

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi merupakan keseluruhan subjek atau objek yang memiliki ciri-ciri tertentu sesuai dengan kriteria yang telah ditetapkan oleh peneliti, yang menjadi fokus untuk dipelajari dan dianalisis guna memperoleh kesimpulan. Populasi dalam penelitian ini adalah sediaan tablet campuran interaktif ramipril ukuran *host* 30/40 dengan proposi kombinasi magnesium stearat dan talk.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang dipilih untuk dijadikan objek penelitian dan dianggap dapat mewakili keseluruhan populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan tablet campuran interaktif ukuran *host* 30/40 dengan proposi kombinasi Mg stearat dan talk yaitu F1 (1,5:2,5), F2 (3:1), F3 (3:1), F4 (2:2), F5 (2,5:1,5), F6 (1:3).

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah proporsi Mg stearat dan talk dalam formula tablet campuran interaktif Ramipril ukuran *host* 30/40 serta macam-macam pengujian mutu fisik dan disolusi tablet.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama dapat diklasifikasikan menjadi beberapa bagian yaitu variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung. Variabel bebas yaitu variabel yang berpengaruh dan merupakan penyebab munculnya variabel lain. Pada penelitian ini yang merupakan variabel bebas adalah Mg stearat dan talk dengan kombinasi F1 (1,5:2,5), F2 (3:1), F3 (3:1), F4 (2:2), F5 (2,5:1,5), F6 (1:3) dalam sediaan tablet.

Variabel terkontrol adalah variabel yang dijaga tetap konstan atau tidak berubah selama sebuah percobaan atau penelitian untuk memastikan bahwa hasil yang diperoleh hanya dipengaruhi oleh variabel yang dimanipulasi (variabel bebas), bukan oleh faktor-faktor lain yang mungkin ikut memengaruhi. Variabel terkontrol dalam

penelitian ini yaitu konsentrasi Ramipril sebagai zat aktif, ukuran partikel *host* (30/40 *mesh*), metode pembuatan tablet (seperti tekanan kompresi dan waktu pencampuran), kondisi lingkungan (suhu dan kelembaban), serta penggunaan peralatan dan instrumen yang sama dan terkalibrasi.

Variabel tergantung adalah variabel yang diukur atau diamati dalam penelitian untuk melihat pengaruh variabel bebas. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah mutu fisik dan disolusi dari tablet campuran interaktif Ramipril yang dikombinasikan dengan Mg stearat dan talk.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Campuran interaktif adalah campuran di mana obat berukuran mikron menempel pada permukaan partikel pembawa (*host*) yang berukuran lebih besar

Mg stearat adalah bahan pelicin (lubrikan) yang dapat mengurangi gesekan antara partikel serbuk dan permukaan alat cetak, sehingga memperlancar proses pencetakan tablet serta mencegah serbuk menempel pada alat.

Talk adalah glidan (*glidant*), yaitu bahan tambahan yang membantu meningkatkan aliran serbuk selama proses pencetakan tablet.

Proporsi Mg stearat dan talk yang diformulasikan ke dalam sediaan tablet ramipril sebesar F1 (1,5:2,5), F2 (3:1), F3 (3:1), F4 (2:2), F5 (2,5:1,5), F6 (1:3).

Ukuran *host* 30/40 adalah *host* yang berisi amilum dan laktosa (1:1) sebagai *filler-binder* dalam formulasi tablet ramipril di mana granul lolos pada ayakan nomor 30 dan tidak lolos pada ayakan *mesh* nomor 40.

Kekerasan adalah uji mutu fisik tablet yang mencerminkan kekuatan pada seluruh tablet. Kekerasan diukur dengan cara memberikan tekanan pada diameter tablet.

Kerapuhan adalah uji mutu fisik tablet yang mengukur ketahanan pada permukaan tablet saat terjadi gesekan selama proses pengemasan, penyimpanan, dan distribusi.

Waktu hancur adalah uji mutu fisik tablet yang menunjukkan berapa lama tablet memerlukan waktu untuk hancur dalam media air.

