

ARTIKEL

UJI STABILITAS FISIK, KIMIA DAN MIKROBIOLOGI TABLET KUNYAH EKSTRAK ETANOL SPIRULINA (*Spirulina platensis*)

PHYSICAL, CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL STABILITY TESTING OF *Spirulina platensis* ETANOL EXTRACT CHEWABLE TABLET

Siti Fatmawati Fatimah^{1*}, Nur Fitri¹, Tedjo Yuwono¹, Citra Ariani Edityaningrum¹, Laela Hayu Nurani²

1Departemen Farmasetika dan Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan

2Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan

ABSTRACT

The high content of β -carotene in *Spirulina platensis* can overcome vitamin A deficiency, so it is innovated as a chewable tablet. The study aimed to determine the effect of tablet storage duration on stability test parameters, the number of microbial contaminants, shelf life determination, and $t_{1/2}$ β -carotene content. *Spirulina platensis* was macerated with 96% ethanol. Chewable tablets were prepared by direct compress and tested for organoleptic, hardness, moisture content, total plate count, mold and yeast count, and *E.coli* qualitative test on days 0, 20, and 40. Tablets were stored at various temperatures, RH 75% for 28 days. The β -carotene content in the tablets was analyzed by KLT densitometry λ 453 nm, stationary phase silica gel 60 F₂₅₄, and mobile phase acetone: ethyl acetate (1:1). Colony count method using Standard Plate Count (SPC). The hardness and total plate count test results on days 0, 20, and 40 tablets showed significant differences ($p < 0.05$). The water content and mold and yeast count, test results showed insignificant differences ($p > 0.05$) and were negative for *E.coli*. The chemical stability test results obtained the content of β -carotene in tablets 2.414 mg/tablet. The degradation of β -carotene follows zero-order kinetics with the rate constant (K) values, shelf life, and $t_{1/2}$ at 25°C of 0.019 mg/day, 12 days, and 64 days, respectively, while at 5°C it has a shelf life of 4 months. The study concludes that the length of storage has a significant effect on hardness and ALT but has no significant effect on moisture content and AKK.

Keywords: β -carotene, chewable tablet, *Spirulina platensis*, stability

ABSTRAK

Tingginya kandungan β -karoten di *Spirulina platensis* dapat mengatasi defisiensi vitamin A sehingga diinovasikan sebagai tablet kunyah. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh lama penyimpanan tablet terhadap parameter uji stabilitas, jumlah cemaran mikroba, penentuan shelf life dan $t_{1/2}$ kandungan β -karoten. *Spirulina platensis* dimaserasi dengan etanol 96%. Tablet kunyah dibuat dengan kempa langsung dan diuji organoleptis, kekerasan, kadar air, Angka Lempeng Total (ALT), Angka Kapang Khamir (AKK) dan uji kualitatif *E.coli* hari ke 0, 20, dan 40. Tablet disimpan diberbagai suhu, RH 75% selama 28 hari. Kandungan β -karoten dalam tablet dianalisis dengan KLT densitometri λ 453 nm, fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak aseton : etil asetat (1:1). Metode perhitungan koloni menggunakan Standard Plate Count (SPC). Hasil uji kekerasan dan ALT tablet hari ke 0, 20, 40 menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Hasil uji kadar air dan AKK menunjukkan perbedaan tidak signifikan ($p > 0,05$) serta negatif terhadap *E.coli*. Hasil uji stabilitas kimia diperoleh kandungan β -karoten dalam tablet 2,414 mg/tablet. Degradasi β -karoten mengikuti kinetika orde ke-0 dengan nilai konstanta kecepatan (K), *shelf life*, dan $t_{1/2}$ pada suhu 25°C sebesar berturut-turut 0,019 mg/hari, 12 hari, dan 64 hari, sedangkan pada suhu 5°C mempunyai shelf life 4 bulan. Kesimpulan penelitian adalah lama penyimpanan berpengaruh signifikan terhadap kekerasan dan ALT, namun berpengaruh tidak signifikan terhadap kadar air dan AKK.

Kata kunci: β -Karoten, Tablet Kunyah, *Spirulina platensis*, Stabilitas

PENDAHULUAN

Spirulina platensis dapat mengatasi defisiensi vitamin A karena banyak mengandung β -karoten yang merupakan provitamin A. Defisiensi vitamin A dapat menyebabkan daya tahan tubuh berkurang, gangguan penglihatan, gangguan pertumbuhan serta dapat menyebabkan kematian. Di dalam *Spirulina* terkandung β -karoten sekitar 80% (Sugiharto and Ayustaningwarno, 2014) sehingga dapat digunakan untuk menambah asupan vitamin A terutama anak-anak yang sangat memerlukan pemeliharaan kesehatan mata sejak dini dan juga menambah asupan untuk ibu hamil.

Dalam upaya peningkatan konsumsi vitamin A, produk β -karoten dalam ekstrak *Spirulina* dibuat dengan rasa enak dan tidak meninggalkan rasa pahit, sehingga produk β -karoten tersebut tidak hanya disukai anak-anak namun akan disukai oleh berbagai umur. Bentuk sediaan yang dipilih untuk produk β -karoten tersebut adalah tablet kunyah yang memiliki kelebihan membantu orang tua dan anak-anak yang mengalami kesulitan dalam menelan obat. Tablet kunyah merupakan bentuk sediaan praktis yang diformulasikan untuk pecah secara perlahan-lahan.

Untuk menjamin kualitas produk, tablet kunyah *Spirulina* perlu dilakukannya uji stabilitas. Uji stabilitas bertujuan untuk melihat mutu dan keamanan tablet kunyah *Spirulina* selama waktu penyimpanannya serta untuk menentukan waktu kadaluwarsa yang berhubungan dengan penurunan sampai dengan hilangnya khasiat obat. Hasil dari uji stabilitas merupakan syarat untuk mendapatkan izin edar sehingga produk yang telah dibuat dapat dipasarkan dan bermanfaat untuk masyarakat yang mengalami masalah defisiensi vitamin A.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain maserator (*IKA*), *rotary evaporator* (*Heildolp*), corong buchner, *vacum pump* (*Tw-0,5A*), *waterbath* (*Memmert*), mesin tablet *single punch* (*Korsch*), alat uji kekerasan tablet (*hardness tester*), *Halogen Moisture Analyzer* (*HB43 Mettler Teldo*), timbangan digital AND GR 202, *climatic chamber*, *glassware* (*iwaki pyrex*), *porcelain ware*, *aluminium foil*, wadah botol berkaca gelap (*Amper 50 mL*), labu takar (*Pyrex Iwaki*), Densitometer Scanner 4 (*Cammag*), cawan petri, pipet ukur, tabung rekasi (*iwaki pyrex*), beaker glass (*iwaki pyrex*), rak tabung reaksi, mikropipet (*Socorex*), *yellow tip* (*gilson*), *blue tip* (*gilson*), inkubator (*BINDER*) dengan suhu 37°C, autoklaf (*SHENAN*), *BSC* (*Biological Safety Cabinet*) Class II (*Model Guardian MSC T1200*).

