

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Pada penelitian ini digunakan populasi *fast disintegrating tablet* metoklopramid yang diformulasikan menggunakan cospovidon dan *sodium starch glycolate* sebagai superdisintegran.

Pada penelitian ini digunakan sampel *fast disintegrating tablet* metoklopramid yang dibuat dengan metode *spray-drying* maltodextrin dan sukralosa dengan metoklopramid yang divariasikan konsentrasi bahan penghancurnya yaitu cospovidon dan *sodium starch glycolate*.

B. Variabel Utama

1. Identifikasi variabel utama

Identifikasi variabel utama adalah aksi menetapkan variabel-variabel utama serta fungsi dari masing-masing variabel yang akan menjadi fokus dalam penelitian.

Variabel utama yang dimaksud dapat dikelompokkan menjadi tiga jenis variabel, yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali. Variabel bebas adalah variabel yang rencananya akan diteliti pengaruhnya pada variabel tergantung. Sedangkan variabel tergantung adalah fokus utama masalah yang akan diteliti pada penelitian dan variabel tergantung adalah variabel yang memiliki pengaruh terhadap kedua variabel sebelumnya sehingga penetapan kualifikasi harus dilakukan agar hasilnya tidak bias.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas pada penelitian ini adalah rasio kombinasi cospovidon dan SSG sebagai superdisintegran pada FDT metoklopramid.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah sifat fisik FDT metoklopramid antara lain kekerasan, kerapuhan, keseragaman kandungan, waktu hancur, profil disolusi, dan uji tanggap rasa.

Variabel kendali pada penelitian ini adalah metode pembuatan tablet yang meliputi waktu pencampuran, kecepatan pencampuran, kecepatan pemutaran *mixer*, besar tekanan yang digunakan saat pengempaan tablet, alat yang digunakan, serta profil disolusi dengan parameter suhu, intensitas pengujian, volume media, dan jenis media.

3. Definisi operasional variabel utama

FDT metoklopramid adalah sediaan tablet oral yang akan hancur kurang dari 1 menit setelah berkontak dengan saliva. Sediaan ini menggunakan kombinasi crospovidon dan SSG sebagai superdisintegran dan dibuat dengan metode kempa langsung.

Waktu alir adalah waktu yang diperlukan oleh 100 gram granul atau serbuk untuk mengalir melalui corong pengujian.

Kekerasan tablet adalah batasan untuk mengetahui daya tahan FDT pada proses produksi dan pengemasan karena sediaan FDT yang optimal harus menghasilkan tablet dengan kekerasan yang cukup tetapi memiliki waktu disintegrasi yang cepat.

Kerapuhan tablet adalah parameter ketahanan suatu tablet terhadap suatu gesekan dan getaran yang dapat mengikis dan mengurangi massa tablet.

Keseragaman sediaan adalah kesamaan jumlah zat aktif yang ada dalam suatu sediaan yang ditetapkan dengan salah satu metode dari dua metode yang ada yaitu keseragaman bobot dan keseragaman sediaan.

Waktu hancur adalah waktu yang diperlukan suatu tablet untuk hancur menjadi partikel halus yang lebih kecil.

Uji tanggap rasa adalah uji yang dilakukan pada sekelompok responden, bertujuan untuk mengetahui rasa sediaan ketika digunakan dan setelah digunakan (*aftertaste*). Data hasil pengujian tanggap rasa akan digunakan untuk mengevaluasi, memperbaiki, maupun meningkatkan rasa dari FDT agar dapat diterima baik oleh pasien yang menggunakannya.

Disolusi adalah larutnya obat pada waktu dan media tertentu untuk menjamin keefektifan obat yang diuji.

Kempa langsung adalah teknik pencetakan tablet dimana bahan aktif obat akan dicampur dengan eksipien yang sesuai lalu dilakukan pengempaan langsung tanpa adanya proses lain sebelumnya.

C. Alat dan Bahan

1. Alat dalam pembuatan FDT metoklopramid

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *spray dryer* (Buchi Mini Spray Dryer B-290), *tumbler*, mesin cetak tablet *single punch*, corong uji waktu alir granul, *disintegration tester* (Guoming Tipe BJ-2), *friability tester* (Distek Tipe DF-3), *hardness tester* (YD-1),

dissolution tester (Electrolab Tipe TDT-08L), HPLC (Aglient Technologies 1220 Infinity II Gradient LC System VL (G4290C)), neraca analitik (Ohrus), *beaker glass* (Pyrex), batang pengaduk.

