

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah semua objek yang menjadi sasaran untuk penelitian yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kristal sferis dimenhidrinat yang dibuat dalam 3 formula dengan variasi polimer.

2. Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang diteliti berdasarkan ciri dan sifatnya, serta keberadaanya mampu mendiskripsikan populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah dimenhidrinat murni tanpa bahan tambahan dengan nomor batch LOG19/030 produksi dari Pabrik Phapros, Semarang Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah variabel yang terdiri dari variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung. Variabel utama dalam penelitian ini adalah mendapatkan formula dari kristal sferis dimenhidrinat yang dibuat dengan variasi polimer yang berbeda.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang dapat mempengaruhi variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi beberapa polimer.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penilaian yaitu karakterisasi kristal sferis dimenhidrinat dengan uji morfologi dengan mikroskop dan SEM, uji kelarutan, uji XRD, perhitungan rendemen

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu dinetralkan atau ditetapkan kualitasnya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh penelitian lain secara tepat yaitu proses pembuatan kristal sferis dengan variasi polimer, suhu, kecepatan pengadukan dan penambahan bridging.

3. Definisi operasional variabel utama

Zat aktif dimenhidrat dengan variasi polimer PVA, PVP dan PEG 4000 dengan konsentrasi yang sama dalam pembuatan kristal sferis. Morfologi bentuk dan ukuran diamati pada SEM dengan perbesaran hingga puluhan ribu kali. Perubahan bentuk kristal mampu mempengaruhi kelarutan suatu obat. Pengamatan adanya kristalinitas dapat diamati pada uji XRD dengan cara menentukan fase kisi. Kelarutan adalah kuantitas maksimal suatu zat kimia terlarut untuk larut pada pelarut tertentu. Rendemen adalah persentase produk yang didapatkan dari perbandingan berat awal bahan dengan berat akhir.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Ohaus), pH meter (EUTECH Instruments, Ecosan hand-held series, Singapura) alat-alat gelas (Pyrex, Jepang) dan non gelas yang ada di laboratorium, hotplate stirer (Thermo Scientific, China), magnetic stirrer, Mikroskop *Leica*, Spektrofotometer UV-Vis (Electrolab TDT-08I, India), *SEM* (FEI Quanta 200 *Scanning Electron Microscopy*), *X-ray diffraction* (D2 Phaser Bruker).

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah dimenhidrat dengan nomor batch LOG19/030 (Pabrik Phapros Semarang Jawa Tengah), etanol (PT. Bratachem, Indonesia), PVP (*Polyvinylpyrrolidone*), PVA (*Polivinil Alcohol*), PEG 4000 (*Poli etilen glikol*), etil asetat, aquadestilata, KH_2PO_4 , NaOH, semua bahan farmasi lainnya.

D. Jalannya Penelitian

1. Percobaan pendahuluan

Percobaan pendahuluan dilakukan untuk menentukan kondisi percobaan polimer alam menghasilkan sediaan kristal sferis dimenhidrinat yang homogen. Percobaan pendahuluan meliputi pembentukan larutan jenuh dimenhidrinat menggunakan lama pengadukan, kecepatan pengadukan dan jenis polimer tertentu yang digunakan. Pembuatan kristal sferis ini menggunakan variasi polimer dengan metode *Spherical Agglomeration*.

2. Rancangan formula

Tabel 1. Rancangan formula kristal sferis dimenhidrinat

Bahan	F1	F2	F3
Dimenhidrinat	1,5 gram	1,5 gram	1,5 gram
Etanol	3 mL	3 mL	3 mL
PVA 1%	15 mL	-	-
PVP K-30 1%	-	15 mL	-
PEG 4000 1%	-	-	15 mL
Etil asetat	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL

3. Pembuatan kristal sferis dengan metode *Spherical Agglomeration* menggunakan pelarut etanol.

Dimenhidrinat diaduk dengan pelarut etanol sampai jenuh. Larutan jenuh ini disaring untuk dipisahkan antara filtrat dan rendemen. Hasil penyaringan yang akan digunakan adalah larutan jernih. Selanjutnya, polimer dilarutkan ke dalam aquadestilata dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 400 rpm. Tambahkan larutan polimer ke dalam larutan dimenhidrinat yang sudah disaring tadi selama 15 menit. Selanjutnya, dalam campuran perlu ditambahkan etil asetat sebagai cairan penghubung dengan cara. Lakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 600 rpm selama 90 menit hingga kristal mengendap kemudian saring.

