

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah keseluruhan objek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi dalam penelitian ini adalah tablet nifedipin dengan menggunakan metode *liquisolid*.

Sampel adalah sebagian dari populasi penelitian, dimana ciri-ciri dan keberadaan diharapkan mampu mewakili populasi yang sebenarnya. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tablet *liquisolid* nifedipin yang dibuat dalam empat formula dengan komponen tambahan PEG 400 sebagai pelarut *non-volatile* dan laktosa sebagai bahan pembawa dengan variasi perbandingan formula ditambah dengan satu formula kontrol. Variasi perbandingan formula yang digunakan yaitu formula 1 sebagai kontrol, formula 2 (17,6% A : 82,4% B), formula 3 (24,2% A : 75,8% B), formula 4 (30,8% A : 69,2% B).

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama berisi identitas semua variabel yang diteliti diklasifikasikan menjadi variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali. Variabel utama dalam penelitian ini yaitu formula tablet *liquisolid* nifedipin yang dibuat dengan menggunakan komponen PEG 400 sebagai pelarut *non-volatile* dan laktosa sebagai bahan pembawa dengan variasi perbandingan formula.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas yaitu variabel yang tidak tergantung dengan variabel lain *sehingga* dapat diubah-ubah untuk mempengaruhi variabel lain. Variabel bebas pada penelitian ini adalah kombinasi variasi konsentrasi PEG 400 sebagai pelarut *non-volatile* dan laktosa sebagai *carrier material*.

Variabel tergantung adalah variabel yang diukur untuk mengetahui *efek* yang disebabkan oleh variabel bebas. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah Sifat alir serbuk pada tablet *liquisolid* yang terdiri dari sudut diam, kecepatan alir, LOD (*Loss On Drying*). Sifat fisik tablet *liquisolid* yang terdiri dari keseragaman

kandungan, keseragaman ukuran, kekerasan, kerapuhan, waktu hancur, dan uji disolusi.

Variabel terkendali adalah variabel yang disamakan agar tetap konstan untuk meminimalisir pengaruh variabel lain selain variabel bebas yang dapat mempengaruhi hasil variabel terikat. Variabel kendali pada penelitian ini adalah metode pembuatan tablet (lama waktu pencampuran kecepatan putaran mixer), alat, nomor ayakan, lokasi pemesanan bahan yang akan dipakai.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

3.1 Sifat fisik serbuk adalah suatu parameter yang digunakan untuk mengukur kualitas serbuk yang akan digunakan. Parameter tersebut meliputi uji laju alir, sudut diam, dan LOD (*Loss On Drying*).

3.1.1 Laju alir serbuk merupakan suatu parameter yang digunakan untuk mengetahui kemampuan mengalir suatu serbuk, yang akan berpengaruh terhadap keseragaman kadar dari bahan aktif saat dikempa menjadi tablet.

3.1.2 Sudut diam merupakan sudut yang terbentuk antara bidang datar (horizontal) dan permukaan serbuk yang membentuk kerucut.

3.1.3 Loss On Drying (LOD) merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengukur jumlah air yang terkandung dalam granul. Semakin banyak air yang terkandung dalam granul, sediaan yang dihasilkan akan lebih buruk.

3.2 Sifat fisik tablet adalah suatu parameter yang digunakan untuk mengukur kualitas tablet yang akan diproduksi. Parameter ini termasuk uji keseragaman kandungan, keseragaman ukuran, kekerasan, kerapuhan, waktu hancur, dan disolusi tablet.

3.2.1 Keseragaman kandungan tablet merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui tablet yang telah dibuat memiliki kadar yang sama.

3.2.2 Keseragaman ukuran tablet merupakan salah satu parameter untuk mengamati diameter dan tebal tablet.

3.2.3 Kekerasan tablet merupakan salah satu parameter untuk mengetahui adanya interaksi antar komponen berupa keretakan pada tablet dan goncangan pada tablet.

3.2.4 Kerapuhan tablet merupakan salah satu parameter untuk mengetahui kekuatan pada tablet yang mengalami benturan mekanik selama proses pembuatan tablet.

3.2.5 Waktu hancur tablet merupakan salah satu parameter untuk mengetahui waktu yang digunakan tablet untuk bisa hancur sempurna.