2. Bahan dalam pembuatan FDT metoklopramid

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah metoklopramid (Graha Farma), manitol (Phapros), crospovidon (Phapros), *sodium starch glycolate* (Phapros), avicel PH 102 (Dexa Medica), maltodekstrin (Graha Farma), magnesium stearat, talk, kalium hydrogen pospat, natrium hidroksida, tetrametilamonium hidroksida, methanol, asam asetat glasial, *aquadestilata*, *methylene blue*.

D. Jalannya Penelitian

1. Pembuatan metoklopramid-manitol metode *spray-drying*

Pada penelitian ini digunakan perbandingan berat metoklopramid : maltodekstrin : sukralosa dengan rasio 1 : 2 : 0,1 dimana 10mg metoklopramid akan di *spray-drying* dengan 20mg maltodekstrin dan 1mg sukralosa untuk menutupi rasa pahit dari metoklopramid.

Kombinasi metoklopramid : maltodekstrin : sukralosa dengan rasio 1 : 2 : 0,1 kemudian dibuat suspensi berkonsentrasi 10% dengan pelarut aquades dan diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 30 menit. Hasil suspensi yang terbentuk kemudian dilakukan *spray-drying* pada suhu *inlet* 129°C dan suhu *outlet* 90°C (Kusumoringin & Adhyatmika, 2023).

Pada penelitian ini digunakan rasio yang sama dari masing-masing bahan yang dituangkan pada tabel berikut.

Tabel 2. Formula *spray drying* metoklopramid

Nama Bahan	Persentase (%)				
	F1	F2	F3	F4	F5
Metoklopramid	32,258	32,258	32,258	32,258	32,258
Maltodekstrin	64,516	64,516	64,516	64,516	64,516
Sukralosa	3,225	3,225	3,225	3,225	3,225
Total Persentase	100	100	100	100	100

2. Formula FDT metoklopramid

Pada penelitian ini akan dibuat 5 formula FDT metoklopramid berbobot 200 mg yang dituangkan pada tabel berikut

Tabel 3. Formula FDT metoklopramid dengan kombinasi crospovidon dan SSG sebagai superdisintegran

Nama Bahan	Persentase (%)				
	F1	F2	F3	F4	F5
Spraydrying metoklopramid	10	10	10	10	10
Crospovidon	5	3	2,5	2	0
SSG	0	2	2,5	3	5
Avicel PH 102	84	84	84	84	84
Talk	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Mg. stearat	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
Total Persentase	100	100	100	100	100

3. Identifikasi zat aktif metoklopramid

Identifikasi zat aktif metoklopramid dilakukan secara organoleptis untuk memvalidasi kebenaran zat yang digunakan, zat metoklopramid diamati pada parameter warna, bau, rasa dan kelarutannya terhadap air, etanol, kloroform, dan juga eter.

4. Pengujian hasil *spray-drying*

Hasil *spray-drying* metoklopramid dilakukan pengujian organoleptis melalui pengamatan pemerian, warna, bau, dan rasa dengan pancaindra, lalu dibandingkan dengan zat metoklopramid murni.

5. Pengujian fisik serbuk FDT

5.1 Uji sudut diam. Menimbang 100 gram serbuk campuran bahan baku FDT metoklopramid dan dimasukkan kedalam corong uji yang ujung tangkainya masih ditutup. Penutup dari ujung tangkai dibuka dan ditunggu hingga serbuk selesai mengalir, permukaan serbuk yang berbentuk kerucut diukur diameter dan ketinggiannya menggunakan penggaris lalu dicatat hasilnya. Data hasil pengujian dihitung menggunakan rumus sudut diam.

Sudut diam ditentukan dengan rumus dibawah ini

$$\tan Q = \frac{2h}{D} \dots\dots\dots(4)$$

Keterangan :

h = tinggi kerucut

D = diameter kerucut

Hasil dari perhitungan tersebut diinterpretasikan kedalam tabel hubungan antara nilai sudut diam dengan kemampuan mengalir serbuk (USP, 2020).

5.2 Uji waktu alir. Menimbang 100 gram serbuk campuran bahan baku FDT metoklopramid dan dimasukkan kedalam corong uji yang ujung tangkainya masih tertutup. *Stopwatch* disiapkan dan

dihidupkan bersamaan dengan dibukanya ujung tangkai penutup lalu dihentikan ketika serbuk selesai mengalir. Waktu alir serbuk dicatat dan dibandingkan dengan standar yang ada (USP, 2020).