Bahan yang digunakan etanol 96%, *Spirulina platensis* (diperoleh dari Musthofa Herbal), ludipress, aerosil 200, PEG 6000, dan sakarin diperoleh dari Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, etil asetat (p.a), aseton, standar β -karoten yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Analisis Farmasi UAD, NaCl 0,9% b/v, kloramfenikol 1%, media PCA (*Plate Count Agar*), media PDA (*Potato Dextrosa Agar*) diperoleh di Laboratorium Terpadu Biomedik dan media TBX (*Oxoid*).

Identifikasi Serbuk *Spirulina platensis*

Identifikasi serbuk *Spirulina* (*Spirulina platensis*) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Hasil identifikasi makroskopis dan mikroskopis sampel dibandingkan dengan penelitian Lupatini dkk (2017)

Pembuatan ekstrak etanol 96% *Spirulina platensis*

Metode yang digunakan yaitu maserasi. Sampel sebanyak 1405 gram direndam dalam 5 liter etanol 96%. Campuran diaduk dengan maserator selama 2 jam kemudian didiamkan 24 jam pada suhu kamar dalam wadah tertutup rapat atau ditutupi dengan alumunium. Proses maserasi dilakukan 3 kali. Hasil perendaman disaring menggunakan corong buchner yang dilapisi kertas saring Whatman nomor 41. Serbuk diremaserasi tiga kali dan ketiga filtrat digabungkan, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak yang diperoleh didiamkan dalam cawan porselen yang telah ditimbang dan diletakkan di atas *waterbath* selama 12 jam atau hingga diperoleh ekstrak kental. Cawan porselin ditutup menggunakan alumunium foil yang dilubangi. Ekstrak etanol yang diperoleh dikeringkan dengan aerosil 200 perbandingan ekstrak: aerosil 1:1,6 (Fatimah *et al.*, 2021), ditimbang dan disimpan (Rumengan and Mantiri, 2015; Erlila, 2017). Rumus rendemen dapat dilihat pada persamaan 1.

$$\% \text{rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia awal}} \times 100\% \dots (1)$$

Pembuatan Tablet Kunyah Spirulina

Pembuatan tablet kunyah Spirulina pada penelitian ini dilakukan berdasarkan hasil optimasi bahan pelicin aerosil 200 dan PEG 6000 tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina dengan mengacu pada *Generic Drug Formulations* dengan formula yang telah dikembangkan oleh BSF *Technology* (Buhler, 2001) pada tabel I. Proses pencampuran seluruh formula selama 25 menit kemudian campuran diayak dengan ayakan berukuran 0.8 mm. Massa tablet dicetak dengan

tekanan medium berdasarkan hasil uji kompaktibilitas.

Tabel I. Formula Tabel Kunyah Spirulina (mg/tablet)

Bahan	Bobot
Ekstrak kering spirulina*	250 mg
Ludipress	245 mg
<i>Polyethylene glycol</i> 6000	5 mg
Sakarin	1 mg
Aerosil 200	25 mg

Keterangan: *) ekstrak kental *Spirulina platensis* yang telah dikeringkan dengan aerosil 200

Uji stabilitas tablet kunyah ekstrak etanol spirulina

Tablet kunyah ekstrak Spirulina diuji stabilitasnya dengan cara disimpan selama 40 hari (Resti and Ilza, 2016) pada suhu penyimpanan 25°C-30°C atau disimpan dalam desikator dengan mengontrol kelembaban pada RH 75% dengan larutan NaCl jenuh. Parameter uji stabilitas yang diamati meliputi organoleptis, uji kekerasan tablet, uji kadar air dan kandungan β -Karoten dalam Tablet Kunyah Spirulina. Pengujian dilakukan pada hari ke 0, 20, dan 40.

Uji organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan dengan mengamati warna, bau, bentuk dan rasa. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali

Uji kekerasan

Sebanyak 10 tablet diambil secara acak, ditentukan kekerasannya dengan alat pengukur kekerasan tablet. Syarat standar kekerasan tablet kunyah (4-12 kPa) (FDA, 2018).

Uji kadar air

Dua puluh tablet digerus lalu ditimbang sejumlah bobot 1 tablet yaitu 526 mg dan dimasukkan kedalam *Halogen Moisture Analyzer*.

Setelah itu dikeringkan dengan *Moisture Analyzer* pada suhu penguapan air ($>100^{\circ}\text{C}$) selama 15 menit. Bobot sampel yang telah dikeringkan dicatat. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

Uji Stabilitas Kimia Kandungan β -Karoten dalam Tablet Kunyah Spirulina

Tablet kunyah ekstrak Spirulina disimpan 28 hari pada suhu penyimpanannya 40°C , 50°C (Colla, Furlong and Costa, 2007), dan 60°C di dalam *climatic chamber* yang diatur pada RH 75%. Pengukuran kadar β -karoten dilakukan sebanyak 3 kali replikasi dan diukur pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan hari ke 28 (Indayanti, 2014; Rahayu dan Ari., 2018). Langkah-langkah dalam pengerjaan KLT-densitometri yaitu :

- 1) Fase Gerak yang digunakan adalah aseton : etil asetat (1:1)
- 2) Penentuan panjang gelombang maksimum dengan menotolkan standar β -karoten pada *plate* yang sudah diaktifkan, lalu dielusi sampai 9 cm. *Plate* dikeringkan selama 1 jam. Spot standar dibaca pada $\lambda 400-500$ nm (United State Pharmacopeia, 2005)
- 3) Pembuatan Kurva Baku
 - a) Larutan Induk β -Karoten dibuat dengan 20 mg standar β -karoten, dimasukkan dalam labu takar 5 mL dan ditambahkan etil asetat hingga tanda kemudian gojok hingga homogen.
 - b) Pembuatan Seri Kadar Kurva Baku
Larutan dibuat 5 seri kadar larutan kurva baku 0,100 mg/mL; 0,201 mg/mL; 0,301 mg/mL; 0,402 mg/mL; 0,502 mg/mL dengan pelarut etil asetat p.a dalam labu takar 5 mL. Seri kadar ditotolkan pada fase diam aktif (*plate* silika gel F₂₅₄) sebanyak 5 μL lalu

dikeringkan dan dielusi (Mahmudah, 2018). Hasil elusi lalu dibaca menggunakan Densitometer *Scanner*.

4) Penetapan Kadar β -Karoten dalam Tablet Kunyah Spirulina

Sebanyak 20 tablet kunyah ditimbang lalu digerus. Diambil sebanyak 526 mg dan dimasukkan dalam labu takar 5 mL, ditambahkan etil asetat hingga tanda lalu kocok 10 menit. Larutan disaring menggunakan kertas *Whatman*. Filtrat ditotolkan bersama dengan larutan seri kadar kurva baku sebanyak 5 μL . Penetapan kadar dilakukan 3 kali replikasi. *Plate* dielusi kemudian dikeringkan pada tempat gelap selama 1 jam. Hasil totolan diamati di bawah lampu UV 254 nm. Kadar β -karoten dihitung berdasarkan persamaan kurva baku.