3.2.6 Disolusi tablet merupakan salah satu parameter untuk mengetahui kecepatan kelarutan tablet secara sempurna.

3.3 Liquid medication yaitu obat yang tidak larut dalam air, yang kemudian didispersikan dalam pelarut *non-volatile*.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu mesin pencetak tablet *single punch*, *stopwatch*, *tumbler*, *flow tester* granul, *moisture balance*, *hardness tester*, *friabilator tester*, *disintegration tester*, *dissolution tester*, spektrofotometer UV, pengayak no.16, pengayak no.18, corong, jangka sorong, timbangan analitik, mortir, stamper, kertas saring, dan berbagai peralatan gelas (labu tentukur, gelas ukur, pipet volum, dan batang pengaduk), biuret.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nifedipin, PEG 400, laktosa, HDK Wacker N20, avicel pH-102, SSG, Mg Stearat, *aquadest*, metanol, natrium lauril sulfat.

D. Jalannya Penelitian

1. Rancangan formula tablet *liquisolid* nifedipin

Perbandingan komposisi pelarut *non-volatile* PEG 400 dan laktosa sebagai *carrier material* setiap formula berbeda. Formula yang digunakan dalam pembuatan tablet cair nifedipin ditunjukkan pada tabel 5.

Tabel 5. Formula tablet *liquisolid* nifedipin

Bahan	Formula (mg)			
	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4
Nifedipin	10	10	10	10
PEG 400	0	16	22	28
Laktosa	91	75	69	63
Aerosil	1	1	1	1
Avicel PH-102	92	92	92	92
SSG	4	4	4	4
Mg Stearat	2	2	2	2
Total	200	200	200	200

Keterangan :

Formula 1 : formula kontrol

Formula 2 : PEG 400 17,6% dan laktosa 82,4%

Formula 3 : PEG 400 24,2% dan laktosa 75,8%

Formula 4 : PEG 400 30,8% dan laktosa 69,2%

2. Pembuatan sediaan tablet *liquisolid*

Pembuatan serbuk *liquisolid* dengan cara semua bahan ditimbang sesuai dengan kebutuhan. Kemudian pelarut PEG 400 dan nifedipin dimasukkan ke dalam mortar dan diaduk hingga membentuk suspensi yang homogen, selanjutnya ditambahkan laktosa dan diaduk hingga membentuk massa serbuk yang baik (elastis). Massa serbuk diayak menggunakan ayakan mesh no.16. Keringkan massa serbuk pada oven dengan suhu 30°C. Setelah kering serbuk diayak menggunakan ayakan mesh no.18.

Serbuk yang telah diayak kemudian ditambahkan Avicel PH-102 dan SSG, aduk hingga rata dan dimasukkan ke dalam tumbler selama 15 menit. Bahan campuran tersebut ditambahkan aerosil dan mg stearat dicampur didalam tumbler selama 5 menit. Selanjutnya serbuk tersebut diuji sifat alirnya kemudian dikempa menjadi tablet dengan berat 200 mg/tablet. Tablet tersebut kemudian dilakukan evaluasi sifat fisik tablet dan profil disolusinya.

3. Evaluasi mutu sifat alir serbuk *liquisolid*

3.1 Uji waktu alir dan sudut diam. Sejumlah serbuk nifedipin ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan kedalam corong, melewati tepi corong dengan ujung tangkai tertutup. Buka bagian penutupnya dan granul dibiarkan mengalir sampai habis. Dengan menggunakan *stopwatch* waktu alirnya dicatat dari saat dibuka sampai seluruh serbuk keluar. Untuk mengetahui sudut diamnya, digunakan jangka sorong untuk mengukur diameter dan tinggi serbuk (Sulaiman, 2007).

3.2 Penentuan Loss On Drying (LOD). Siapkan alat *moisture balance*, tekan tombol on/off untuk menghidupkan, tekan tombol thermometer untuk mengatur suhu pada 105°C, tekan tombol jam untuk mengatur secara otomatis. Lalu masukkan granul kedalam neraca timbang dan timbang sebanyak kurang lebih 2 gram, alat ditutup. Setelah itu tekan tombol untuk mengaktifkan, tunggu hingga layar menunjukkan angka terjadinya penurunan berat sampel. Pengukuran berhenti ditandai dengan bunyi alarm. Kemudian tekan tombol (%) untuk mengetahui presentase kadar air yang terukur (Siregar dan Wikarsa, 2010).

