

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran dalam penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *fast disintegrating tablet* metoklopramid HCl dengan kombinasi *superdisintegrant crospovidone* dan *filler-binder cellactose*[®] dengan metode *simplex lattice design*.

Sampel adalah bagian dari populasi yang ingin diteliti di mana ciri-ciri dan keberadaan diharapkan mampu mewakili populasi yang sebenarnya. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tablet FDT metoklopramid HCl yang dibuat dalam 3 formula dengan variasi konsentrasi *superdisintegrant crospovidone* dan *filler-binder cellactose*[®] dengan perbandingan F1 (0:100) F2 (50:50) F3 (100:0).

B. Variabel Utama

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama adalah variabel yang terdiri dari variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali. Variabel utama dalam penelitian ini adalah metoklopramid HCl, *fast disintegrating tablet*, *crospovidone*, dan *cellactose*[®].

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dari penelitian ini adalah variasi konsentrasi *superdisintegrant crospovidone* dan *filler-binder cellactose*[®].

Variabel tergantung adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kemampuan mengalir massa serbuk, sifat fisik tablet (kekerasan, kerapuhan, waktu hancur *in vitro* dan *in vivo*, waktu pembasahan, dan disolusi obat).

Variabel kendali adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas. Variabel kendali dari penelitian ini

adalah metode pembuatan tablet (alat, lama pencampuran kecepatan putaran *mixer*) dan tekanan kompresi.

3. Defenisi operasional variabel utama

Metoklopramid HCl merupakan antagonis reseptor dopamin yang merupakan agen antiemetik dan gastroprokinetik yang biasa digunakan untuk mengobati mual dan muntah. Metoklopramid HCl meskipun secara kimia berhubungan dengan *procainamide*, namun tidak memiliki efek anestesi lokal.

Fast disintegrating tablet (FDT) merupakan bentuk sediaan yang diformulasikan sedemikian rupa agar tablet hancur dengan cepat di dalam rongga mulut. Tablet FDT saat kontak dengan air liur dapat segera melepaskan bahan aktif obat.

Crospovidone merupakan *superdisintegrant* yang memiliki mekanisme *wicking* diikuti mekanisme *swelling* (mekanisme sekunder). Berhubungan dengan kapilaritas dan melemahkan ikatan-ikatan antar partikel tersebut.

Cellactose[®] merupakan hasil *co-processed* antara α -laktosa monohidrat (75%) dan selulosa (25%). *Cellactose*[®] memiliki aliran dan kompaktibilitas yang baik, digunakan sebagai *filler-binder*.

C. Alat dan Bahan

1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi metoklopramid HCl, *crospovidone*, *cellactose*[®], manitol, magnesium stearat, stevia, *orange essence*, dan *aquadestillata*.

2. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi mesin pencetak tablet *single punch*, *stopwatch*, *friabilator* (DiSTEC DF-3), *moisture balance* (OHAUS MB23), *hardness tester* (aikho Model AE-20), *disintegrating tester* (GOUMING BJ-2), spektrofotometer UV-Vis (SHIMADZU Model UV-1800), *dissolution tester* (TDT-08L), corong, jangka sorong, timbangan analitik, mortir, stamper, *petridish*, kertas saring, dan berbagai peralatan gelas (labu tentukur, gelas ukur,

pipet volum, dan batang pengaduk).

D. Jalannya Penelitian

1. Pembuatan campuran serbuk

Bahan-bahan sesuai tabel 4 ditimbang untuk pembuatan campuran serbuk. Proses pencampuran pertama diawali dengan pencampuran semua bahan (metoklopramid HCl, *crospovidone*, *cellactose*, manitol, stevia, dan *orange essence*) dilakukan *mixing* selama 15 menit dengan *cube mixer* agar serbuk homogen. Tahap pencampuran selanjutnya yaitu dengan mencampurkan magnesium stearat selama 5 menit.