4. Evaluasi kristal sferis dimenhidrinat

4.1. Uji morfologi dengan mikroskop cahaya. Uji organoleptis dilakukan dengan cara dilihat pada mikroskop terhadap dimenhidrinat murni dan dimenhidrinat yang sudah terbentuk kristal sferis dengan menggunakan mikroskop *Leica*. Caranya dengan ditetaskan 1 tetes larutan sampel pada *object glass* kemudian ditutup dengan *deck glass* dan diamati dibawah mikroskop menggunakan perbesaran hingga 100 kali. Diamati bentuk kristal sferis dimenhidrinat.

4.2. Uji Scanning Electron Microscopy (SEM). Dilakukan pencitraan morfologi kristal sferis dimenhidrinat dengan menggunakan SEM pada perbesaran 150x sehingga diperoleh citra yang maksimal dengan cara sampel diberi lapisan emas-paladium (Au980%) dan Pd (20%) pada tegangan 1,50 kV. Teknik SEM menggunakan hambatan balik elektron yaitu saat elektron menumbuk permukaan sampel maka elektron sampel keluar menjadi yang elektron baru dan sinyalnya diperkuat pada layar CRT.

4.3. X-ray diffraction (XRD). Pola difraksi sinar-X obat murni, kristal sferis dimenhidrinat dan polimer yang digunakan diperoleh menggunakan sinar-X difraktometer (Bruker D8 Advance, Germany). Karakterisasi menggunakan XRD akan diperoleh struktur kristal dan bidang yang muncul pada lapisan tipis. Hasil yang diperoleh adalah intensitas dan 2θ .

4.4. Penentuan % rendemen. Kristal sferis dimenhidrinat dikeringkan di dalam oven suhu 40°C sampai kering. Kemudian setelah kering ditimbang bobotnya sehingga diperoleh berat kering dan dihitung persen rendemennya.

4.5. Uji kelarutan. Pengujian dilakukan terhadap dimenhidrinat murni dan dimenhidrinat yang sudah terbentuk kristal sferis. Ditimbang 50 mg dimenhidrinat murni dan kristal sferis dimenhidrinat kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala 50 mL kemudian diadkan dapar fosfat 6,8 hingga batas. Pengadukan pada *magnetic stirrer* pada kecepatan 100 rpm selama 1 jam. Larutan disaring dan filtrat yang dihasilkan diencerkan kemudian dianalisis menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum.

5. Pembuatan kurva baku

5.1. Pembuatan larutan dapar phospat pH 6.8. Ditimbang 27,21 gram kalium dihidrogen fosfat masukkan beker glass dilarutkan dengan aquadestilata hingga 1000 mL. Ditimbang dengan 0,8 gram natrium hidroksida masukkan beker glass dilarutkan dalam 100 mL aquadestilata. Diukur 25 ml 0.2M kalium dihidrogen fosfat dalam beker glass 250 mL dan kemudian 11,2 mL larutan natrium hidroksida 0,2M ditambahkan di dalamnya. Ditambahkan aquadestilata hingga 100 mL. Derajat keasaman (pH) disesuaikan dengan asam fosfat atau larutan NaOH 1 N hingga diperoleh pH 6,8 (Jadhav *et al.* 2013)

5.2. Pembuatan larutan induk. Pembuatan larutan induk dimenhidrinat dibuat dengan menimbang seksama sejumlah 10 mg serbuk dimenhidrinat murni, kemudian dilarutkan dalam 1 mL etanol 96%, dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan dapar phospat pH 6,8 sampai tanda batas.

5.3. Penetapan panjang gelombang maksimum. Larutan induk dimenhidrinat dibaca dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang antara 200-400 nm. Panjang gelombang maksimum ditunjukkan dengan nilai serapan yang paling tinggi.

5.4. Penetapan *operating time*. Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui kestabilan reaksi suatu senyawa pada waktu tertentu. Pengujian dilakukan dengan membaca larutan stock dimenhidrinat pada panjang gelombang maksimum dimenhidrinat, dibaca mulai dari menit 0 sampai menit ke 30 sehingga mendapatkan nilai serapan yang stabil.