Penentuan Kadaluarsa Tablet Kunyah Spirulina

Berdasarkan Sinko (2011), tahapan pada penentuan waktu kadaluarsa obat yaitu:

- 1) Penentuan Orde Reaksi Degradasi Obat
Penentuan orde reaksi dilakukan pada suhu 40°C , 50°C , 60°C . Kadar β -karoten ditentukan pada hari ke-0, 7, 14, 21, 28. Nilai koefisien korelasi (r) ditentukan pada masing-masing suhu, dan jika yang linier (r^2 mendekati 1) adalah:
 - a) konsentrasi (C_t) vs waktu (t), maka kinetika degradasinya mengikuti orde ke-nol;
 - b) $\ln C_t$ vs t , maka kinetika degradasinya mengikuti orde pertama
 - c) $1/C_t$ vs t linier, maka kinetika reaksinya mengikuti orde kedua.
 - d) Penentuan Harga K Suhu Percobaan
Tahap ini menggunakan metode studi stabilitas dipercepat dengan

Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

menggunakan dasar Hukum Arrhenius dengan persamaan 2 yaitu:

$$\ln K = \ln A - \frac{Ea}{RT} \dots \dots \dots (2)$$

Data K (tetapan degradasi obat) yang diperoleh pada suhu 40°C, 50°C, dan 60°C dibuat persamaan regresi linier $\ln K$ vs $\frac{1}{T}$.

2) Penentuan Harga K Suhu Kamar

Persamaan yang diperoleh dari regresi linier antara $\ln K$ vs $\frac{1}{T}$, diekstrapolasikan pada suhu

kamar, sehingga diperoleh nilai K pada suhu kamar.

3) Penentuan *shelf-life*

Harga K digunakan untuk menghitung besarnya *shelf life* dan waktu kadaluwarsa. Rumus yang digunakan untuk penentuan *shelf life* dapat dilihat pada tabel II.

4) Penentuan waktu kadaluwarsa

Tanggal kadaluwarsa didapatkan dari tanggal pembuatan ditambah *shelf-life* yang telah didapatkan pada tahap perhitungan sebelumnya

Tabel II. Penentuan *Shelf-life*

Orde	t_{90}	t_{95}
Ke-nol	$t_{90} = 0,1 C_0 / K_0$	$t_{95} = 0,05 C_0 / K_0$
pertama	$t_{90} = 0,105 / k_1$	$t_{95} = 0,051 / k_1$
kedua	$t_{90} = 0,1 / (0,90 [Do] k_2)$	$t_{95} = 0,05 / (0,95 [Do] k_2)$

Uji Mikrobiologi

1) Alat dan Bahan disterilisasi dengan autoklaf suhu 121°C, 15 menit.

2) Pembuatan Media PCA

Media PCA ditimbang sebanyak 4,375 gram. Kemudian media dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dilarutkan dengan akuades lalu ditambahkan akuades hingga batas 250 mL. Sterilasi dengan autoklaf 15 menit, suhu 121°C, kemudian didinginkan ($\pm 45^\circ\text{C}$).

3) Pembuatan Larutan Kloramfenikol 1%

Kloramfenikol 250 mg sebanyak 2,5 gram dilarutkan dengan 250 mL akuades.

4) Pembuatan Media PDA

Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) ditimbang sebanyak 9,75 gram dan dimasukkan ke erlenmeyer. Setelah itu dilarutkan dengan larutan kloramfenikol 1% hingga 250 mL dan dikocok homogen.

Kemudian disterilkan dengan autoklaf 15 menit suhu 121° C. Setelah disterilkan kemudian didinginkan ($\pm 45^\circ\text{C}$).

5) Penanaman Sampel

Tablet digerus dalam mortir steril, ditimbang sebanyak 10 gram. Sampel dimasukkan ke dalam wadah yang berisi 90 mL NaCl 0,9% steril (pengenceran 1:10) dan dikocok hingga homogen. Pengenceran dilakukan 1:100, 1:1000 dengan NaCl 0,9% steril. Larutan sampel masing masing pengenceran diambil 1 mL, kemudian dituangkan (*pour plate*) pada media PCA dan media PDA. Media TBX menggunakan larutan sampel pengenceran 1:100, kemudian diratakan dengan menggunakan *spreader* (metode cawan sebar). Media PCA dan TBX yang telah ditanami sampel diinkubasi suhu 37°C selama 24-48 jam. Media PDA yang telah ditanami sampel diinkubasi suhu 20°C-25°C selama 5-7 hari.

Jumlah koloni bakteri dan kapang khamir pada masing masing petri dengan berbagai pengeceran dihitung dengan metode SPC (*Standard Plate Count*) sel dalam sampel (CFU/gram).

Analisis Data

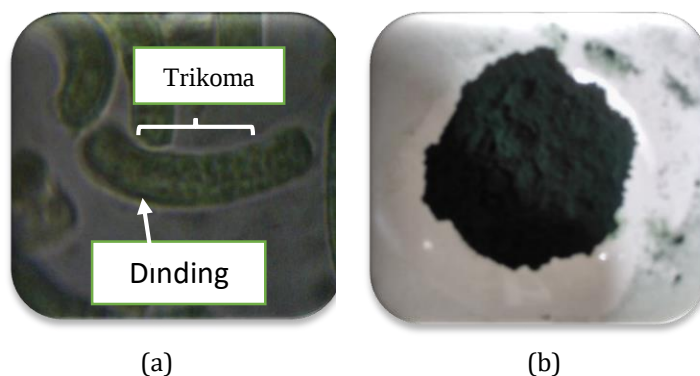
Kekerasan, kadar air tablet, hasil ALT dan AKK dianalisis secara statistik menggunakan SPSS dengan menguji normalitas dan homogenitas dengan taraf kepercayaan 95%. Uji normalitas dilakukan dengan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak. Uji homogenitas dilakukan dengan uji Levene untuk mengetahui varian data homogen atau tidak. Data dikatakan terdistribusi normal dan homogen apabila masing masing hasil uji menunjukkan signifikan lebih dari 0,05. Apabila hasil data terdistribusi normal dan homogen maka analisis selanjutnya dilakukan dengan metode parametrik yaitu uji ANOVA, jika diterima maka lanjut ke uji LSD untuk menunjukkan perbedaan yang signifikan antar pasangan kelompok perlakuan.

Apabila hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen atau salah satunya maka analisis selanjutnya dilakukan dengan metode non parametrik yaitu uji Kruskal-Wallis dengan taraf kepercayaan 95%. Apabila hasil signifikan $<0,05$, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan taraf kepercayaan 95% untuk membandingkan sampel dalam satu variabel. Apabila signifikan $>0,05$ berarti data berbeda tidak bermakna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Simplisia

Identifikasi simplisia ini bertujuan untuk memastikan bahwa serbuk yang digunakan benar benar serbuk *Spirulina platensis*. Serbuk *Spirulina* ini diperoleh dari seorang penjual yang bertempat tinggal di Klaten, Jawa Tengah. Hasil identifikasi tersebut diketahui bentuk mikroskopis maupun makroskopis yang dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pengamatan Mikroskopis (a) dan Makroskopis (b) *Spirulina platensis*

Menurut Lupatini *et al.* (2017) dan Saxena dkk. (2022) *Spirulina* sp. merupakan organisme autotrof yang berbentuk benang tersusun atas sel berbentuk silindris tanpa sekat pemisah (*septa*) berwarna hijau kebiruan yang memiliki filamen dengan bentuk heliks dan memiliki trikoma tidak bercabang. Hasil dari gambar 1 menunjukkan bahwa serbuk yang digunakan

adalah serbuk *Spirulina platensis*, karena memiliki ciri ciri seperti pernyataan Lupatini *et al.* (2017) dan yaitu memiliki makroskopis berwarna hijau kebiruan, berbau amis, rasa pahit dan memiliki mikroskopis berbentuk silindris yang memiliki filamen dengan bentuk helix (*spiral*) dan mempunyai trikoma.