Uji disolusi adalah uji mutu fisik tablet yang menunjukkan berapa kadar obat yang terlarut dalam medium air suling. Uji ini

mengukur seberapa efisien tablet melepaskan obat kedalam sistem pencernaan.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Pada penelitian ini alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat gelas, neraca analitik (*Adventur Pro Ohaus*), Labu ukur (*Pyrex*), Ayakan *mesh* nomor 16, 30 dan 40, mortir dan stemper, oven, *cube mixer*, *stopwatch*, *hardness tester*, *Friability tester*, *Disintegration tester*, Spektrofotometer UV-Vis (*Hitachi U- 2900*), *Dissolution tester* (*USP TDT 08L*), *Tapping device*, dan mesin pencetak tablet (*single punch*).

2. Bahan

Pada penelitian ini bahan yang digunakan adalah ramipril sebagai bahan aktif, laktosa, amilum, polivinilpirolidon (PVP), explotab, Avicel PH 102, Mg stearat, Talk, metanol *pa*, dan asam hidroklorida 0,1 N.

D. Jalannya Penelitian

1. Penyiapan sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah bahan aktif serbuk ramipril sebagai antihipertensi.

2. Rumus formula tablet

Pembuatan formula sediaan tablet menggunakan *software Design Expert versi 13* dengan mengkombinasi Mg stearat dan talk.

Tabel 3. Range Mg stearat dan talk.

Komponen	Range (%)	
	<i>Low</i>	<i>High</i>
Mg stearat	0,5	2
Talk	0,5	2

Tabel 4. Hasil dari software Simplex Lattice Design

Komponen	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	Run 6
Mg Stearat	0,75%	1,5%	1,5%	1%	1,25%	0,5%
Talk	1,25%	0,5%	0,5%	1%	0,75%	1,5%

Tabel 5. Formula tablet Ramipril

Formula	F1 (mg)	F2 (mg)	F3 (mg)	F4 (mg)	F5 (mg)	F6 (mg)	Keterangan
Ramipril	5	5	5	5	5	5	Bahan aktif
PVP	10	10	10	10	10	10	Pengikat
Explotab	6	6	6	6	6	6	Penghancur
Amilum+laktosa (1:1)	160	160	160	160	160	160	Pengisi
Avicel PH 102	15	15	15	15	15	15	Pengisi
Mg stearat	1,5	3	3	2	2,5	1	Pelicin
Talk	2,5	1	1	2	1,5	3	Pelicin
Bobot	200	200	200	200	200	200	

Keterangan:

F1 : Mg stearat : Talk (1,5:2,5)

F2 : Mg stearat : Talk (3:1)

F3 : Mg stearat : Talk (3:1)

F4 : Mg stearat : Talk (2:2)

F5 : Mg stearat : Talk (2,5:1,5)

F6 : Mg stearat : Talk (1:3)

3. Pembuatan granul /Host

Menimbang bahan amilum dan laktosa sesuai dengan kebutuhan. Kemudian masukkan amilum laktosa (1:1) dan explotab ke dalam mortir untuk dicampur lalu tambahkan PVP yang dilarutkan dengan *aquadest* hingga terbentuk massa granul. Setelah itu, ayak massa granul yang telah diperoleh dengan ayakan *mesh* nomor 16. kemudian granul dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50° selama kurang lebih 1 jam. Setelah granul kering pada proses pengeringan, tahap terakhir yang dilakukan yaitu mengayak kembali granul dengan menggunakan ayakan *mesh* nomor 30/40 (Kuncahyo, 2009).

4. Proses pencampuran interaktif

Serbuk ramipril ditambahkan secara bertahap ke dalam *host* (amilum:laktosa) menggunakan teknik pencampuran interaktif dalam *cube mixer* (20 rpm) hingga diperoleh campuran homogen (CV < 5%) selama satu jam. Untuk mengetahui sampel sudah homogen, sampel dilakukan evaluasi mengambil 20 sampel secara acak bagian tengah, kanan, kiri, atas dan bawah dengan masing- masing sampel diambil sebesar 100 mg sesuai bobot tablet. Sampel dilarutkan dalam metanol kemudian menentukan kandungan obat menggunakan spektrofotometer Hitachi 150-20 setiap interval 30 menit hingga (CV < 5%). Bahan pelicin kombinasi Mg stearat dan talk ditambahkan ke dalam campuran interaktif biner yang telah homogen, lalu seluruh campuran diaduk menggunakan *cube mixer* pada kecepatan 20 rpm selama 5 menit sesuai variasi komposisi masing-masing formula (Kuncahyo & Choiri, 2014).