4. Evaluasi mutu fisik tablet *liquisolid*

4.1 Keseragaman kandungan.

4.1.1 Pembuatan larutan induk. Menimbang dengan saksama 50 mg nifedipin, kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 50 ml tambahkan metanol sampai tanda batas dan kocok hingga homogen, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, larutan ini disebut larutan induk 1. Dari larutan induk 1 dipipet 5 ml masukkan kedalam labu tentukur 50 ml, kemudian encerkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (larutan induk baku 2) (Khoirunnisa, 2018).

4.1.2 Penentuan panjang gelombang maksimal. Dipipet 3,5 ml larutan induk 2 dan dimasukkan kedalam labu tentukur 25 ml, ditambahkan dengan larutan metanol sampai tanda batas dan dihomogenkan, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 14 $\mu\text{g}/\text{ml}$. kemudian dibaca dengan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 200-400 nm (Khoirunnisa, 2018).

4.1.3 Penetapan *operating time*. Dipipet 2 ml larutan induk nifedipin dan dimasukkan kedalam labu tentukur 25 ml, ditambahkan dengan larutan metanol sampai tanda batas dan dihomogenkan, Larutan kemudian ditempatkan dalam kuvet dan dibaca pada panjang gelombang maksimum mulai dari 0 hingga 60 menit sampai diperoleh nilai absorbansi yang stabil.

4.1.4 Pembuatan kurva kalibrasi. Dipipet dari larutan induk 2 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 ml masing-masing kedalam labu tentukur 25 ml, tambahkan metanol sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen. Diperoleh larutan dengan konsentrasi 4, 6, 8, 10, 12 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum dan *operating time* yang diperoleh, sebagai blanko digunakan metanol (Khoirunnisa, 2018).

4.1.5 Penentuan keseragaman kandungan. Sebanyak 10 tablet digerus satu persatu, lalu masukkan kedalam labu tentukur 100 ml, tambahkan metanol sampai tanda batas. Selanjutnya larutan disonorifikasi selama 10 menit dan dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Kemudian di pipet 5 ml masukkan kedalam labu tentukur 50 ml, kemudian encerkan dengan menggunakan metanol sampai tanda batas. Baca serapan dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum. Hasil

pembacaan serapan dihitung kadar dari tiap formula menggunakan persamaan kurva baku nifedipin dalam metanol (Kemenkes RI, 2014).

4.2 Keseragaman ukuran. Siapkan alat jangka sorong, ambil 20 tablet, lakukan pengukuran pada perbandingan diameter dan tebal tablet. Tablet yang baik mempunyai diameter tidak kurang dari $1\frac{1}{3}$ dan tidak lebih dari 3 kali tebal tablet (Kemenkes RI, 1979).

4.3 Uji kekerasan tablet. Siapkan alat *hardness tester*, ambil 6 tablet letakkan tablet dengan posisi tegak satu per satu. Atur jarak landasan dari baut pegas yang ada diatasnya sehingga tablet pada posisi berhimpit. Alat hardness tester akan bekerja dengan cara salah satu bagian dari alat bergerak maju untuk menghancurkan tablet hingga tablet pecah. Catat angka yang ditunjukkan pada skala kekerasan, kemudian hasilnya dirata-rata (Shinde *et al.*, 2010).

4.4 Uji kerapuhan tablet. Siapkan alat *friabilator tester*. Menentukan berat awal dengan cara mengambil 22 tablet, timbang 22 tablet dan catat hasil penimbangannya. Masukkan tablet ke dalam alat friabilator tester. Alat diputar 25x putaran atau selama 4 menit. Keluarkan tablet dari alat, bersihkan dari debu, kemudian timbang sebagai berat akhir. Hitung kerapuhan tablet menggunakan rumus selisih dari penimbangan awal dengan penimbangan akhir dikali 100 persen (Shinde *et al.*, 2010).