Pembuatan Ekstrak Etanol 96% *Spirulina platensis*

Serbuk *Spirulina platensis* yang telah diidentifikasi, diekstraksi dengan pelarut etanol 96%. β -karoten memiliki sifat yang non polar, sehingga dengan menggunakan pelarut etanol 96% dapat diperoleh jumlah senyawa β -karoten yang maksimal sama seperti kelarutan senyawa tersebut dan ekstraksinya menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena prosesnya yang sederhana, tidak memerlukan suhu tinggi sehingga dapat mencegah kerusakan zat aktif yang tidak tahan dengan pemanasan. Hal ini berkaitan dengan ketidakstabilan zat aktif β -karoten yang bersifat mudah rusak dengan adanya pemanasan. Meskipun demikian, metode maserasi memiliki kelemahan penyarian kurang sempurna karena ada proses penjuanan dan penyariannya lama, sehingga untuk mengoptimalkan proses maserasi dilakukan pengadukan dengan *magnetic stirrer* dan penyarian kembali (remaserasi) (Saputra, Agustini and Dewi, 2014).

Ekstrak kental diperoleh dengan cara menguapkan cairan penyari pada sari etanol yang telah diperoleh pada proses maserasi. Penguapan pada suhu 50°C bertujuan agar zat aktif β -karoten tidak rusak, karena β -karoten akan mengalami perubahan stereoisomer akibat pemanasan (Hejri *et al.*, 2019). Alat *rotary evaporator* digunakan untuk menghindari panas yang berlebihan berkontak langsung dengan sari etanol sehingga dapat menjaga zat aktif yang terkandung di dalamnya tidak rusak dan kontak dengan udara dapat dihindarkan sehingga dapat mencegah proses oksidasi senyawa β -karoten oleh udara.

Rendemen yang diperoleh sebesar 7,135% lebih kecil dibandingkan rendemen Suhartini (2018) sebesar 11,12%. Besar kecilnya hasil rendemen yang diperoleh menunjukkan efektivitas proses ekstraksi. Efektivitas ekstraksi

dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis pelarut untuk menyari, ukuran partikel serbuk, metode dan lama ekstraksi serta suhu ekstraksi (Saputra, 2015). Ekstrak etanol *Spirulina* dilakukan uji bebas etanol secara kualitatif mempunyai tujuan untuk memastikan bahwa kandungan etanol sudah tidak ada lagi dalam ekstrak. Adanya etanol dalam ekstrak dapat mempengaruhi pengujian mikrobiologi tablet karena akan menghasilkan jumlah koloni yang semu.

Pembuatan Tablet Kunyah Ekstrak Etanol *Spirulina*

Sebelum dibuat tablet, ekstrak kental *Spirulina* dikeringkan dengan aerosil. Pemilihan aerosil sebagai pengering dikarenakan aerosil bersifat higroskopis/menyerap air tetapi dengan sifat tersebut masih memiliki sifat alir yang baik. Pembuatan tablet kunyah tersebut menggunakan metode kempa langsung dengan alasan menjaga kestabilan zat aktif yang tidak tahan oleh pemanasan. Pada penelitian ini menggunakan formula yang sudah dioptimasi antara pelicin aerosil 200 dan pelicin PEG 6000 dengan perbandingan 5:1, menggunakan ludipress sebagai bahan pengisi, dan sakarin sebagai pemanis untuk menutupi rasa pahit pada ekstrak *Spirulina* (Fatimah *et al.*, 2021).

Stabilitas Fisik Tablet Kunyah Ekstrak Etanol *Spirulina*

Organoleptis

Tujuan dilakukannya uji organoleptis adalah untuk melihat kualitas dari tablet kunyah ekstrak etanol *Spirulina* dengan menggunakan indra penglihatan, perasa, penciuman dan indra peraba. Hasil gambar 2 menunjukkan pada hari ke-0, tablet kunyah dalam kondisi baik, tidak terdapat kerusakan, berwarna hijau pucat, rasa manis dan

sedikit pahit serta berbau amis. Pada hari ke-20, tablet kunyah masih dalam kondisi baik, tidak ada kerusakan, rasa manis dan pahit serta masih berbau amis, berwarna hijau dan mempunyai masalah *mottling* yaitu distribusi warna hijau tidak merata. Pada hari ke-40, tablet kunyah tidak ada perubahan bentuk, berwarna hijau lebih cerah dengan *mottling*, masih berbau amis dengan rasa manis dan pahit. Warna tablet kunyah dari hari ke-0 sampai hari ke-40 berubah menjadi hijau gelap karena tablet kunyah lembab.

Hal tersebut dikarenakan aerosil dan spirulina memiliki sifat higroskopis (Saputra, Agustini and Dewi, 2014). Aerosil yang digunakan sebagai pelicin dan pengering menyebabkan tablet kunyah menjadi lembab selama penyimpanan. Hasil uji organoleptis tersebut menunjukkan

bahwa tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina tidak stabil secara fisik pada saat disimpan karena pada hari ke 20 sudah mengalami perubahan organoleptis.

Saputra *et al.* (2014) menyatakan dengan menambahkan serbuk Spirulina akan menutupi bercak putih bahan pengisi yang tidak homogen. Spirulina mengandung protein sebesar 24,327%, hal ini yang menyebabkan Spirulina berbau amis. Aroma amis yang khas pada Spirulina yang berasal dari *blue-green algae* yang menghasilkan senyawa geosmin dan metyl isoborneol (Insan *et al.*, 2004). Saputra *et al.* (2014) juga menyatakan banyaknya Spirulina yang digunakan berbeda nyata terhadap rasa tablet, tablet menjadi lebih pahit dengan penambahan Spirulina.



(a)



(b)



(c)

Gambar 2. Organoleptis tablet kunyah ekstrak etanol spirulina pada hari ke 0 (a), hari ke 20 (b), dan hari ke 40 (c)