5. Evaluasi mutu fisik granul

5.1 Uji waktu alir. Dilakukan dengan menggunakan metode corong. Menimbang sebanyak 100 gram granul. Kemudian granul dimasukkan ke dalam corong dengan ujung tangkai tertutup. Setelah tertutup kemudian dibuka dan granul dibiarkan mengalir sampai habis. Nyalakan *stopwatch* untuk mencatat berapa lama granul membutuhkan waktu untuk mengalir sampai habis (Puspitasari & Kuncahyo, 2019).

5.2 Uji sudut diam. Sebanyak 100 gram granul dimasukkan secara perlahan melalui lubang di bagian atas wadah yang bagian bawahnya masih tertutup. Setelah seluruh granul masuk ke dalam wadah, penutup bagian bawah dibuka untuk memungkinkan serbuk mengalir keluar dan membentuk kerucut. Selanjutnya, tinggi serta diameter kerucut diukur. Proses ini dilakukan sebanyak tiga kali untuk memastikan konsistensi hasil pengukuran. Sudut diam dihitung menggunakan rumus $\tan \alpha = h/r$, di mana α merupakan sudut diam, h menunjukkan tinggi kerucut, dan r merupakan jari-jari alas kerucut. Sudut diam yang mendekati 25° menunjukkan sifar alir yang baik (Husni *et al.*, 2020).

5.3 Uji Pengetapan. Penentuan indeks pengetapan dilakukan dengan memasukkan 50 gram serbuk (granul) ke dalam gelas ukur, lalu mencatat volume awalnya. Setelah itu, gelas ukur diketuk secara manual sebanyak 100 kali hingga volume granul menjadi stabil. Volume akhir granul kemudian dicatat untuk melihat perubahan yang terjadi. Granul yang memiliki indeks pengetapan di bawah 20% dianggap memiliki karakteristik aliran yang baik (Soemarie *et al.*, 2017).

6. Pembuatan tablet

Tablet ramipril dibuat dari berbagai formula berdasarkan formula yang telah dibuat. Perbedaan formula berdasarkan perbedaan kombinasi Mg stearat dan talk yang digunakan 6 formula yaitu F1 (1,5:2,5), F2 (3:1), F3 (3:1), F4 (2:2), F5 (2,5:1,5), F6 (1:3) dengan ukuran *host* 30/40. Campuran interaktif ramipril amilum-laktosa (1:1) dengan kombinasi bahan pelicin proposi Mg stearat dan talk dikempa langsung menjadi tablet dengan berat 100 mg serta kekerasan yang sama (Puspitasari & Kuncahyo, 2019).

7. Pemeriksaan sifat fisik tablet

Pemeriksaan sifat fisik tablet meliputi keseragaman kandungan, kekerasan tablet, kerapuhan tablet, dan waktu hancur.

7.1 Kekerasan tablet. Uji kekerasan tablet ini menggunakan alat bernama *hardness tester*. Proses menggunakan 5 tablet campuran interaktif ramipril, tablet dimasukkan ke dalam alat kemudian diputar knop spiralnya hingga bagian bebannya menekan tablet sampai hancur dan didapatkan angka atau nilai kekerasan tablet tersebut. Kekerasan minimum yang sesuai untuk tablet adalah sebesar 4 kg⁴ (Sutomo *et al.*, 2020).

7.2 Kerapuhan tablet. Untuk uji kerapuhan, menimbang tablet dengan bobot seluruh tablet sebesar 6,5 g lalu di bersihkan dari debu, lalu dimasukkan ke dalam alat *friabilitas*. Alat dijalankan selama 4 menit dengan total 100 putaran (setara dengan 25 rpm). Setelah pengujian, tablet kembali dibersihkan dari partikel halus yang menempel. Tablet dinyatakan memenuhi syarat apabila nilai kerapuhannya $\leq 1\%$ (Hidayati *et al.*, 2020).

