

BAB III  
METODOLOGI PENELITIAN

Metoda yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap Pola Faktorial 9 X 7. Untuk mengetahui pengaruh 2 faktor :

Faktor A = Kondisi penyimpanan

Faktor B = Lama (Waktu) penyimpanan  
dengan ulangan 3 kali.

Data yang dicatat adalah penurunan kandungan tetrasiklin hidroklorida sebagai bahan aktif dari kapsul tetrasiklin hidroklorida.

**3.1. Alat dan Bahan yang Digunakan :**

**3.1.1. Alat yang digunakan :**

1. Seperangkat Spektrofotometer UV-Vis S1000PC Secomam
2. Pipet 1,0; 2,0; dan 5,0 ml
3. Labu takar 100 ml
4. Labu takar 10 ml
5. Labu takar 25 ml
6. Termometer
7. Neraca Mettler AT 250
8. Botol timbang
9. Labu semprot
10. Oven Fisher Scientific Isotemp<sup>®</sup> Oven Model 630F

11. pH-meter Orion Model 420A
12. Polarimeter Steeg & Reuter Prazisionsoptik GMBH  
630061EBEN

### 3.1.2. Bahan yang digunakan :

1. Zat baku tetrasiklin hidroklorida
2. Larutan natrium hidroksida 5N
3. Akuabides
4. Asam sulfat pekat pa.
5. Larutan induk tetrasiklin hidroklorida 100 ppm
6. Larutan standar tetrasiklin hidroklorida : 0; 5;  
10 dan 15 ppm
7. Asam klorida 0,01N
8. Sampel :
  - kapsul tetrasiklin hidroklorida yang masih memenuhi syarat sebagai sediaan tetrasiklin hidroklorida
  - kapsul tetrasiklin hidroklorida kadaluarsa 6 bulan

### 3.2. Preparasi Reagen

#### 3.2.1. Larutan induk tetrasiklin hidroklorida 100 ppm

- Ditimbang 10 mg zat baku tetrasiklin hidroklorida.
- Dilarutkan ke dalam labu takar 100 ml dengan 20 ml akuabides.
- Diencerkan dengan akuabides sampai tanda tera.

3.2.2. Larutan standar tetrasiklin hidroklorida : 0; 5; 10 dan 15 ppm

- 0; 0,5; 1,0 dan 1,5 ml larutan induk tetrasiklin hidroklorida 100 ppm masing-masing dipipet ke dalam labu takar 10 ml.
- Ditambahkan 7 ml akuabides.
- Ditambahkan 0,5 ml natrium hidroksida 5N.
- Diencerkan dengan akuabides sampai tanda tera lalu dikocok.
- Didiamkan 6 menit.

### 3.3. Preparasi Sampel

3.3.1. Sampel sebelum perlakuan

Digunakan sampel kapsul tetrasiklin hidroklorida yang masih memenuhi syarat sebagai sediaan tetrasiklin hidroklorida.

3.3.2. Sampel rusak

Digunakan sampel kapsul tetrasiklin hidroklorida yang telah tidak memenuhi syarat sebagai sediaan tetrasiklin hidroklorida (kadaluarsa).

3.3.3. Sampel setelah perlakuan

1. Kondisi penyimpanan

1.1. standar, kapsul dengan kemasan, botol coklat tertutup di lemari pendingin (S).

1.2. kapsul dengan kemasan, botol coklat tertutup

di dalam ruangan (DRC).

- 1.3. kapsul dengan kemasan, botol bening, di dalam ruangan (DRB).
- 1.4. kapsul tanpa kemasan, botol coklat tertutup di dalam ruangan (TRC).
- 1.5. kapsul tanpa kemasan, botol bening di dalam ruangan (TRB).
- 1.6. kapsul dengan kemasan, botol coklat tertutup, di ruangan terbuka (DC).
- 1.7. kapsul dengan kemasan, botol bening, di ruangan terbuka (DB).
- 1.8. kapsul tanpa kemasan, botol coklat tertutup, di ruangan terbuka (TC).
- 1.9. kapsul tanpa kemasan, botol bening, di ruangan terbuka (TB).

## 2. Lama penyimpanan

- 2.1. 0 hari
- 2.2. 3 hari
- 2.3. 7 hari
- 2.4. 10 hari
- 2.5. 14 hari
- 2.6. 21 hari
- 2.7. 28 hari

- Disimpan kapsul tetrasiklin hidroklorida pada kondisi dan lama penyimpanan tertentu.
- Temperatur dicatat.

### 3.4. Cara Kerja

#### 3.4.1. Analisis zat baku tetrasiklin hidroklorida

##### 1. Identifikasi

- Sekitar 0,5 mg zat baku tetrasiklin hidroklorida ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat.
- Diamati warnanya (warna I).
- Ditambahkan 1 ml akuabides.
- Diamati warnanya (warna II).
- Dilakukan ulangan tiga kali.

##### 2. Susut pengeringan

- Ditimbang sekitar 1 gram zat baku tetrasiklin hidroklorida.
- Dikeringkan di dalam oven pada suhu 60°C selama 3 jam.
- Didinginkan di eksikator kemudian ditimbang.

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \%$$

A = bobot sebelum dikeringkan

B = bobot setelah dikeringkan

##### 3. Rotasi jenis larutan 1,0% b/v dalam asam klorida 0,01N

- Ditimbang 250 mg zat baku tetrasiklin hidroklorida yang telah dikeringkan.
- Dilarutkan dalam labu takar 25 ml dengan asam

klorida 0,01N.

- Diperiksa rotasi optik dengan polarimeter.
- Dihitung rotasi jenisnya.
- Dilakukan ulangan tiga kali.