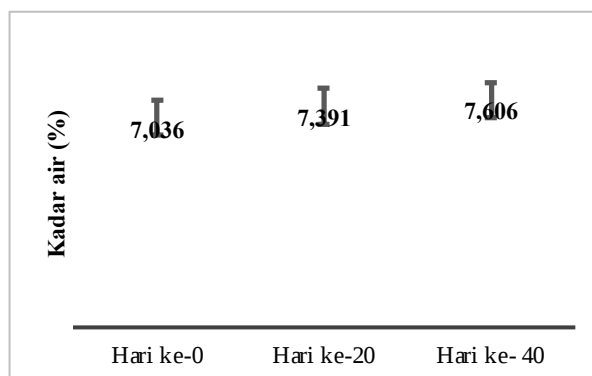
Kadar Air Tablet Kunyah

Hasil gambar 3 menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan maka kadar air tablet kunyah semakin meningkat. Hasil ini berkorelasi dengan kekerasan tablet yang semakin lama semakin menurun. Berdasarkan Narang *et al.* (2012), air atau lembab yang terdapat dalam tablet dengan jumlah yang berlebihan akan menyebabkan stabilitas tablet terganggu. Gangguan tersebut dapat berasal dari reaksi kimia seperti terjadinya penguraian, oksidasi, reduksi

oleh cairan sebagai katalisator degradasi zat aktif, tablet akan mudah ditumbuhi oleh mikroba. Disamping itu, kadar air yang berlebihan berpengaruh pada kompresibilitas tablet karena air akan mengisi rongga antar tablet. Kadar air yang berlebihan juga akan menyebabkan tablet menjadi sulit terbasahi pada saat disolusi (Voight, 1989) sehingga menyebabkan tablet akan lebih sulit hancur di dalam lambung. Kadar air dalam tablet juga akan mempengaruhi daya serap yang berpengaruh pada waktu hancur tablet seperti

pada penelitian Viljoen dkk. (2014). Pada penelitian tersebut terbukti kadar air memiliki pengaruh yang cukup besar terhadap tabletabilitas

dan disintegrasi tablet yang dibuat dari serbuk kitosan.



Gambar 3. Hasil Uji Kadar Air Tablet Kunyah Ekstrak Etanol Spirulina

Sifat higroskopis aerosil dan Spirulina akan mempengaruhi kelembaban dari tablet. Aerosil yang memiliki gugus silanol mampu mengikat air dengan membentuk jembatan hidrogen. Semakin lama kontak dengan udara, maka tablet akan semakin lembab yang mengakibatkan kadar air tablet menjadi bertambah.

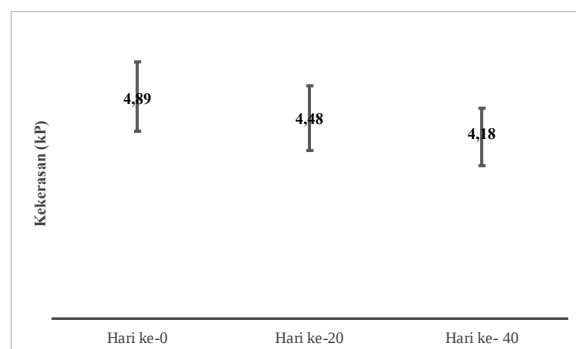
Meskipun kadar air mengalami peningkatan selama penyimpanan, kadar air tablet kunyah Spirulina masih memenuhi persyaratan yaitu $\leq 10\%$ (BPOM, 2019). Disamping itu, hasil analisis uji Mann Whitney menunjukkan kadar air hari 0 dengan hari 20, hari ke 0 dengan hari 40 dan hari 20 dengan hari 40 ada perbedaan tidak signifikan. Hasil tersebut menunjukkan kadar air tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina relatif stabil terhadap lama penyimpanan.

Kekerasan Tablet Kunyah Ekstrak Etanol Spirulina

Tablet kunyah dalam penggunaannya tidak memperlmasalahkan tingginya kekerasan tablet karena tablet kunyah terlebih dahulu dihancurkan secara mekanik di dalam mulut dengan adanya proses pengunyahan. Dengan demikian, tidak ada kekhawatiran terhadap tablet yang memiliki kekerasan tinggi tidak dapat hancur. Kekerasan tablet dipengaruhi oleh tekanan kompresi, sifat bahan yang dikempa serta jumlah dan jenis bahan pengikat yang digunakan.

Kekerasan meningkat dengan meningkatnya gaya kompresi sementara kerapuhan menurun. Densitas meningkat dengan meningkatnya gaya kompresi, sementara porositas menurun.

(Abul *et al.*, 2014). Kekerasan tablet kunyah Spirulina yang stabil dan memenuhi syarat kekerasan tablet kunyah antara 4-12 kPa akan menggambarkan kualitas fisik yang baik (FDA, 2018). Hasil peneltian ini disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil uji kekerasan tablet kunyah selama 40 hari

Gambar 4 menunjukkan bahwa penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina selama 40 hari memenuhi persyaratan 4-12 kPa (FDA, 2018). PEG 6000 yang terdapat dalam tablet selain berfungsi sebagai *lubricant* juga sebagai pengikat, sehingga adanya PEG 6000 akan mengikat lebih kuat antara partikel-partikel (Sugita, 2006). Namun adanya *Spirulina platensis* yang dapat menyerap air menyebabkan penurunan kompaktibilitas tablet (Saputra, 2015). Jumlah PEG 6000 dalam tablet yang tetap, tetapi kandungan air tablet kunyah meningkat menyebabkan penurunan kemampuan mengikat dari PEG 6000. Selain itu, Spirulina dan aerosil mengikat air dari udara sekitar menyebabkan terjadinya pembesaran porositas pada tablet sehingga kekerasan menurun dan tablet menjadi mudah rapuh.

Berdasar analisis uji Uji Mann-Whitney menghasilkan nilai signifikansi $<0,05$. Nilai tersebut menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kekerasan tablet kunyah yang disimpan selama 40 hari. Kekerasan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina tidak stabil selama penyimpanan 40 hari.

Uji stabilitas kandungan β -karoten dalam tablet kunyah spirulina

Metode stabilitas dipercepat merupakan metode yang menggunakan suhu di atas suhu *real*

time yang bertujuan untuk mempercepat degradasi. Uji stres merupakan uji yang menggunakan kondisi penyimpanan ekstrim dengan menggunakan suhu di atas suhu *accelerated test* seperti suhu 50 °C, 60°C untuk meningkatkan kecepatan penguraian suatu obat. Tujuan dari uji ini adalah untuk menentukan parameter kinetik dalam waktu singkat sehingga waktu kadaluwarsa dapat diprediksi. Pada metode jangka panjang (*real time*) menggunakan suhu $30^{\circ}\text{C}\pm 2$, sedangkan suhu yang digunakan untuk stabilitas dipercepat (*accelerated test*) yaitu $40^{\circ}\text{C}\pm 2$ (Bajaj, Singla and Sakhuja, 2012).

1) Penentuan panjang gelombang maksimum

Berdasarkan hasil pembacaan dengan KLT-densitometri, diperoleh panjang gelombang serapan maksimum standar β -karoten sebesar 453 nm, sehingga penetapan kadar mula mula β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina menggunakan panjang gelombang 453 nm.

