

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental. Penelitian eksperimental merupakan penelitian dua (sering lebih) kondisi atau metode untuk diuji efek-efek dari kondisi tertentu “*treatment*” (variabel bebas). Kedua, variabel bebas langsung dimanipulasi oleh peneliti (Faraenkel, 2006). Hal ini sesuai dengan penelitian yang akan dilakukan oleh peneliti yaitu meneliti tiga perlakuan dengan melakukan formulasi suspensi dari jenis *suspending agent* PGA, PGS dan Tragakan terhadap kemampuan waktu redispersi pada suspensi Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*).

Adapun tahapan penelitian meliputi determinasi tumbuhan Daun Salam (*Eugenia polyantha*), pembuatan simplisia, ekstraksi serbuk Daun Salam *Eugenia polyantha*) menggunakan metode maserasi, formulasi dan pembuatan sediaan suspensi ekstrak Daun Salam dengan konsentrasi 15 %, *suspending agent* PGA 5 %, PGS 1 %, Tragakan 4 %, uji redispersibilitas menggunakan tabung reaksi, analisis data.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh sediaan suspensi dengan bahan aktif Ekstrak Daun Salam dengan perbedaan jenis *suspending agent*, sedangkan sampel dalam penelitian ini adalah suspensi dengan bahan aktif Ekstrak Daun

Salam dengan jumlah volume 540 mL menggunakan teknik random dikarenakan tidak ada spesifikasi khusus yang digunakan saat penelitian.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Proses ekstraksi Daun Salam dengan metode maserasi di Laboratorium Farmakognosi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Sedangkan untuk pembuatan sediaan suspensi Ekstrak Daun Salam dilakukan di Laboratorium Farmasetika Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Pengujian redispersibilitas sediaan suspensi Ekstrak Daun Salam dilakukan di Laboratorium Farmasetika Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

Waktu penelitian dilaksanakan dari proses penyusunan proposal yaitu bulan Desember 2018 sampai dengan Januari 2019. Penelitian utama dilakukan pada bulan Mei sampai terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah suspensi ekstrak Daun Salam, sedangkan variabel terikatnya yaitu uji redispersibilitas sediaan suspensi ekstrak Daun Salam dengan perbedaan jenis *suspending agent* PGA, PGS dan Tragakan.

Table 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas	Hubungan perbedaan jenis <i>suspending agent</i> antara PGA 5 %,			
Pengaruh jenis <i>suspending agent</i> pada Formula yaitu PGA, PGS dan Tragakan	PGS 1% dan Tragakan 4% pada sediaan suspensi ekstrak Daun Salam terhadap waktu redispersibilitas			
Variabel Terikat	Redispersibilitas merupakan kemampuan partikel-partikel atau endapan yang terbentuk dapat bercampur kembali dalam sekali pengojokan pada sediaan suspensi ekstrak Daun Salam karena kemampuan redispersi suspensi dapat menyatakan keseragaman dosis saat penggunaan obat.	Visual, Senter	Suspensi telah terdispersi sempurna dan diberi nilai 100%. Setiap pengulangan redispersi maka menurunkan nilai redispersi sebesar 5%. (Aggraeni, 2013)	Nominal

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi mortir, stemper, *beaker glass*, gelas ukur, sudip, batang pengaduk, timbangan analitik, cawan penguap, tabung reaksi, pipet volume, pipet tetes, *waterbath*, toples tidak tembus cahaya matahari, corong, kertas saring, *water jet ejector*, *rotary evaporato*, corong *buchner*, senter, botol bening 60 mL dan erlemeyer.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, Daun Salam, Etanol 96 %, FeCl₃ 5%, Gelatin 1%, NaCl 2 %, Aquades, PGA, PGS, Tragakan, Gliserin, Sirup Simplek, Natrium Benzoat.

3.6 Pengumpulan Data

3.6.1 Determinasi Sampel

Determinasi Daun Salam dilakukan di Materia Medika Batu

3.6.2 Persiapan Sampel Daun Salam

Daun Salam yang telah dikumpulkan, dibersihkan dari pengotor lain, dicuci sampai bersih, kemudian ditiriskan. Dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa langsung sinar matahari.

3.6.3 Proses Ekstraksi Daun Salam

1. Simplisia Daun Salam sebanyak 750 g disortasi diranjang kecil-kecil, dihaluskan dengan blender.
2. Direndam serbuk Daun Salam dengan perbandingan pelarut Etanol 96 % dan serbuk Daun Salam (75:10).