#### 4. pH larutan 1,0 % b/v

- Ditimbang 250 mg zat baku tetrasiklin hidroklorida.
- Dilarutkan ke dalam labu takar 25 ml dengan akuabides.
- Diperiksa pH-nya dengan pH-meter.
- Dilakukan ulangan tiga kali.

#### 5. Pembuatan kurva baku tetrasiklin hidroklorida

- Diperiksa absorbansi deretan larutan standar tetrasiklin hidroklorida dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimal.
- Dibuat kurva baku.

### 3.4.2. Analisis sampel kapsul tetrasiklin hidroklorida

#### 1. Sampel sebelum perlakuan

##### 1.a. Identifikasi

- Ditimbang 10 mg isi kapsul tetrasiklin hidroklorida.
- Ditambahkan 20 ml etanol 95% hangat.

- Dibiarkan selama 20 menit.
- Disaring, diuapkan filtrat di atas penangas air hingga kering.
- Filtrat hasil penguapan ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat.
- Diamati warnanya (warna I).
- Ditambahkan 1 ml akuabides.
- Diamati warnanya (warna II).
- Dilakukan ulangan tiga kali.

1.b. Susut pengeringan

- Ditimbang sekitar 1 gram isi kapsul tetrasiklin hidroklorida.
- Dikeringkan di dalam oven pada suhu 60°C selama 3 jam.
- Didinginkan di eksikator kemudian ditimbang.

$$\text{Susut pengeringan ( \% )} = \frac{A - B}{A} \times 100 \%$$

A = bobot sebelum dikeringkan

B = bobot setelah dikeringkan

1.c. Bobot kapsul + isi

- Ditimbang kapsul tetrasiklin hidroklorida satu persatu sebanyak 20 kapsul.
- Dirata-ratakan bobotnya.

1.d. Bobot isi kapsul

- Ditimbang isi kapsul tetrasiklin hidroklorida satu persatu sebanyak 20

kapsul.

- Dirata-ratakan bobotnya.

1.e. Kandungan bahan aktif tetrasiklin hidroklorida

Analisis kandungan bahan aktif :

- Ditimbang 10 mg sampel ke dalam labu takar 100 ml.
- Dilarutkan dengan 20 ml akuabides.
- Diencerkan dengan akuabides sampai tanda tera.
- Dipipet 1,0 ml ke dalam labu takar 10 ml.
- Ditambahkan 7 ml akuabides dan 0,5 ml natrium hidroksida 5N.
- Diencerkan dengan akuabides sampai tanda tera kemudian dikocok.
- Didiamkan 6 menit.
- Diperiksa absorbansi dan konsentrasinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimal.

2. Sampel kadaluarsa

- Kandungan bahan aktif tetrasiklin hidroklorida  
Cara kerja sama dengan 1.e.

3. Sampel setelah perlakuan

- Kandungan bahan aktif tetrasiklin hidroklorida  
Cara kerja sama dengan 1.e.



### 3.5. Analisis Data

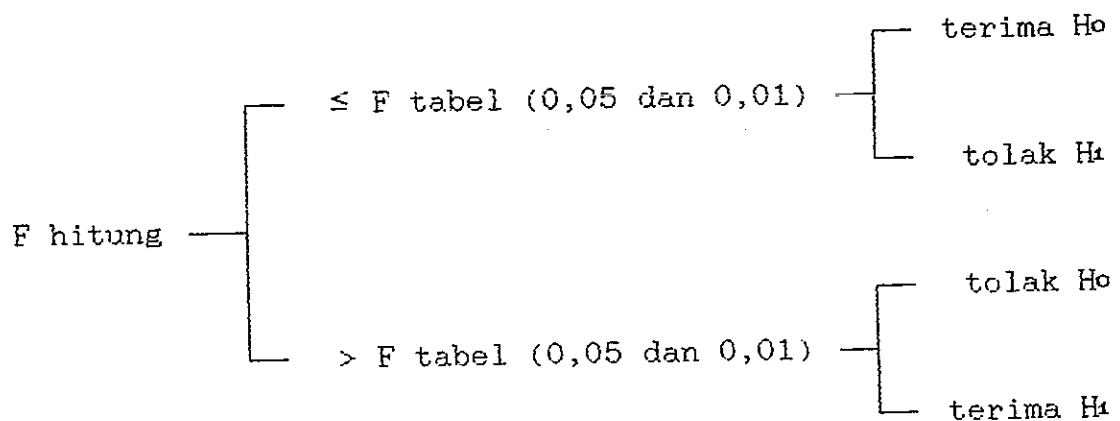
Hipotesa yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

$H_0$  : Tidak terdapat perbedaan kandungan bahan aktif tetrasiklin hidroklorida pada berbagai kondisi penyimpanan dengan berbagai lama (waktu) penyimpanan. Tidak ada interaksi antara perlakuan kondisi penyimpanan dengan lama (waktu) penyimpanan.

$H_1$  : Terdapat perbedaan kandungan bahan aktif tetrasiklin hidroklorida pada berbagai kondisi penyimpanan dengan berbagai lama (waktu) penyimpanan. Ada interaksi antara perlakuan kondisi penyimpanan dengan lama (waktu) penyimpanan.

Dilakukan uji F untuk mengetahui ada tidaknya hubungan antara perlakuan dengan kandungan bahan aktif tetrasiklin hidroklorida.

Setelah dilakukan uji F terhadap data kandungan bahan aktif tetrasiklin hidroklorida, maka pengambilan keputusan mengikuti kaidah sebagai berikut :



Untuk mengetahui interaksi antara perlakuan kondisi penyimpanan dengan lama (waktu) penyimpanan mana yang menunjukkan perbedaan, digunakan Uji Wilayah Duncan.