2) Pembuatan kurva baku dan penetapan kadar mula-mula β -karoten dalam ekstrak etanol spirulina

Persamaan kurva baku hubungan antara kadar β -Karoten (x, dalam mg/ml) dan AUC (y, dalam mV) yang diperoleh adalah $y = 25556x + 12140$ dengan nilai r sebesar 0,9869. Penetapan kadar mula-mula bertujuan menentukan C_0 (kadar mula-mula) β -Karoten dalam tablet kunyah yang

digunakan untuk menghitung *shelf life*

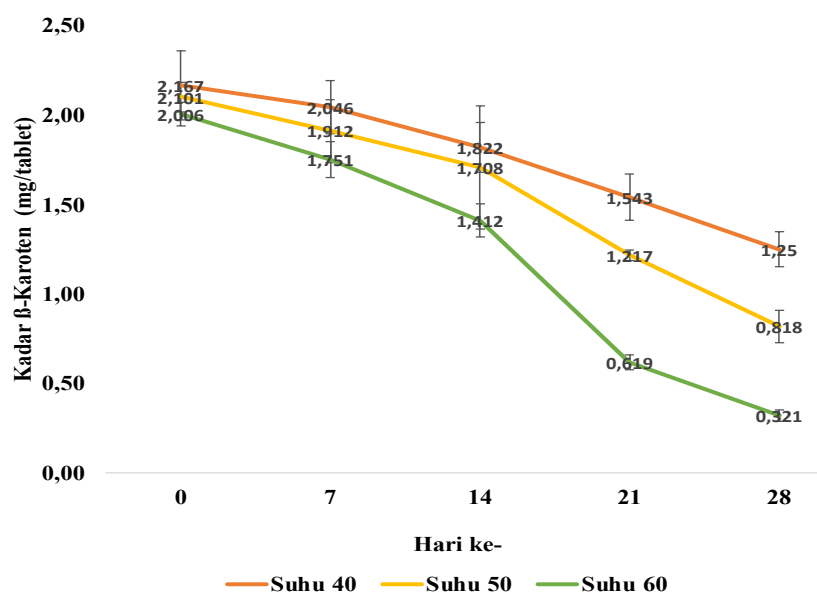
Tabel III. Kadar β -karoten dalam Tablet Kunyah Ekstrak Etanol Spirulina

AUC Sampel (mV)	Kadar (mg/tablet)
24213,5	2,382
24145,4	2,372
24744,1	2,487
Rata-rata $\pm$ SD	2,414 $\pm$ 0,064

Tabel III menunjukkan kadar β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina sebesar (2,414 $\pm$ 0,064) mg/tablet. Kandungan β -karoten dalam 1 tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina tersebut dapat memenuhi kebutuhan β -karoten dalam sehari 2400 μ g untuk balita dan 3600 μ g untuk orang dewasa (BPOM RI, 2003).

- 3) Penetapan Kadar β -Karoten dalam Ekstrak Etanol Spirulina 40°C, 50 °C dan 60 °C

Tujuan dari penetapan kadar β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina pada suhu 40°C, 50°C, 60°C hari ke-0, 7, 14, 21, dan 28 adalah untuk melihat perbedaan kadar β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina selama selang waktu 7 hari dan untuk menentukan *shelf life*. Penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina pada suhu 40°C, 50°C, 60°C bertujuan untuk mempercepat degradasi β -karoten sehingga waktu untuk penentuan *shelf life* lebih singkat.



Gambar 5. Kurva hubungan lama penyimpanan dan kadar β -karoten dalam Tablet Kunyah Ekstrak Etanol Spirulina

Gambar 5 menunjukkan bahwa kadar β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina mengalami penurunan selama selang waktu 7 hari. Hal ini dikarenakan β -karoten memiliki struktur ikatan rangkap terkonjugasi yang kaya elektron yang membuatnya tidak stabil

terhadap oksidasi, panas dan cahaya (Hejri *et al.*, 2019). Panas juga dapat menyebabkan β -karoten mengalami isomerisasi. Isomerisasi dapat menyebabkan penurunan intensitas warna dan titik cair (Legowo, 2005). Penurunan intensitas warna akan menyebabkan perubahan panjang

gelombang senyawa β -karoten ketika dideteksi dengan menggunakan KLT-densitometri.

4) *Shelf life* β -karoten

Penentuan *shelf life* β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina bertujuan untuk melihat masa obat dimulai diproduksi sampai senyawa β -karoten tinggal 90%. Sedangkan waktu kadaluwarsa yaitu waktu yang dinyatakan dalam bulan dan tahun yang mana obat tidak lagi memenuhi persyaratan. Dalam penentuan *shelf life*

dan waktu kadaluwarsa, terlebih dahulu melakukan penentuan orde reaksi, penentuan harga K pada berbagai suhu dan penentuan harga K pada suhu kamar. Pada penelitian ini, tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina menghasilkan orde reaksi ke-0 karena 3 suhu pengujian yaitu 40°C, 50°C dan 60°C menghasilkan nilai regresi (r) yang paling besar pada hasil regresi antara Ct (kadar) dengan t (waktu) yaitu 0,989 seperti pada tabel IV.

Tabel IV. Penentuan Orde reaksi

Hari (t)	Kadar (Ct, dalam mg/tablet)								
	40°C			50 °C			60 °C		
	Ct	Ln Ct	$\frac{1}{Ct}$	Ct	Ln Ct	$\frac{1}{Ct}$	Ct	Ln Ct	$\frac{1}{Ct}$
0	2,167	0,773	0,461	2,101	0,742	0,476	2,006	0,696	0,498
7	2,046	0,716	0,489	1,912	0,648	0,523	1,751	0,560	0,571
14	1,822	0,600	0,549	1,708	0,535	0,585	1,412	0,345	0,708
21	1,543	0,434	0,648	1,217	0,196	0,822	0,619	-0,480	1,616
28	1,250	0,223	0,800	0,818	-0,201	1,222	0,321	-1,136	3,115
R	-0,989	-0,977	0,960	-0,980	-0,956	0,920	-0,981	-0,953	0,895
B	-0,033	-0,020	0,012	-0,046	-0,033	0,026	-0,064	-0,067	0,090
A	2,233	0,826	0,422	2,203	0,852	0,367	2,122	0,938	0,046

Tabel V. penentuan harga K pada berbagai suhu

Suhu (°C)	Suhu (T dalam K)	$\frac{1}{T}$	K (mg/hari)	Ln K
40	313	$3,195 \pm 10^{-3}$	0,033	-3,411
50	323	$3,096 \pm 10^{-3}$	0,046	-3,079
60	333	$3,003 \pm 10^{-3}$	0,064	-2,749

Selanjutnya melakukan penentuan harga K pada berbagai suhu yang diperoleh dari nilai negative *slope* masing masing suhu. Tabel V menunjukkan suhu 60°C mempunyai nilai K lebih besar dibandingkan suhu 40°C dan suhu 50°C. Hal ini dikarenakan semakin tinggi suhu penyimpanan maka kecepatan degradasi β -karoten menjadi meningkat. Harga K pada suhu kamar (25°C)

ditentukan dari persamaan Arrhenius yang dibuat regresi linier hubungan antara $\ln K$ vs $\frac{1}{T}$ yang menghasilkan persamaan $\ln K_0 = -3446,903 \frac{1}{T} + 7,599$. Dari persamaan yang dihasilkan dapat disubstitusikan pada suhu kamar, sehingga diperoleh nilai K suhu kamar (25°C) sebesar 0,019 mg /hari.

Hasil dari nilai K suhu kamar (25°C) mempunyai *shelf life* β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina suhu 25°C dengan rumus $\frac{0,10 CO}{Ko}$ sebesar 12 hari dan $t \frac{1}{2}$ diperoleh selama 64 hari. Penentuan *shelf life* β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina pada suhu 5°C dengan metode Q_{10} . Nilai Q_{10} sering dibuat dengan menggunakan nilai 3 yang sebanding dengan nilai energi aktivasi sebesar 19,4 kkal/mol (Yowono, Binarjo and Edityaningrum, 2015). Dari hasil perhitungan dengan metode Q_{10} , *shelf life* β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina pada suhu 5°C selama 4 bulan. Dari hasil tersebut penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol yang sesuai pada suhu 5°C (di dalam kulkas), karena memiliki *shelf life* lebih lama dibandingkan *shelf life* pada penyimpanan pada suhu 25°C.