6. Pembuatan FDT metoklopramid

Pembuatan FDT metoklopramid menggunakan metode kempa langsung, awalnya avicel PH 102 dan hasil *spray-drying* metoklopramid dimasukkan kedalam *tumbler*. Campuran tersebut dihomogenkan lalu ditambahkan crospovidon dan SSG. Selanjutnya serbuk di-*tumbling* selama 10 menit. Massa serbuk yang sudah dihomogenkan kemudian ditambahkan dengan magnesium stearat dan talk sebagai pelicin lalu dihomogenkan kembali selama 1 menit. Semua campuran serbuk FDT kemudian dikempa langsung dengan bobot tablet 200 mg (Purnamasari & Saputra, 2019).

7. Pengujian mutu FDT metoklopramid

7.1 Uji kekerasan. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing 20 tablet dari setiap formula, lalu mengujinya menggunakan alat *hardness testet* hingga tablet pecah dan menunjukkan angka kekerasan (KemenKes RI, 2020).

7.2 Uji kerapuhan. Pengujian dilakukan dengan cara menimbang sejumlah tablet dari masing-masing formulasi hingga beratnya ± 6.500 mg atau 6,5 gram. Tablet yang telah ditimbang diuji menggunakan *friability tester* selama 4 menit dengan kecepatan 25 rpm. Setelahnya tablet dibersihkan dari debu dan ditimbang kembali, data hasil penimbangan dihitung menggunakan rumus % kerapuhan (KemenKes RI, 2020).

7.3 Verifikasi metode

7.3.1 Penyesuaian sistem HPLC. Sistem HPLC disesuaikan dengan ketentuan yang ada pada Farmakope Indonesia Edisi VI yaitu dilengkapi dengan detektor UV dan kolom berukuran 4,6 mm x 25 cm yang didalamnya telah diisi dengan fase gerak, laju alir yang digunakan adalah kurang lebih 1,5 mL per menit.

7.3.2 Pembuatan fase gerak. Aquades sebanyak 500 ml dan 500 ml asetonitril kemudian disaring, dan disonikasi agar gelembung menghilang.

7.3.3 Pembuatan larutan induk metoklopramid. Metoklopramid murni ditimbang seksama sebanyak 10 mg lalu dimasukkan kedalam labu takar 100 mL dan ditambahkan dengan asam fosfat 0,01 M hingga tanda batas lalu dihomogenkan. Sebanyak 1 mL

dari larutan tersebut dipipet dan dimasukkan kedalam labu takar 10 mL lalu ditambahkan dengan asam fosfat 0,01 M hingga tanda batas kemudian dihomogenkan, sehingga didapatkan larutan metoklopramid dengan konsentrasi 10 ppm.

7.3.4 Penentuan luas area baku metoklopramid. Larutan induk metoklopramid dengan konsentrasi 10 ppm diinjeksikan kedalam HPLC sebanyak 20 μ L dan dibaca pada panjang gelombang 306 nm.

7.3.5 Pembuatan kurva baku metoklopramid. Larutan baku metoklopramid berkonsentrasi 100 ppm diencerkan hingga menjadi seri pengenceran 8, 10, 12, 16, dan 24 ppm. Masing-masing difilter menggunakan penyaring 0,45 μ m lalu diinjeksikan dalam HPLC sebanyak ± 20 μ L dan dibaca pada panjang gelombang maksimum sehingga dihasilkan luas area. Perhitungan dilakukan dengan cara mengeplotkan luas area vs kadar sehingga dihasilkan persamaan regresi linier dan nilai kolerasinya.

7.3.6 Linieritas. Linieritas ditentukan dari hasil persamaan kuva absorbansi dengan konsentrasi. Pada penelitian ini digunakan larutan metoklopramid pada konsentrasi 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 16 ppm, dan 24 ppm yang sudah difilter dengan penyaring 0,45 μ m, disonikasi 5 menit, lalu diinjeksikan pada HPLC dan dibaca pada panjang gelombang yang sesuai. Hasil persamaan dibuat kurva dan dihitung nilai a, b, dan r. Linieritas yang ideal menunjukkan nilai r 0,999 (KemenKes RI, 2020).