7.3 Waktu hancur. Pengujian dilakukan pada 6 tablet, di mana masing-masing tablet dimasukkan ke dalam tabung terpisah pada keranjang alat *disintegration tester*. Air bersuhu $37 \pm 2^\circ\text{C}$ digunakan sebagai media pengujian. Setelah proses selesai, setiap tablet diamati untuk memastikan bahwa semuanya hancur sempurna, dan waktu hancurnya dicatat (Ulfa *et al.*, 2018).

8. Pengujian keseragaman kandungan dan penetapan kadar tablet ramipril

Untuk pengujian keseragaman kandungan dan penetapan kadar tablet ramipril di butuhkan pembuatan larutan induk, penentuan λ max, *operating time*, dan pembuatan kurva baku dengan metode UV-Visible.

8.1 Pembuatan larutan induk. Menimbang sebanyak 10 mg ramipril, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Setelah itu, ditambahkan metanol *pa* sampai tanda batas dihasilkan 100 ppm (Kumar *et al.*, 2020).

8.2 Penetapan panjang gelombang maksimum (λ max). Sebanyak 2 mL larutan induk diambil menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 10 mL, kemudian ditambahkan metanol hingga mencapai tanda batas untuk menghasilkan larutan dengan konsentrasi 20 ppm. Setelah itu, larutan tersebut dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada rentang panjang gelombang maksimum 200–300 nm (Kumar *et al.*, 2020).

8.3 Penetapan *operating time* ramipril. Absorbansi larutan induk ramipril diukur pada panjang gelombang maksimum, dimulai

dari menit ke-0 hingga waktu tertentu, sampai diperoleh nilai absorbansi yang konstan.

8.4 Penentuan kurva baku. Pengenceran dilakukan untuk memperoleh konsentrasi 5,2 ppm; 6,24 ppm; 8,32 ppm; 10,4 ppm dan 12,48 ppm. Masing-masing volume larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur, kemudian diencerkan dengan metanol *pa* hingga mencapai tanda batas. Selanjutnya, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum ramipril dalam rentang 200–300 nm (Rusli *et al.*, 2023).

8.5 Keseragaman kandungan tablet. Sebanyak 10 tablet ditimbang satu per satu, lalu dihancurkan masing-masing tablet hingga menjadi serbuk halus dan homogen. Serbuk masing-masing tablet tersebut kemudian dilarutkan ke dalam labu ukur 50 mL, dan volume ditambahkan dengan metanol *pa* hingga mencapai tanda batas. Selanjutnya, sebanyak 1 mL larutan diambil menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, lalu diencerkan kembali dengan metanol *pa* hingga volume mencapai tanda batas. Larutan dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UV dan menggunakan kurva kalibrasi untuk menghitung kadar ramipril dari data serapan. Kadar yang di dapat dihitung nilai SD (*standar deviasi*) untuk menentukan M kasus dan mencari N keberterimaan (Taufikurrahmi *et al.*, 2017).

8.6 Penetapan kadar tablet ramipril. Sebanyak 10 tablet di timbang satu per satu, kemudian 10 tablet di gerus menjadi satu hingga menjadi serbuk halus dan homogen. Kemudian di hitung rata-rata bobot 10 tabet untuk mengetahui berapa serbuk yang harus di timbang agar setara dengan 5 mg ramipril. Serbuk yang sudah di timbang dilarutkan ke dalam labu ukur 50 mL, lalu di tambahkan dengan metanol *pa* sampai tanda batas. Selanjutnya, sebanyak 1 mL larutan di ambil menggunakan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, lalu diencerkan dengan metanol *pa* sampai tanda batas. Larutan dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UV dan menggunakan kurva kalibrasi untuk menghitung kadar ramipril dari data serapan (Kumar *et al.*, 2020).

9. Uji profil disolusi tablet ramipril

Tablet ramipril diletakan ke dalam labu disolusi. Kemudian pengaduk dayung diatur pada 100 rpm dengan jarak 2,5 cm dari dasar, dan 900 mL medium disolusi yaitu HCl 0,1 N ke dalam labu disolusi.