Stabilitas Mikrobiologi

Pengkondisian uji mikrobiologi

Langkah awal penelitian ini dimulai dengan pengenceran sampel 1:10, 1:100 dan 1:1000 dengan menggunakan larutan NaCl 0,9% untuk memudahkan menghitung koloni bakteri yang tumbuh pada *Plate Count Agar* (PCA) untuk uji ALT, memudahkan menghitung koloni kapang khamir yang tumbuh pada *Potato Dextrosa Agar* (PDA) untuk uji AKK dan pengenceran 1:100 untuk uji kualitatif *E.coli* dengan media TBX. Larutan NaCl 0,9% merupakan larutan isotonis yang kondisinya seperti cairan yang ada di dalam tubuh, sehingga bakteri dan kapang khamir dapat tumbuh dengan menggunakan larutan ini. PCA sebagai media pertumbuhan yang mengandung banyak nutrisi yang diperlukan oleh bakteri sehingga bakterinya akan tumbuh dengan baik. PDA merupakan media yang digunakan untuk memacu produksi konidia oleh fungi, sedangkan TBX

sebagai media yang memberikan reaksi warna hijau kebiruan jika positif *E.coli*. Penanaman sampel pada penelitian ini menggunakan metode cawan tuang (*pour plate*) yang memiliki kelebihan dapat mengetahui bakteri aerob dan anaerob. Bakteri aerob akan berada diatas (oksigen), sedangkan bakteri anaerob berada di dalam media.

Untuk menghasilkan koloni bakteri yang sebenarnya dari sampel, maka penyimpanan sampel dalam inkubator dengan posisi terbalik pada suhu 37°C dengan masa inkubasi 24-48 jam. Hal ini dikarenakan, apabila terjadi pengembunan pada media selama inkubasi akan mengakibatkan kontaminasi, maka dengan posisi terbalik airnya tidak menetes pada media, tetapi akan menetes pada tutup cawan petri. Sedangkan uji AKK, penyimpanan sampel pada suhu 20°C-25°C masa inkubasi selama 5-7 hari dengan posisi tidak terbalik. Untuk mencegah tumbuhnya bakteri pada uji AKK yang dapat mengganggu perhitungan koloni kapang khamir maka perlu ditambahkan antibiotik kloramfenikol sebesar 1%.

Uji Angka Lempeng Total

Pada prinsipnya perhitungan angka lempeng total ini hanya untuk melihat jumlah total bakteri berupa bakteri patogen maupun non patogen dalam suatu sampel, dan hanya melihat secara empiris saja, karena setiap spesies bakteri dalam pertumbuhannya membentuk koloni sendiri. Persyaratan mutu untuk sediaan yaitu cemaran mikroba seperti ALT $\leq 10^4$ CFU/gram (BPOM, 2019).

Hasil tabel VI menunjukkan bahwa ALT tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina memenuhi persyaratan $\leq 10^4$ CFU/gram dan adanya pertumbuhan jumlah koloni bakteri selama penyimpanan 40 hari. Hal ini dikarenakan adanya kandungan air dalam tablet dan adanya oksigen (udara) di dalam wadah penyimpanan tablet. Air

dan oksigen merupakan faktor pertumbuhan bakteri selain itu tablet tidak menggunakan bahan

pengawet sehingga tidak ada zat yang menghambat pertumbuhan bakteri.

Tabel VI. Angka lempeng total pada Hari ke-0,20, dan 40

Hari ke-	Angka lempeng total $\pm$ SD (CFU/gram)
0	$7 \times 10^2 \pm 2,4 \times 10^2$
20	$2,6 \times 10^3 \pm 0,4 \times 10^3$
40	$4,2 \times 10^3 \pm 0,7 \times 10^3$

Hasil uji LSD pengaruh lama penyimpanan terhadap ALT tablet kunyah menunjukkan nilai signifikansi $<0,05$. Hal tersebut menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada nilai ALT karena pengaruh lama penyimpanan. Berdasar hasil tersebut, lama penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina selama 40 hari menunjukkan hasil yang tidak stabil yang menyebabkan peningkatan ALT secara signifikan.

Uji Angka Kapang Khamir

Cemaran fungi melebihi batas yang telah ditentukan akan mempengaruhi stabilitas sediaan

obat dan terdapat banyak mikotoksin yang berbahaya bagi kesehatan. Salah satu mikotoksin adalah aflatoksin yang dapat menyebabkan kanker, terutama Aflatoksin B1 merupakan aflatoksin yang paling toksik (IARC, 2002). Kondisi yang lembab merupakan tempat tumbuhnya kapang khamir. Tablet dengan bahan tambahan yang bersifat higroskopis akan lebih mudah lembab Hal ini yang menyebabkan kapang dan khamir mengalami pertumbuhan di dalam tablet. Hasil uji AKK dapat dilihat pada tabel VII.

Tabel VII. Angka kapang khamir pada hari ke-0, 20, dan 40

Hari ke-	Angka kapang khamir $\pm$ SD (CFU/gram)
0	$1,5 \times 10^3 \pm 2 \times 10^2$
20	$1,9 \times 10^3 \pm 1 \times 10^2$
40	$4,2 \times 10^3 \pm 2 \times 10^3$

Hasil dari tabel VII menunjukkan bahwa AKK tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina melebihi batas persyaratan AKK tablet yaitu sebesar $\leq 10^3$ CFU/gram. Hal ini dikarenakan kapang khamir sudah terbentuk selama penyimpanan ekstrak dan mengalami pertumbuhan selama penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina karena tablet tidak menggunakan bahan pengawet

sehingga tidak ada yang menghambat pertumbuhan kapang khamir. Selain itu, pertumbuhan angka kapang khamir dapat disebabkan karena tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina menyerap air dari udara sekitar yang disebabkan oleh sifat higroskopis dari Spirulina dan aerosil. Hal ini yang menyebabkan tablet menjadi lembab. Lembab merupakan tempat

tumbuhnya kapang dan khamir. Proses penyerapan air dari udara oleh tablet dapat dikarenakan wadah dan tutup wadah tablet yang kurang kedap udara sehingga menyebabkan udara masuk ke dalam wadah.

Hasil perhitungan uji mann-whitney AKK tablet kunyah pada penyimpanan hari ke-0 hingga hari ke 40 diperoleh nilai signifikansi $>0,05$. Hasil tersebut menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan pertumbuhan kapang khamir yang dapat disebabkan pertumbuhan AKK lebih lambat dibandingkan pertumbuhan bakteri. Berdasar hasil analisis tersebut, lama penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina tidak mempengaruhi pertumbuhan terhadap jumlah koloni kapang khamir (angka kapang khamir).

Uji Kualitatif Bakteri *E.coli*

Tujuan uji kualitatif untuk melihat ada atau tidaknya pertumbuhan *E.coli* pada sampel. Berdasarkan hasil pengujian 3 waktu yaitu hari ke 0, hari ke 20 dan hari ke 40 tidak menghasilkan perubahan warna media TBX menjadi hijau kebiruan. Warna hijau kebiruan pada media TBX menunjukkan bahwa sampel positif terdapat bakteri *E.coli*. Berdasar hasil tersebut, tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina negatif terhadap bakteri *E.coli*.