5.5. Pembuatan larutan seri kurva kalibrasi. Seri konsentrasi 7 ppm sebanyak 0,7 mL, 9 ppm sebanyak 0,9 mL, 11 ppm sebanyak 1,1 mL, 13 ppm sebanyak 1,3 mL, 15 ppm sebanyak 1,5 mL dan 17 ppm sebanyak 1,7 mL kemudian masing-masing diencerkan sampai batas tanda dengan larutan dapar. Seri larutan tersebut diukur serapannya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dimenhidrinat. Dari data hasil absorbansi dapat dihitung persamaan kurva baku dengan persamaan garis $y = a + bx$

6. Validasi metode analisis

6.1. Linearitas (*Linearity*). Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung. Linearitas dilakukan dengan mengukur absorbansi suatu seri konsentrasi larutan induk dimenhidrinat dalam seri yaitu 7 ppm, 9 ppm, 11 ppm, 13 ppm, 15 ppm dan 17 ppm pada panjang gelombang maksimum. Hasil absorbansi yang diperoleh kemudian dianalisis dengan membuat persamaan regresi linear dan ditentukan koefisien korelasi (nilai r). Hasil ini selanjutnya digunakan untuk menentukan linearitas dengan membandingkan nilai r hitung dengan nilai r tabel pada taraf kepercayaan 95%. Nilai linearitas dikatakan baik dan dapat digunakan untuk menghitung akurasi serta presisi bila r hitung $>$ r tabel.

6.2. Presisi (*Precision*). Presisi dinyatakan dengan persen simpangan baku relatif (RSD) atau persen koefisien variasi. Pada uji presisi dilakukan dengan dua cara yaitu presisi *intraday* dan presisi *interday*. Presisi *intraday* dilakukan dengan pengukuran pada hari yang sama dengan waktu yang berbeda, sedangkan presisi *interday* dilakukan pengukuran pada hari yang berbeda dengan waktu yang sama.

$$RSD = \frac{SD}{rata-rata} \times 100 \%$$

6.3. Akurasi (*Accuracy*). Pengujian akurasi dilakukan dengan menambahkan 3 tingkatan konsentrasi zat baku pada larutan sampel. Serapan diukur pada Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali.

$$\% \text{ Perolehan Kembali} = \frac{C1-C2}{C3} \times 100 \%$$

6.4. Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ). Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Batas deteksi dan kuantifikasi penetapan kadar obat dimenhidrinat

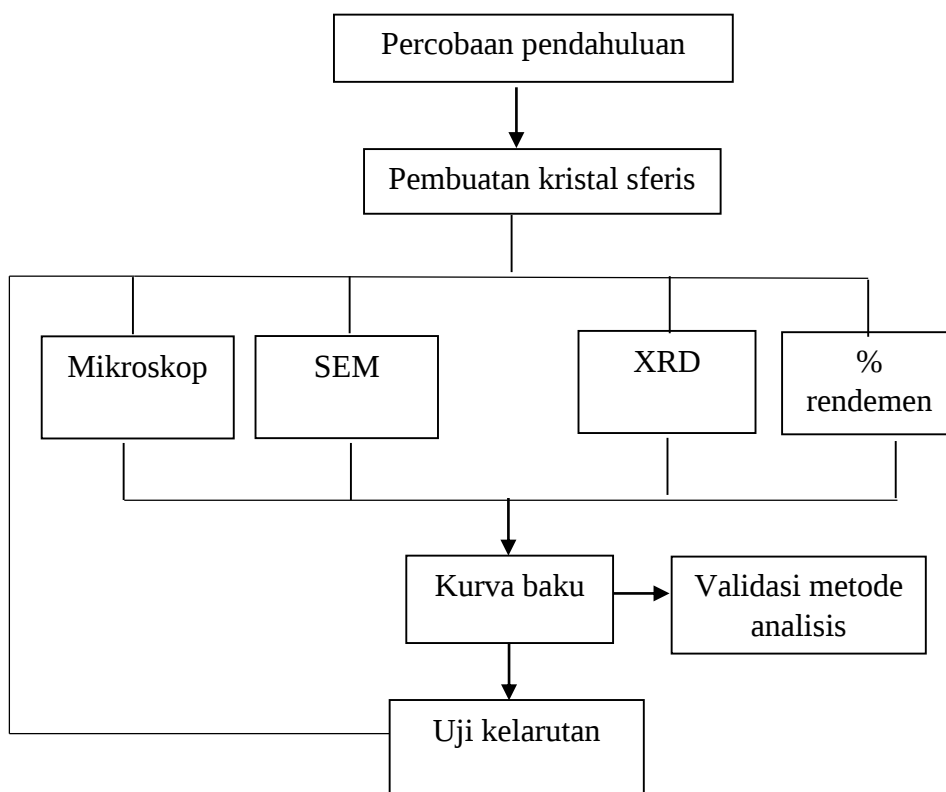
ditentukan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan membuat 6 seri konsentrasi dibawah konsentrasi terkecil pada uji linearitas. Nilai pengukuran dapat diperoleh dari nilai b (slope) pada persamaan regresi linear $y = a + bx$, sedangkan simpangan blanko sama dengan simpangan baku residual (Sy/x). Batas deteksi dan kuantifikasi dapat ditentukan dengan persamaan :