7.3.7 Akurasi. Penentuan akurasi ditentukan dengan cara membandingkan sejumlah analit murni dengan analit yang telah bercampur dengan placebo. Metoklopramid ditimbang sebanyak 10 mg lalu diencerkan dengan 100 ml aquades hingga menghasilkan konsentrasi 100 ppm, dari konsentrasi tersebut diambil 3 volume sampel yaitu 5, 10, dan 15 mL. Ketiga volume tersebut masing masing ditambahkan larutan placebo sebanyak 1 ml dalam labu takar 25 mL lalu ditambahkan aquades hingga tanda batas dan difilter menggunakan penyaring 0,45 μ m lalu disonikasi selama 5 menit. Hasil larutan diinjeksikan kedalam HPLC sebanyak ± 20 μ L lalu direkam pada panjang gelombang maksimum metoklopramid dan diukur respon puncak utama.

Nilai akurasi ditunjukkan oleh nilai penerimaan kembali yang dihitung menggunakan rumus dibawah ini.

$$\% \text{ Penerimaan kembali} = \frac{(CF - CA)}{C \times A} \times 100\% \dots \dots \dots (8)$$

Keterangan :

CF = konsentrasi total sampel yang diperoleh dari pengukuran

CA = konsentrasi sampel sebenarnya

C x A = konsentrasi analit yang ditambahkan

Presentase kadar perolehan kembali yang baik berada pada rentang 95%-105% (KemenKes RI, 2020).

7.3.8 Presisi. Tingkat presisi diperlukan untuk memverifikasi bahwa pengujian akan menghasilkan nilai yang konsisten. Metoklopramid ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam aquades 100 ml hingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan tersebut kemudian dipipet sebanyak 4 ml lalu dimasukkan kedalam labu takar 25 ml dan ditambahkan larutan placebo sebanyak 1 ml lalu ditambahkan aquades hingga tanda batas. Hasil dari larutan tersebut difilter dengan saringan 0,45 μL dan disonikasi selama 5 menit, lalu dibaca pada panjang gelombang maksimum metoklopramid dan diukur respon puncak utama panjang gelombang maksimal metoklopramid. Pengujian ini direplikasi sebanyak 7 kali.

Beberapa parameter yang diperlukan dalam pengujian ini adalah simpangan baku dan simpangan baku relatif (RSD). Cara penentuan nilai simpangan baku menggunakan rumus dibawah ini.

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \dots\dots\dots(9)$$

Keterangan :

S = simpangan baku

Σ = symbol total penjumlahan

X = nilai masing-masing sampel

$\bar{X}$ = rata-rata sampel

n-1 = derajat kebebasan

Koefisien variasi adalah rasio standar deviasi terhadap rata-rata, nilai koefisien variasi (cv) dinyatakan dalam rumus dibawah ini.

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \dots\dots\dots(10)$$

Keterangan :

CV = koefisien variasi

SD = standar deviasi

$\bar{X}$ = rata-rata

Nilai koefisien variasi yang baik adalah kurang dari sama dengan 2% (Rasmi, 2023).

7.3.9 Spesifisitas. Mengacu pada pedoman ICH, spesifisitas merupakan kemampuan metode untuk menilai analit secara tegas meskipun

terdapat komponen lain seperti impuritas, produk degradasi, maupun matriks sampel. Pengujian ini dilakukan dengan cara menginjeksikan larutan baku dan larutan sampel secara bergantian pada HPLC. Keduanya kemudian direkam pada panjang gelombang 306 nm hingga muncul waktu retensi beserta luas area dari masing-masing sampel. Dalam analisis kuantitatif, spesifisitas dibuktikan melalui tidak adanya interferensi dari impuritas maupun bahan tambahan. Pembuktian secara eksperimental dilakukan dengan metode *spiking*, yaitu menambahkan sejumlah eksipien atau cemaran ke dalam sampel obat. Metode dianggap spesifik apabila akurasi hasil penetapan kadar tidak terganggu oleh keberadaan zat-zat asing tersebut (Kemenkes, 2020).

7.4 Uji keseragaman kandungan. FDT metoklopramid diambil sebanyak 10 tablet lalu masing-masing digerus dan dimasukkan dalam labu takar 100 mL kemudian ditambahkan dengan aquades sebanyak 70 mL. Larutan tersebut disonikasi selama 5 menit lalu ditambahkan dengan aquades hingga tanda batas dan disaring menggunakan penyaring 0,45 µm, hasil penyaringan pertama dibuang. Larutan yang telah disaring kemudian dipipet 1 ml dan diencerkan dalam labu takar 10 mL menggunakan aquades hingga tanda batas.