3. Dimaserasi serbuk Daun Salam selama tiga hari didalam toples coklat yang ditutup rapat dan terlindung dari cahaya matahari, dengan sesekali diaduk.
4. Dilakukan remaserasi dengan perbanding pelarut Etanol 96 % dan residu serbuk Daun Salam (37,5:10)
5. Hasil remaserasi yang diperoleh disaring menggunakan corong *buchner*.
6. Filtrat yang dihasilkan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 78 °C
7. Dilakukan penguapan di *waterbath* hingga membentuk ekstrak kental

3.6.4 Identifikasi Senyawa Tanin

1. Ditimbang 1 g ekstrak Daun Salam
2. Ditambahkan 10 mL air, ditambahkan 1 mL NaCl 2%
3. Dibagi larutan menjadi dua tabung reaksi, satu reaksikan dengan FeCl₃ 5% sebanyak 3 tetes dan satu direaksikan dengan Gelatin 1 %
4. Tanin positif apabila terdapat warna biru atau hitam kehijauan pada reagen FeCl₃ 5% dan terdapat endapan pada reagen Gelatin 1 % (Mukhiriane dkk 2014)

3.6.5 Formula Baku Suspensi

Ekstrak Daun Salam	15,0
<i>Suspending agent</i>	
Gliserin	10,0
Sirup Simplek	20,0
Natrium Benzoat	0,1
Aquades	ad 60 mL

(Ni Made Dharma, 2015)

Tabel 3.2 Formulasi Sediaan Suspensi

Bahan	Formula PGA	Formula PGS	Formula Tragakan
Ekstrak Daun Salam	15 %	15 %	15 %
<i>Suspending agent</i>	5 %	1 %	4 %
<i>Air Suspending agent</i>	4,5 mL	4,2 mL	24 mL
Gliserin	10 %	10 %	10 %
Sirup Simplek	20 %	20 %	20 %
Natrium Benzoat	0,1 %	0,1 %	0,1 %
Aqua ad	60 mL	60 mL	60 mL

3.6.6 Proses Pembuatan Suspensi

Proses Pembuatan Suspensi Ekstrak Daun Salam adalah sebagai berikut:

1. Penyiapan alat dan bahan yang diperlukan
2. Dilakukan Kalibrasi botol 60 mL
3. Ditimbang *suspending agent* PGA sebanyak 3 g, PGS sebanyak 0,6 g dan Tragakan sebanyak 2,4 g
4. Ditimbang Ekstrak Daun Salam untuk masing-masing formula sebanyak 9 g
5. Ditimbang Gliserin untuk masing-masing formula sebanyak 6 g
6. Ditimbang Sirup Simplek untuk masing-masing formula sebanyak 12 g
7. Ditimbang Natrium Benzoat untuk masing-masing formula sebanyak 0,06 g
8. Diukur Aqua 29,94 mL (untuk air PGA 4,5 mL), 32,34 mL (untuk air PGS 4,25 mL) dan 29,34 mL (untuk air Tragakan 24 mL).
9. Dibuat Mucilago pada masing-masing formula pada mortir gerus ad homogen

10. Ditambahkan ekstrak Daun Salam pada masing-masing mucilago, gerus ad homogen.
11. Ditambahkan Gliserin pada masing-masing campuran mucilago dan ekstrak Daun Salam, gerus ad homogen.
12. Ditambahkan Sirup Simplek pada masing-masing campuran mucilago, ekstrak Daun Salam dan gliserin, gerus ad homogen.
13. Ditambahkan Aqua pada masing-masing formula ad kan 60 mL, gerus ad homogen.
14. Dilakukan tiga replikasi pada masing-masing formula.
15. Dimasukan ke dalam wadah botol 60 mL.

3.6.7 Uji Redispersibilitas

1. Pengujian redispersibilitas dilakukan dengan dimasukan sampel suspensi ekstrak Daun Salam pada wadah hingga terjadi endapan.
2. Dilakukan pengojokan secara manual dan hati-hati, tabung reaksi diputar 180° dan dibalikkan ke posisi semula. Formulasi yang di uji ditentukan berdasarkan jumlah putaran yang diperlukan untuk mendispersikan kembali endapan partikel-partikel agar kembali tersuspensi.
3. Dilakukan replikasi sebanyak tiga kali.

3.7 Analisa Data

Analisa data dalam penelitian ini yaitu data yang diperoleh selama melakukan penelitian dikelompokkan berdasarkan variabel jenis *suspending agent* PGA, PGS dan Tragakan yang berpengaruh terhadap waktu redispersibilitas sediaan suspensi ekstrak Daun Salam. Analisa data uji redispersibilitas dilakukan oleh peneliti yaitu

menggunakan *Kruskall Wallis Test* dengan memasukan seluruh hasil data yang peneliti peroleh. *Kruskall Wallis Test* merupakan uji non parametris dimana asumsi normalitas boleh dilanggar. Sedangkan persyaratan data kemampuan redispersi baik bila suspensi telah terdispersi sempurna yang diberi nilai 100%. Setiap pengulangan uji redispersi pada sampel yang sama, maka akan menurunkan nilai redispersi sebesar 5% (Anggraeni, 2013).