4.5 Waktu hancur tablet. Siapkan alat *disintegration tester*. Masukkan air ke dalam alat. Panaskan air pada suhu $37^{\circ}\pm0,2^{\circ}\text{C}$, masukkan 6 tablet pada alat penguji waktu hancur. Ketinggian air tidak kurang dari 15 cm, sampai tabung bergerak naik turun pada jarak 7,5 cm. Catat waktu hancur tiap-tiap tablet. Waktu hancur tablet dikatakan baik jika kurang dari 15 menit (Kemenkes RI, 2014).

5. Uji Disolusi

5.1 Pembuatan Larutan Natrium Lauril Sulfat 0,25%. Menimbang dengan saksama 2,5g natrium lauril sulfat, lalu masukkan kedalam labu ukur 1000 ml, kemudian tambahkan aquadest untuk melarutkan sampai tanda batas (Kemenkes RI, 2020).

5.2 Pembuatan Larutan Induk. Menimbang secara saksama kurang lebih 10 mg nifedipin, kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 10 ml dan dilarutkan dengan metanol kurang lebih 10% dari volume labu tentukur. Lakukan sonikasi selama 5 menit, kemudian tambahkan media natrium lauril sulfat 0,25% kedalam labu tentukur sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, larutan

ini disebut larutan induk baku 1. (Kemenkes RI, 2014). Dari larutan induk baku 1 dipipet 5 ml masukkan kedalam labu tentukur 50 ml, kemudian encerkan dengan media natrium lauril sulfat 0,25% sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (larutan induk baku 2) (Kemenkes RI, 2020).

5.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum. Dipipet 2 ml larutan baku induk dan dimasukkan kedalam labu tentukur 25 ml, diencerkan dengan larutan natrium lauril sulfat 0,25% sampai tanda batas dan dihomogenkan. kemudian dibaca dengan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 200-400 nm (Kemenkes RI, 2014).

5.4 Penetapan operating time. Dipipet 1 ml larutan induk nifedipin dan dimasukkan kedalam labu tentukur 25 ml, ditambahkan dengan larutan natrium lauril sulfat 0,25% sampai tanda batas dan dihomogenkan, Larutan kemudian ditempatkan dalam kuvet dan dibaca pada panjang gelombang maksimum mulai dari 0 sampai 60 menit sampai diperoleh nilai absorbansi yang stabil.

5.5 Pembuatan Kurva Baku. Dipipet 10 ml larutan induk, masukkan kedalam labu tentukur 100 ml. Kemudian encerkan dengan menggunakan larutan natrium lauril sulfat sampai konsentrasi larutan 100 ppm. Dari konsentrasi 100 ppm dibuat seri pengenceran dengan konsentrasi 4, 6, 8, 10, 12 ppm. Kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum dan *operating time* yang diperoleh (Wahyuni *et al.*, 2016).

6. Uji Disolusi Tablet

Pada pengujian disolusi digunakan metode tipe 2 yaitu dengan metode dayung dengan kecepatan 120 rpm. Uji disolusi tablet dilakukan dengan mengambil tablet nifedipin, lalu masukkan kedalam beaker glass yang berisi larutan natrium lauril sulfat yang berfungsi untuk media disolusi. Jarak gayung pengadukan yang digunakan yaitu $2,5 \pm 0,2$ cm, lalu pengadukan gayung diputar pada kecepatan 120 rpm. Suhu diatur $37^\circ \pm 0,5^\circ\text{C}$ dan volume yang digunakan untuk disolusi sebanyak 900 ml. Kemudian sampel obat nifedipin yang sudah mencapai waktu pelepasan medium lalu letakkan pada sinker dan dilakukan pengambilan waktu pada menit ke 5, 10, 15, 30, 45 dan menit ke 60 dilakukan pengambilan sebanyak 10 ml pada posisi yang ditentukan. Pada setiap saat pengambilan sampel harus diganti menggunakan volume yang sama (10 ml) menggunakan medium natrium lauril sulfat 0,25%. Setelah itu hasil serapan dari larutan yang

telah di uji dilakukan penetapan kadar dengan menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Kemenkes RI, 2020). Toleransi dalam waktu 1 jam harus larut tidak kurang dari 75% (Q) $C_{17}H_{18}N_2O_6$ dari jumlah yang tertera pada etiket (Kemenkes RI, 2020).