Tabel 4. Fomula Sediaan FDT metoklopramid HCl

Bahan	Formula (mg)		
	I	II	III
Metoklopramid HCl	10	10	10
<i>Crospovidone</i>	1,5	6	10,5
<i>Cellactose</i> [®]	88,5	84	79,5
Manitol	44,75	44,75	44,75
Magnesium stearat	1,5	1,5	1,5
Stevia	2,25	2,25	2,25
<i>Orange essence (powder)</i>	1,5	1,5	1,5
Total	150	150	150

Keterangan:

FI : *crospovidone* 0% (1,5 mg) : *cellactose* 100% (88,5 mg)

FII : *crospovidone* 50% (6 mg) : *cellactose* 50% (84 mg)

FIII: *crospovidone* 100% (10,5 mg) : *cellactose* 0% (79,5 mg)

2. Evaluasi serbuk campuran sediaan FDT metoklopramid HCl

Campuran serbuk yang telah homogen dilakukan pengujian sifat alir terlebih dahulu untuk semua formula. Pengujian sifat alir terdiri dari laju alir serbuk, sudut diam, *bulk density*, dan *tapped density*. Pengujian tersebut dilakukan untuk mengetahui sifat alir dari campuran serbuk karena metode yang digunakan

adalah *direct compression*, sehingga sifat alir serbuk merupakan hal yang berpengaruh terhadap pencetakan tablet.

2.1 Pengujian laju alir. Sebanyak 50 gram serbuk dimasukkan ke dalam corong (bawah corong disumbat). *Stopwatch* disiapkan untuk mengukur waktu alir. Sumbat corong dibuka dan waktu yang dibutuhkan serbuk untuk mengalir sampai habis dicatat. Hasil keluaran ditampung di atas kertas milimeter blok dan diukur diameter (d) serta tinggi (h) gundukan. Laju alir dihitung dalam satuan gram/detik. Persamaan (1) digunakan untuk menghitung sudut diam (FDA 2011).

$$\mathbf{\tan \alpha = \frac{h}{r} \dots\dots\dots(1)}$$

Keterangan : α = sudut diam; h = ketinggian sampel; r = jari-jari sampel

2.2 Uji kompresibilitas. Serbuk ditimbang sebanyak 50 gram (M), kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur 250 mL, dan dicatat volumenya (V_1). Pengetapan dilakukan sebanyak 750 kali dan dicatat kembali volume setelah pengetapan (V_2). Bj ruah dan bj mampat dihitung dengan menggunakan persamaan (2) dan (3) (Aulton 1988).

$$\mathbf{Bj \text{ ruah} = \frac{M}{V_1} \dots\dots\dots(2)}$$

$$\mathbf{Bj \text{ mampat} = \frac{M}{V_2} \dots\dots\dots(3)}$$

Keterangan : M: bobot sampel; V_1 : volume sampel sebelum pengetapan; V_2 : volume sampel setelah pengetapan.

2.3 Carr's index dan hausner ratio. Carr's index dan hausner ratio didapatkan dari hasil uji kompresibilitas berat jenis ruah dan berat jenis mampat. Rumus dimasukkan ke dalam persamaan (4) dan (5)

$$\mathbf{Hausner \text{ ratio} = \frac{V_1}{V_2} \dots\dots\dots(4)}$$

$$\mathbf{Carr's \text{ index} = \frac{V_1 - V_2}{V_1} \times 100\% \dots\dots\dots(5)}$$

Keterangan : V_1 = volume sampel sebelum pengetapan , V_2 = volume sampel setelah pengetapan

3. Evaluasi karakteristik sediaan tablet FDT metoklopramid HCl

3.1 Uji kekerasan tablet. Uji kekerasan dilakukan dengan menggunakan 10 tablet yang diujikan pada alat *hardness tester*. Hasil uji dilakukan replikasi masing-masing formula sebanyak 3 kali (Sharma *et al.* 2015).

3.2 Uji kerapuhan tablet. Pengujian kerapuhan dilakukan dengan menggunakan 20 tablet. Tablet dibersihkan dari debu terlebih dahulu sebelum dilakukan penimbangan. Sebanyak 20 tablet yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam silinder pada mesin *friabilator*. Alat *friabilator* diatur pada kecepatan 25 rpm selama 4 menit. Setelah itu tablet yang sudah dilakukan pengujian dibersihkan dari debu kembali dan dilanjutkan dengan penimbangan bobot setelah dilakukan pengujian. Pengujian dilakukan 3 replikasi untuk setiap formula (KemenKes 2014).