Suhu selama percobaan dijaga dalam suhu rentang $37 \pm 0,5$ °C. Ambil 10 mL sampel pada menit ke-5, 10, 15, dan 30. Setiap kali sampel diambil, media disolusi digantikan dengan larutan baru yang memiliki volume dan suhu yang sama. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum ramipril dan dilakukan sebanyak tiga kali untuk memastikan konsistensi data (Syed *et al.*, 2011).

9.1 Pembuatan larutan induk. Menimbang sebanyak 10 mg ramipril, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Setelah itu, ditambahkan HCl 0,1 N sampai tanda batas dihasilkan 100 ppm (Syed *et al.*, 2011).

9.2 Penetapan panjang gelombang maksimum (λ max). Sebanyak 1 mL larutan induk diambil menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 10 mL, kemudian ditambahkan HCl 0,1 N hingga mencapai tanda batas. Setelah itu, larutan tersebut dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada rentang panjang gelombang maksimum 200–400 nm (Syed *et al.*, 2011).

9.3 Penetapan *operating time* ramipril. Absorbansi larutan induk ramipril diukur pada panjang gelombang maksimum, dimulai dari menit ke-0 hingga waktu tertentu, sampai diperoleh nilai absorbansi yang konstan.

9.4 Penentuan kurva baku. Pengenceran dilakukan untuk memperoleh konsentrasi 6,9 ppm; 9,2 ppm; 11,5 ppm; 13,8 ppm dan 23 ppm. Masing-masing volume larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur, kemudian diencerkan dengan HCl 0,1 N hingga mencapai tanda batas. Selanjutnya, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum ramipril dalam rentang 200–400 nm (Syed *et al.*, 2011).

10. Validasi Metode Analisis

10.1 Linieritas. Analisis linieritas kurva kalibrasi dilakukan menggunakan regresi linear, dengan konsentrasi analit sebagai variabel bebas (x) dan absorbansi sebagai variabel terikat (y). Tingkat linieritas ditunjukkan oleh nilai koefisien korelasi (r), di mana nilai r yang mendekati 1 ($0,999 \leq r \leq 1$) menandakan hubungan linear yang sangat kuat antara konsentrasi dan absorbansi (Harmono, 2020).

10.2 LOD dan LOQ. Nilai LoD (*Limit of Detection*) dan LoQ (*Limit of Quantification*) dapat diperoleh melalui analisis regresi linear

yang berasal dari kurva kalibrasi. LoQ dapat dihitung dengan rumus $LoQ = \frac{10 \times SD}{b}$ dan LoD dengan rumus $LoD = \frac{3,3 \times SD}{b}$ dimana s merupakan simpangan baku dari residual regresi dan b adalah kemiringan (*slope*) dari persamaan regresi linear (Harmono, 2020).

10.3 Presisi. Presisi diuji dengan mengukur absorbansi dari salah satu konsentrasi yang dipilih dari deret pengenceran pada kurva kalibrasi sebanyak 6 kali pengulangan, dengan pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum (Harmono, 2020).

