

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Metodologi Penelitian**

Penelitian yang berjudul “Pengaruh *croscarmellose sodium* terhadap sifat fisik *Fast Disintegrating Tablet* dan aktivitas antibakteri *Escherichia coli* pada vitamin C” menggunakan rancangan penelitian eksperimental.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **1. Tempat**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Universitas Muhammadiyah Purwokerto dan Laboratorium Universitas Al-Irsyad Cilacap yaitu, Laboratorium Teknologi Sediaan Farnasi UMP untuk proses pembuatan sediaan *fast disintegrating tablet* Vitamin C dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Al-Irsyad untuk proses pengujian antibakteri *fast disintegrating tablet* Vitamin C.

##### **2. Waktu**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2022 sampai dengan bulan Juni 2022.

Tabel 3. 1 Jadwal Kegiatan Penelitian

No	Tahapan	Keterangan	Bulan ke-					
			1	2	3	4	5	6
1	Tahap Awal	Pembuatan Proposal Presentasi Proposal	■	■				
2	Tahap Pelaksanaan Penelitian	Pengumpulan Bahan Formulasi dan Pembuatan <i>fast disintegrating tablet</i> vitamin C Uji Sifat fisik sebuk, uji sifat fisik tablet dan uji aktivitas antibakteri		■	■			
3	Tahap Akhir	Analisa Data Presentasi Hasil Penelitian Penyusunan Manuskripsi Publikasi				■	■	■

### C. Alat dan Bahan

#### 1) Alat

*Flow tester*, mesin pencetak tablet (Korsch Jerman), *Friability Tester* (Erweka), *Mosanto Hardness Tester* (Stokes mosanto), Stopwatch, alat disolusi (LID-6D Dissolution tester), Timbangan Analitik (Shimadzu), Elite 8, kuas, gelas ukur, autoclave, Cawan petri, jarum ose, pipet, inkubator, kompor listrik.

#### 2) Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin C, *croscarmellose sodium*, manitol, *microcrystalline cellulose*, magnesium stearat, aerosil, aquadest, *Escherichia coli*, *nutrient agar*, BAP.

## D. Prosedur Penelitian

### 1. Penentuan formulasi *fast disintegrating tablet* Vitamin C

Pada penelitian ini akan dibuat 3 formula dengan konsentrasi *croscarmellose sodium* yang berbeda berdasarkan acuan formulasi dari penelitian (Kuncoro, B., & Zaky, 2015) menghasilkan *fast disintegrating tablet* yang memiliki waktu hancur yang baik.

Tabel 3. 2 Acuan Formulasi dari Kuncoro, B., & Zaky, 2015

Komposisi	1 tablet (mg)		
	F1	F2	F3
Amlodipin	13,9	13,9	13,9
<i>Sodium starch glycolate</i>	6	9	12
Manitol	40,6	40,6	40,6
<i>Microcrystalline Cellulose</i>	86,6	83,6	80,6
Magnesium stearate	1,5	1,5	1,5
Aerosil	1,5	1,5	1,5
<b>Total</b>	<b>150</b>	<b>150</b>	<b>150</b>

Tabel 3. 3 Formula *fast disintegrating tablet* Vitamin C

Komposisi	1 tablet (mg)		
	F1	F2	F3
Vitamin C	13,9	13,9	13,9
<i>Croscarmellose sodium</i>	6	9	12
Manitol	40,6	40,6	40,6
<i>Microcrystalline Cellulose</i>	86,6	83,6	80,6
Magnesium stearate	1,5	1,5	1,5
Aerosil	1,5	1,5	1,5
<b>Total</b>	<b>150</b>	<b>150</b>	<b>150</b>

### 2. Pembuatan *fast disintegrating tablet* Vitamin C

Pembuatan tablet *fast disintegrating* vitamin C menggunakan metode kempa langsung. Mula-mula penimbangan semua bahan yang dibutuhkan. Kemudian mencampurkan zat aktif vitamin C dengan

manitol, *croscarmellose sodium*, *microcrystalline cellulose* magnesium stearat, dan aerosil. Massa yang didapat kemudian di kempa langsung menggunakan mesin pencetak tablet dengan ukuran punch nomor 8 sehingga didapat tablet seberat 150 mg. Setelah tablet tersebut dicetak, lakukan uji sifat fisik tablet yang meliputi keseragaman bobot, kekerasan, kerapuhan, waktu disintegrasi, uji disolusi dan penetapan kadar (Rosita, 2018).

### **3. Uji sifat fisik serbuk**

#### **a. Laju alir**

Disiapkan serbuk sebanyak 100 gram dan ditimbang kemudian serbuk dituang perlahan kedalam corong yang bagian bawahnya tertutup melalui dinding corong. Selanjutnya tutup corong dibuka perlahan dan biarkan serbuk mengalir keluar kemudian dicatat waktu yang diperlukan (detik) menggunakan *stopwatch* (Fudholli *et al.*, n.d.).