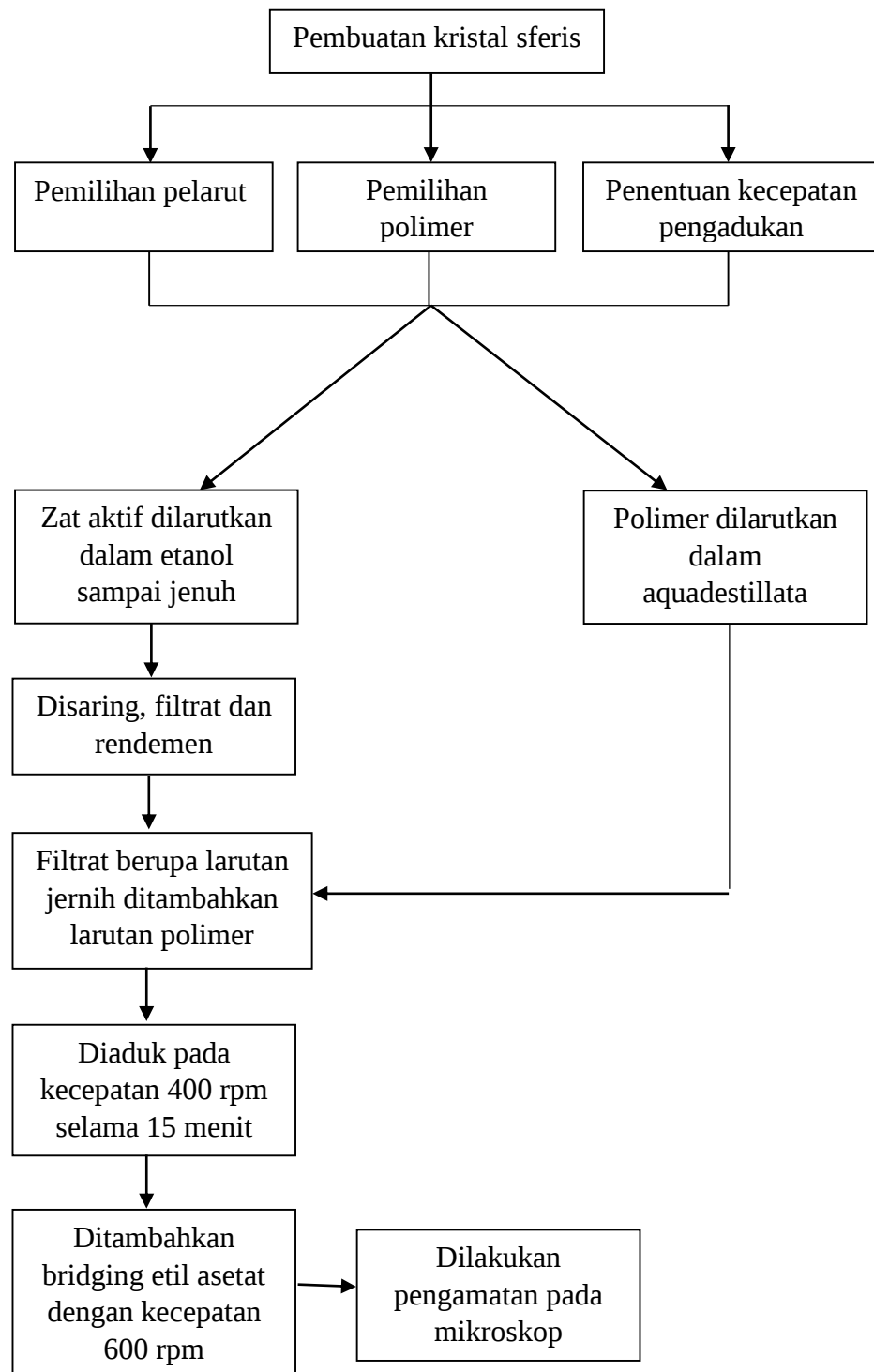
$$LOD = \frac{3,3 Sy/x}{b} \dots\dots\dots(1)$$

$$LOQ = \frac{10 Sy/x}{b} \dots\dots\dots(2)$$

E. Skema Jalannya Penelitian

Skema secara umum



skema pembuatan kristal sferis**Gambar 7. Skema jalannya penelitian**