Larutan uji dan larutan baku diinjeksikan kedalam HPLC secara terpisah dengan volume ± 20 µL lalu direkam pada panjang gelombang maksimum metoklopramid dan diukur respon puncak utama. Presentase metoklopramid dihitung menggunakan rumus regresi linier untuk mengetahui kandungan metoklopramid pada tiap tablet.

$$\frac{C.Reg \times V \times FP}{Berat sampel} \times 100\% \dots \dots \dots (5)$$

Keterangan :

C Reg = *contentration of regression* (ppm)

V = Volume pelarutan awal sampel (ml)

Fp = Faktor pengenceran

Berat sampel= Berat sampel metoklopramid tertimbang (mg)

7.5 Uji Disolusi. Pengujian disolusi dilakukan menggunakan alat disolusi tester tipe keranjang dengan media disolusi 900 ml aquades dan kecepatan 50 rpm selama 30 menit. Pengambilan sampel disolusi sebanyak 10 ml dilakukan dalam interval waktu 15 detik, 30 detik, 1 menit, 15 menit, dan 30 menit dengan pergantian media disolusi baru sebanyak 10 mL. Sampel disolusi yang telah diambil kemudian disaring dengan penyaring 0,45 µm dan disonikasi selama 5 menit. Hasil larutan diinjeksikan kedalam HPLC sebanyak ± 20 µL

lalu direkam pada panjang gelombang maksimum metoklopramid dan diukur respon puncak utama (DepKes RI, 2020).

7.6 Uji tanggap rasa. Pengujian ini dilakukan kepada 20 orang responden yang masing-masing diberikan satu tablet FDT metoklopramid. Selanjutnya responden diminta untuk mencoba FDT tersebut lalu memberika tanggapan terhadap rasa tablet saat berada di lidah (Sari & Setiyadi, 2024).

7.7 Uji waktu hancur.

7.7.1 Uji waktu hancur *in vitro*. Pengujian ini dilakukan menggunakan 6 tablet dari masing-masing formula yang dimasukkan satu per satu dalam tabung alat *disintegrating tester*. Selanjutnya alat dijalankan selama 3 menit, keranjang diangkat dan diamati apakah masih ada tablet yang belum terlarut serta diamati bagaimana mekanisme pengancuran dari masing-masing tablet (KemenKes RI, 2020).

7.7.2 Uji waktu hancur *in vivo*. Pengujian ini melibatkan 20 responden yang masing-masing diberikan 1 FDT dari tiap-tiap formula untuk dimasukkan dalam mulut dan dihitung waktu hancurnya menggunakan *stopwatch*.

7.8 Uji waktu pembasahan. Pengujian ini dilakukan dengan cara mencampurkan 5 ml aquades dengan zat warna lalu dimasukkan kedalam *beaker glass*. Selanjutnya kertas saring dilipat menjadi dua bagian dan FDT diletakkan diatasnya untuk dimasukkan kedalam *beaker glass* yang telah berisi air warna. Waktu yang dibutuhkan tablet untuk berubah warna seluruhnya dicatat sebagai data uji waktu pembasahan (Kamalia *et al.*, 2023).

E. Metode Analisis Data

Lima formula yang telah ditetapkan dilakukan pengujian fisik FDT metoklopramid terhadap kekerasan, kerapuhan, keseragaman kandungan, waktu hancur, waktu pembasahan, dan disolusi. Data yang dihasilkan akan dianalisis dengan 2 pendekatan, yaitu:

1. Membandingkan data yang diperoleh dari hasil pengujian dengan persyaratan yang ditetapkan oleh Farmakope Indonesia Edisi VI dan literatur yang lain.
2. Menganalisis data yang diperoleh dari hasil pengujian dengan Uji *Kolmogorov-smirnov* atau Uji *Saphiro-Wilk* untuk mengetahui distribusi data, apabila data terdistribusi normal maka data akan dianalisis denga Uji *One-way analysis of variance* (ANOVA)

dengan taraf kepercayaan 95% tetapi apabila data tidak terdistribusi normal maka analisis dilanjutkan dengan *Kruskal Wallis*.