#### **b. Sudut diam**

Serbuk ditimbang sebanyak 100 mg kemudian di masukkan kedalam corong melalui dinding corong secara perlahan. Penutup corong dibuka dan serbuk mengalir hingga membentuk kerucut lalu diukur tinggi kerucut dan jari-jari kerucut kemudian sudut diam serbuk dihitung (Baker *et al.*, 2012).

#### 4. Uji sifat fisik tablet

##### a. Keseragaman bobot

Sebanyak 20 tablet ditimbang dan dihitung bobot rata-ratanya, kemudian ditimbang satu persatu. Persyaratannya adalah tidak lebih dari dua tablet menyimpang lebih besar dari kolom A dan tidak satu tablet pun yang menyimpang lebih besar dari kolom B (Departemen Kesehatan RI, 1979).

##### b. Uji kekerasan

Alat pengujian kekerasan tablet yang digunakan adalah mosanto hardness tester. Tablet diletakkan pada ujung alat dengan posisi vertikal. Kemudian skrup diputar pada ujung lain sehingga tablet tertekan. Pemutaran dihentikan setelah tablet pecah. Tekanan tablet dibaca pada skala. Percobaan dilakukan sebanyak 6x dan dihitung harga putarannya. Kekerasan tablet FDT (*fast disintegrating tablet*) yang baik adalah yang berada pada rentang 3-5 kg/cm<sup>2</sup> (Saxena et al., 2021).

##### c. Uji kerapuhan

Awalnya 20 tablet dibersihkan dari debu dan ditimbang (a) lalu masukkan 20 tablet tersebut ke dalam fribilator dan jalankan dengan kecepatan 25 rpm selama 4 menit (100 kali putaran). Kemudian keluarkan tablet, bersihkan dari debu dan ditimbang kembali (b). Hitung selisih berat sebelum dan sesudah perlakuan (Departemen

Kesehatan RI, 1995). U.S Pharmacopeia (2007), mempersyaratkan bahwa kerapuhan tablet yang dapat diterima adalah apabila kerapuhan kurang dari 1%.

Hitung presentase kerapuhan dengan rumus :

$$\% \text{ kerapuhan} = a - b \times 100\%$$

**d. Uji waktu disintegrasi**

Uji waktu hancur FDT vitamin C dilakukan dengan cara memasukkan 1 tablet pada masing-masing tabung dari keranjang. Media yang digunakan yaitu air bersuhu  $37^{\circ} \pm 2^{\circ}$  sebanyak 900 mL. Selanjutnya, keranjang diangkat kemudian diamati tablet dan tablet harus hancur semua.

**e. Uji disolusi**

Uji disolusi FDT vitamin C dilakukan dengan cara memasukkan sejumlah volume media disolusi, yaitu 900 ml aquades ke dalam wadah. Pasang alat, biarkan media disolusi hingga suhu  $(37 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ . Masukkan 1 tablet ke dalam masing-masing wadah dan segera jalankan alat pada aju kecepatan sebesar 50 rpm. Pada menit ke 45, ambil cuplikan pada daerah pertengahan antara permukaan media disolusi dan bagian atas dari keranjang berputar atau daun dari alat dayung, tidak kurang 1 cm dari dinding wadah. Buat koreksi seperlunya. Faktor koreksi lebih besar 25% dari kadar pada etiket tidak dapat diterima (Departemen Kesehatan RI, 1995).

## 5. Preparasi uji aktivitas antibakteri

### a. Sterilisai Alat

Menyiapkan alat steril dengan mencuci alat yang akan digunakan kemudian disterilisasi didalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm (Narulita, 2017).

### b. Pembuatan Media *Nutrient Agar*

Sebanyak 8 gram nutrient agar disuspensikan dalam 400 ml aquadest steril, kemudiann dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan dipanaskan menggunakan *hotplate* selama  $\pm$  10 menit hingga larut. Melakukan sterilisasi media nutrient agar menggunakan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm. Media nutrient agar yang sudah steril dituang kedalam cawan petri yang sudah disterilisasikan dan dibiarkan memadat (Narulita, 2017).

### c. Pembuatan Standar Mc. Farland

Pembuatan standar Mc. Farland 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  CFU/ml) yaitu H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% sebanyak 9,95 mL dicampur BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 1,175% sebanyak 0,05 mL dalam tabung reaksi, kemudian di homogenkan menggunakan alat vortex sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini digunakan sebagai standard kekeruhan.

