari tiga kali dan tidak kurang dari  $1 \frac{1}{3}$  tebal tablet.

##### **4.10.3. Keseragaman Bobot**

Diambil 20 tablet secara acak, lalu ditimbang masing- masing tablet. Hitung bobot rata- rata dan penyimpangan terhadap bobot rata- rata.

##### **4.10.4. Kekerasan Tablet**

Uji kekerasan dilakukan dengan menggunakan alat *Hardness tester*, yang dilakukan dengan cara, diambil secara acak 20 tablet, kekerasan diukur berdasarkan luas permukaan tablet dengan menggunakan beban yang dinyatakan dalam  $\text{kg/cm}^2$ . Syarat kekerasan tablet besar adalah  $7-10 \text{ kg/cm}^2$  dan tablet kecil adalah  $4 \text{ kg/cm}^2$ .

##### **4.10.5. Friabilitas dan Friksibilitas**

Uji friabilitas dan friksibilitas dilakukan menggunakan alat *friabilator*, yang dilakukan dengan cara diambil 20 tablet (jika bobot tablet  $> 250 \text{ mg}$ ) atau 40 tablet

(jika bobot tablet < 250 mg) secara acak. Dibersihkan satu persatu dengan sikat halus lalu ditimbang. Dimasukan seua tablet kedalam alat, putar alat sebanyak 100 putaran. Kemudian bersihkan kembali tablet dan timbang. Syarat tablet yang memiliki friabilitas baik adalah < 1%.

$$F = \frac{a-b}{a} \times 100\%$$

(11)

Keterangan:

F = friabilitas

A = bobot tablet sebelum diuji

B = bobot tablet setelah diuji

#### 4.10.6. Uji Waktu Hancur

Uji waktu hancur diukur dengan menggunakan alat *disintegration tester*, yang dilakukan dengan cara diisi bejana dengan aquadesh. volume diatur pada kedudukan tertinggi, lempeng kasa tepat pada permukaan larutan dan pada kedudukan terendah mulut tabung tetap diatas permukaan. Suhu pelarut yang digunakan adalah 36-38<sup>0</sup>C. enam tablet dimasukan satu persatu kedalam masing-masing tabung, dinyalakan alat dan atur naik turunnya keranjang 30 kali tiap menit. Tablet hancur jika tidak ada bagian table yang tertinggal diatas kasa, kecuali fragmen bahan pembantu. Waktu hancur dicatat sejak pertama kali alat dinyalakan hingga tidak ada bagian tablet yang tertinggal di atas kasa. Syarat uji waktu hancur yang baik adalah hancurnya ke enam tablet tidak lebih dari 15 menit.