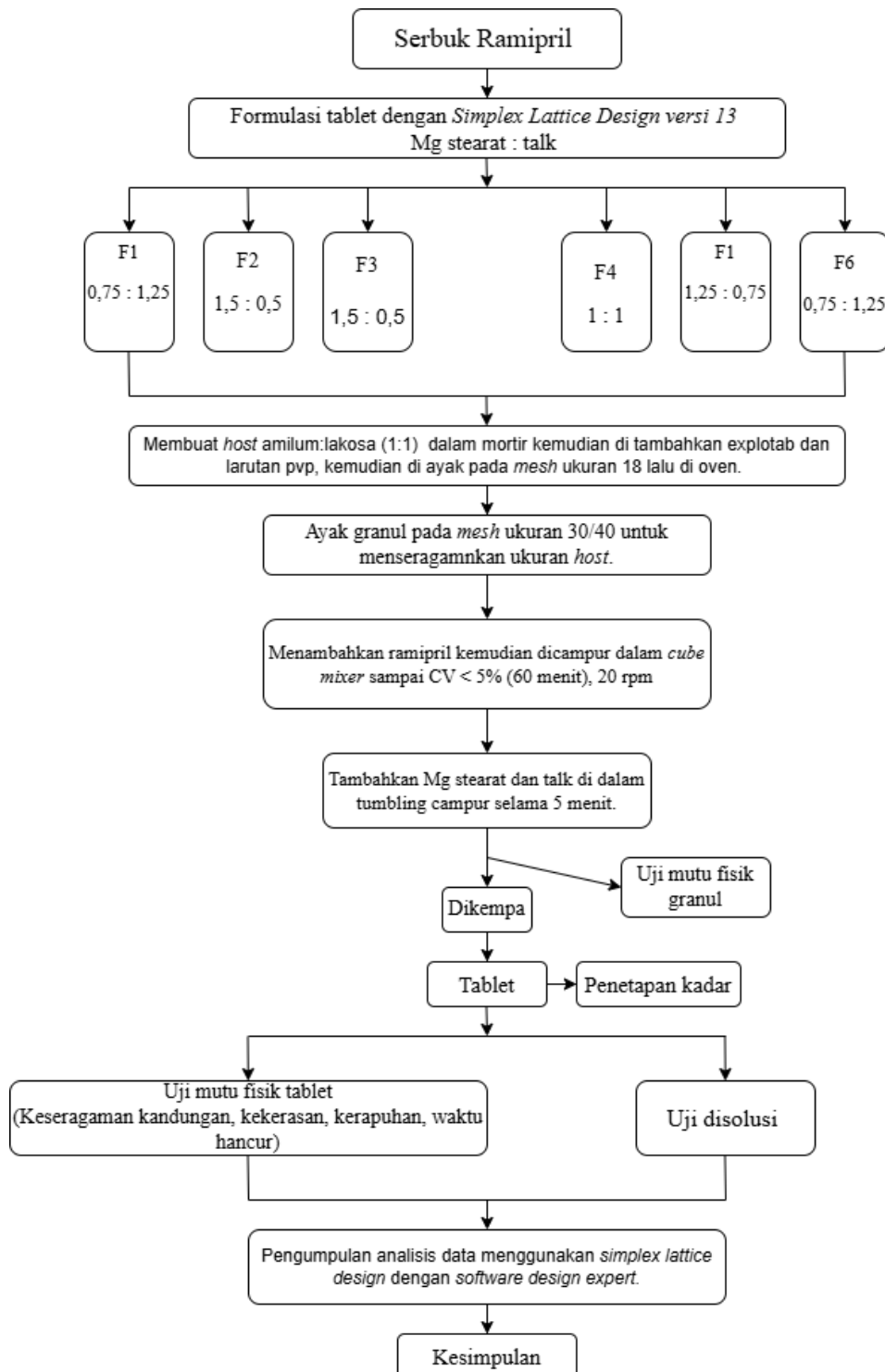
10.4 Akurasi. Validasi akurasi metode analisis dilakukan dengan mengukur absorbansi pada tiga tingkat konsentrasi yang berbeda, masing-masing diukur sebanyak tiga kali ulangan, dan pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum (Harmono, 2020).

10.5 Spesifitas. Sepesifitas dilakukan dengan cara menggerus 10 tablet campuran interaktif ramipril dan serbuk ditimbang setara dengan 5 mg ramipril. Spesifitas diukur dengan menggunakan larutan 20 ppm dan di baca serapan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil panjang gelombang maksimum di bandingkan dengan panjang gelombang maksimum pada baku ramipril. Syarat perbedaan puncak serapan pada senyawa dan baku tidak lebih dari 2 (Kemenkes RI, 2020).

E. Analisis Hasil

Hasil uji mutu fisik tablet dari berbagai formulasi *Simplex Lattice Design* dianalisis menggunakan *Design Expert* terhadap respon kekerasan, kerapuhan, waktu hancur, dan disolusi berdasarkan proporsi Mg stearat dan talk. Analisis ANOVA dan permukaan respon digunakan untuk menilai pengaruh komponen, kemudian dilakukan optimasi guna memperoleh komposisi Mg stearat dan talk yang optimum.

F. Skema Penelitian



Gambar 10. Skema Penelitian