**d. Pembuatan Suspensi Bakteri *Escherichia coli***

Pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli*, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan kawat ose mata yang berisi NaCl 0,9%, kemudian di homogenkan dan dibandingkan dengan kekeruhan larutan standard Mc. Farland 0,5 (Sutton, 2011).

**e. Uji Aktivitas antibakteri**

Aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan beberapa kelompok, diantaranya :

- 1) Vitamin C murni (5, 10, dan 20 mg/mL)
- 2) Vitamin C dalam bentuk FDT (5, 10, dan 20 mg/mL)
- 3) Kontrol basis sediaan FDT (F0)
- 4) Kontrol Positif (Eritromisin)
- 5) Kontrol Negatif (Aquadest)

dievaluasi menggunakan metode difusi sumuran dengan pengujian terhadap bakteri gram-negatif *Escherichia coli*. Dibuat media *nutrient agar* steril dan didiamkan selama 10-15 menit sampai memadat. Kemudian organisme *Escherichia coli* ditambahkan ke atas permukaan cawan petri sebanyak 1000  $\mu$ L dan disebar ke seluruh cawan petri menggunakan *spreader*, kemudian diratakan isolate supaya tersuspensi secara merata pada permukaan media *nutrient agar*. Lalu cawan petri didiamkan selama 10-15 menit, tujuannya supaya suspensi bakteri meresap. Selanjutnya media agar

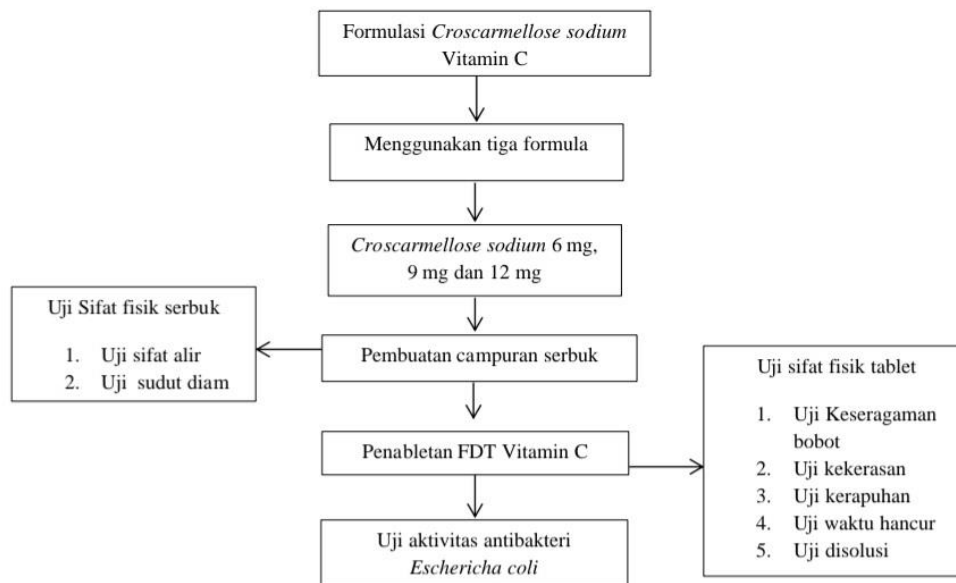


pada cawan petri dibuat sumur (*well*) dengan menggunakan pelubang, kemudian larutan uji dari masing-masing sampel ditambahkan melalui mikropipet sebanyak 100  $\mu$ L kedalam sumuran serta diberi tanda sampel untuk mempermudah proses pengerjaan agar tidak tertukar satu sama lain. Setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, amati zona hambat di sekitar sampel, dihitung dengan skala lurus dalam milimeter (mm). Untuk mendukung data yang diperoleh ini, foto zona hambat diambil dari basis sediaan FDT diuji untuk memeriksa efek antibakteri terhadap patogen Gram-negatif.

**f. Sampel**

Sampel sejumlah 9 buah cawan petri yang akan dijadikan media pembuatan bakteri *Escherichia coli* berdasarkan standar McFarland 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  CFU/ ml) pada setiap cawan petri.

## E. Skema Penelitian



**Gambar 3. 1** Skema Penelitian

## F. Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan cara mencari literatur yang berhubungan dengan penelitian untuk dipahami dan dijadikan sumber acuan penelitian dan mencatat pelaksanaan penelitian dengan *logbook*.

## G. Analisis Data

Analisis data yang dilakukan pada penelitian *Fast Disintegrating Tablet* vitamin C menggunakan pengolahan SPSS, pada uji sifat fisik tablet dan uji aktivitas antibakteri menggunakan *One Way Anova*, dilanjut dengan uji *post hoc tukey* HSD sedangkan pada uji aktivitas antibakteri vitamin C murni menggunakan *One Way Anova* dilanjut dengan uji *post hoc* LSD.