KESIMPULAN

Berdasar hasil penelitian diatas maka lama penyimpanan berpengaruh signifikan terhadap kekerasan tablet, nilai ALT tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina dan tablet kunyah tersebut mengalami perubahan warna yaitu warna hijau menjadi lebih cerah, tidak ada perubahan bentuk, mempunyai masalah *mottling*, masih berasa pahit dan bau amis selama penyimpanan 40 hari. Sedangkan lama penyimpanan berpengaruh tidak

signifikan terhadap kadar air dan nilai AKK tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina. *Shelf life* yang diperoleh pada suhu 25°C selama 12 hari dan $t\frac{1}{2}$ selama 64 hari sedangkan pada suhu 5°C memiliki *shelf life* selama 4 bulan. Sehingga penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina yang sesuai pada suhu 5°C (kulkas). Selama penyimpanan 40 hari tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina memenuhi persyaratan mutu nilai ALT yaitu $\leq 10^4$ CFU/gram dan negatif terhadap bakteri *E.coli* sedangkan nilai AKK tidak memenuhi persyaratan karena $\geq 10^3$ CFU/gram.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami sampaikan kepada Kemenristek DIKTI atas dana Hibah Bersaing tahun 2016, sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abul, M. *et al.* (2014) 'Affect Of Granule Sizes, Types And Concentrations Of Lubricants And Compression Forces On Tablet Properties', *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(11).
- Bajaj, S., Singla, D. and Sakhuja, N. (2012) 'Stability testing of pharmaceutical products', *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. doi: 10.7324/JAPS.2012.2322.
- BPOM (2019) 'Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019 Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional', *Badan Pengawas Obat dan Makanan*.
- BPOM RI (2003) *Acuan Pencantuman Persentase Angka Kecukupan Gizi pada Label Produk Pangan*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Buhler (2001) *Generic Drug Formulation 4th Edition*. BASF Fine Chemicals.
- Colla, L. M., Furlong, E. B. and Costa, J. A. V. (2007) 'Antioxidant properties of Spirulina (Arthrospira) platensis cultivated under different temperatures and nitrogen regimes', *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(1). doi: 10.1590/S1516-89132007000100020.
- Erlila, N. (2017) *Skirining Fitokimia dan uji aktivitas Fraksi N- Heksan-Dietil Eter Buah*

- Paprika Merah (Capsicum Annum L) Dengan Metode DPPH*. Universitas Ahmad Dahlan.
- Fatimah, S. F. *et al.* (2021) 'Optimization Formulation of Spirulina platensis Chewable Tablet', in *Proceedings of the 1st Annual International Conference on Natural and Social Science Education (ICNSSE 2020)*. doi: 10.2991/assehr.k.210430.015.
- FDA (2018) *Quality Attribute Considerations for Chewable Tablets Guidance for Industry*. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration.
- Hejri, A. *et al.* (2019) 'Effect of edible antioxidants on chemical stability of β -carotene loaded nanostructured lipid carriers', *LWT*, 113. doi: 10.1016/j.lwt.2019.108272.
- IARC (2002) *Aflatoxin*. 82nd edn. IARC Monographs 8.
- Indayanti, D. (2014) *Uji Stabilitas Fisik dan Komponen Kimia pada Minyak Biji Jinten Hitam (Nigella Sativa L.) dalam Bentuk Emulsi Tipe Minyak dalam Air Menggunakan GCMS*, Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Insan, I. *et al.* (2004) 'Penyebab ikan bercita rasa lumpur dan penanganannya untuk konsumsi', *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan* 2, 1, pp. 79–84.
- Legowo, A. (2005) *Pengaruh Blanching terhadap Sifat Sensoris dan Kadar Provitamin Tepung Labu Kuning*. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Lupatini, A. L. *et al.* (2017) 'Potential application of microalga Spirulina platensis as a protein source', *Journal of the Science of Food and Agriculture*. doi: 10.1002/jsfa.7987.
- Narang, A. S., Desai, D. and Badawy, S. (2012) 'Impact of excipient interactions on solid dosage form stability', *Pharmaceutical Research*. doi: 10.1007/s11095-012-0782-9.
- Rahayu and Ari., R. (2018) *Efek Iritasi dan Stabilitas Fisik Gel Yang Mengandung Fraksi Air Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steen)*, Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.
- Resti, L. and Ilza, M. (2016) 'The Stability Of Fish Oil Jambal Siam (Pangasius Hypophthalmus) In Plastic Bottles And Glass During Storage', *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Perikanan dan Ilmu Kelautan*, 3(2), pp. 1–9.
- Rumengan, A. P. and Mantiri, D. A. (2015) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Alga Dictyosphaeria cavernosa dari Perairan Teluk Manado', *LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, 2.
- Saputra, J. S. E., Agustini, T. W. and Dewi, E. N. (2014) 'Pengaruh Penambahan Biomassa Serbuk Spirulina platensis Terhadap Sifat Fisik, Kimia, Dan Sensori Pada Tablet Hisap (Lozenges)(Biomass Utilization of Spirulina platensis Powder in The Manufacture of Lozenges)', *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, pp. 281–291.
- Saputra, M. Z. M. (2015) *Stabilitas Melatonin dalam Tablet Ekstrak Etanol Ganggang Hijau (Spirogyra orthospira) Selama Penyimpanan Pada Suhu Kamar (29-30 °C) dan Suhu Kulkas (3-5 °C)*, Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.
- Saxena, R. *et al.* (2022) 'Strategy Development for Microalgae Spirulina platensis Biomass Cultivation in a Bubble Photobioreactor to Promote High Carbohydrate Content', *Fermentation*, 8, p. 374.
- Sinko, P. J. (2011) *Farmasi Fisika dan Ilmu Farmasetika*. 5th edn. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sugiharto, E. and Ayustaningwarno, F. (2014) 'Kandungan Zat Gizi Dan Tingkat Kesukaan Roti Manis Substitusi Tepung Spirulina Sebagai Alternatif Makanan Tambahan Anak Gizi Kurang', *Journal of Nutrition College*, 3(4). doi: 10.14710/jnc.v3i4.6909.
- Sugita, S. (2006) *Pengaruh Kadar PEG 6000 terhadap Mutu Fisik Tablet Ekstrak Mengkudu dalam Dispersi Padat Ekstrak Mengkudu-PEG 6000 yang Dibuat secara Cetak Langsung*. Universitas Airlangga.
- Suhartini (2018) *Uji Standarisasi Non Spesifik dan Spesifik Ekstrak Etanol 96% Spirulina maxima*, Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.
- Viljoen, J. M. *et al.* (2014) 'Effect of moisture content, temperature and exposure time on the physical stability of chitosan powder and tablets', *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 40(6). doi: 10.3109/03639045.2013.782501.
- Voight (1989) *Buku Ajar Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: YGM Press.
- Yowono, T., Binarjo, A. and Edityaningrum, C. (2015) *Buku Ajar Farmasi Fisik*. Yogyakarta.: Fakultas Farmasi Ahmad Dahlan.