7. Validasi Metode Analisis

Metode validasi harus dilakukan terlebih dahulu, sebelum menganalisis sampel dari setiap formula. Validasi yang dilakukan meliputi linearitas, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ), presisi, dan akurasi.

7.1 Pembuatan larutan induk Nifedipin. Menimbang dengan saksama 50 mg nifedipin, kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 50 ml tambahkan metanol sampai tanda batas dan kocok hingga homogen, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, larutan ini disebut larutan induk baku 1. Dari larutan induk baku 1 dipipet 5 ml masukkan kedalam labu tentukur 50 ml, kemudian encerkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (larutan induk baku 2) (Khoirunnisa, 2018).

7.2 Linieritas dan rentang. Membuat 5 seri konsentrasi dari larutan baku nifedipin, dengan cara dipipet 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml, dan 3 ml dengan menggunakan biuret. Masukkan tiap sampel yang dipipet kedalam labu ukur 50 ml. Tambahkan metanol sampai tanda batas kemudian homogenkan. Kemudian baca absorbansi masing-masing sampel pada spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 200-400 nm dan dicatat hasilnya (Ramadhan & Musfiroh, 2021).

7.3 Batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ). Penentuan nilai LOD pada pendekatan ini dilakukan dengan membandingkan sinyal yang dihasilkan dari pengukuran analit pada sampel konsentrasi rendah dengan sinyal dari placebo (*noise signal*). LOD yaitu konsentrasi minimum yang menghasilkan rasio 3:1 dengan *noise signal* (Peris-Vicente *et al*, 2015). Cara menentukan nilai LOQ pada metode pendekatan sinyal ke noise dilakukan dengan memperbandingkan sinyal yang dihasilkan dari pengukuran sampel yang telah diketahui konsentrasi dengan sinyal dari placebo (kebisingan sinyal). LOQ adalah konsentrasi minimum yang menghasilkan nilai rasio 10:1 dengan kebisingan sinyal (Peris-Vicente *et al.*, 2015).

7.4 Precision (keseksamaan). Salah satu konsentrasi dari larutan kurva baku dimasukkan kedalam labu tentukur, dipipet 2 ml masukkan labu tentukur 50 ml tambahkan metanol sampai tanda batas. Dibuat 6 kali pengulangan sehingga total jumlahnya 6 labu tentukur, diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis, catat nilai absorbansinya. Analisis nilai presisi dengan menggunakan ms. Excel (Ramadhan & Musfiroh, 2021).

7.5 Accuracy (ketepatan). Membuat 3 seri konsentrasi yang berbeda dengan sampel yang masing-masing direplikasi sebanyak 3 kali, dengan cara dipipet 3 ml dari larutan baku dari masing-masing sampel dimasukkan kedalam labu tentukur 50 ml, tambahkan metanol hingga tanda batas. Kemudian dibuat 3 pengulangan dari setiap konsentrasi, sehingga total jumlahnya ada 9 labu tentukur, dibaca pada spektrofotometer UV-Vis, catat nilai absorbansinya. Analisis nilai akurasi dengan menggunakan ms. Excell (Ramadhan & Musfiroh, 2021).

E. Analisis Hasil

Analisis hasil pengujian parameter tertentu dilakukan dengan menggunakan 2 cara, cara yang pertama yaitu dengan pendekatan secara teoritis. Data yang diperoleh dari hasil percobaan yang meliputi waktu alir, sudut diam, dan uji sifat fisik tablet (keseragaman kandungan, keseragaman ukuran, kekerasan, kerapuhan, waktu hancur, dan disolusi), hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan literatur yang sesuai.

Cara yang kedua yaitu dengan pendekatan statistik. Hasil data sifat fisik yang didapat dianalisis menggunakan uji normalitas menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas dengan uji *Homogeneity of Variance Test*. Data yang terdistribusi normal dan homogen ($P>0,05$) dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA* pada taraf kepercayaan 95%. Sehingga diperoleh interaksi terhadap kombinasi PEG 400 sebagai pelarut *non-volatile* dan laktosa sebagai *carrier material*, dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey* untuk menentukan formula mana yang paling signifikan terhadap formula kontrol ($P<0,05$). Data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, data dianalisis menggunakan uji non parametrik dengan uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok eksperimen dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.