3.3 Uji waktu hancur tablet. Uji waktu hancur *in vitro* dimasukkan 6 tablet pada masing-masing tabung alat *disintegrating tester*. Suhu yang digunakan untuk pengujian waktu hancur tablet adalah $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ (KemenKes 2014). Posisi tablet harus selalu berada di dalam air ketika pengujian, tablet yang paling lama untuk hancur merupakan waktu hancur yang dicatat. Pengujian ini dilakukan 3 kali replikasi untuk setiap formula.

Uji waktu hancur *in vivo* dilakukan dengan meletakkan sediaan FDT metoklopramid HCl di atas lidah responden sehat tanpa dikunyah ataupun ditambah air minum.

3.4 Uji waktu pembasahan. Pengujian waktu pembasahan dilakukan dengan cara meletakkan kertas saring ke dalam cawan petri dengan diameter 6,5 cm dibasahi dengan menggunakan larutan yang berwarna biru sebagai indikator. Sebuah tablet diletakkan di atas kertas saring tersebut dan kemudian dicatat waktu yang diperlukan air tersebut untuk membasahi seluruh permukaan tablet (Satpute & Tour 2013). Pengujian ini dilakukan replikasi sebanyak 3 kali untuk setiap formula.

3.5 Uji tanggap rasa. Tablet dari tiap formulasi dicoba oleh 20 responden. Responden diminta berkumur untuk menetralkan kondisi mulut. Responden mencicipi 1 tablet dari masing-masing formula. *Aftertaste* responden diminta untuk menilai rasa tablet dengan skala 1-3 dimana 1 untuk rasa manis, 2 untuk rasa agak pahit, dan 3 untuk rasa pahit.

3.6 Uji keseragaman kandungan. Diambil 10 tablet, ditimbang, dan dilarutkan dalam 100 mL *aquadestillata* pada labu tentukur. Larutan dimasukkan

ke dalam labu tentukur 100 mL dengan ditambahkan *aquadestillata* sampai tanda batas. Hasil serapan diamati dengan menggunakan spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimum. Hasil absorbansi yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan kurva baku dan kadar pelepasan obatnya dapat diketahui (KemenKes 2014).

3.7 Uji disolusi. Pengujian disolusi dilakukan dengan menggunakan alat *dissolution tester* tipe I metode basket atau keranjang sesuai dengan monografi bahan tablet metoklopramid HCl yang tertera dalam Farmakope Indonesia edisi V. Medium yang digunakan adalah air sebanyak 900 mL pada labu disolusi. Pengaduk diputar dengan kecepatan 50 rpm pada suhu $37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Uji disolusi dilakukan sampai semua zat aktif terlarut dalam medium. Sampel diambil sebanyak 10 mL pada menit ke 0,5, 1, 2, dan 3. Setiap pengambilan 10 mL sampel diganti sebanyak yang digunakan tersebut. Kadar FDT metoklopramid diperiksa dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimal. Hasil absorbansi yang diperoleh dimasukkan dalam persamaan kurva baku dan kadar pelepasan obatnya dapat diketahui. Pada menit ke 3, metoklopramid HCl harus larut tidak kurang dari 75% (Q) yang tertera pada etiket (KemenKes 2014).

4. Validasi metode analisis

Validasi metode dilakukan sebelum melakukan analisis sampel dari setiap formula. Validasi yang dilakukan yaitu linearitas, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ.

4.1 Pembuatan larutan stok standar metoklopramid HCl. Konsentrasi 113 ppm dibuat dengan ditimbang sebanyak 11,3 mg serbuk metoklopramid HCl dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL dan ditambah *aquadestillata* sampai tanda batas.

4.2 Accuracy (ketepatan). Larutan baku metoklopramid HCl dibuat dengan konsentrasi 80% (9,04 ppm), 100% (13,56 ppm), dan 120% (18,08 ppm), kemudian dipipet masing-masing sebanyak 2, 3, dan 4 mL, lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL, dan ditambahkan *aquadestillata* sampai tanda batas. Larutan dibaca serapannya dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang

273 nm dengan *aquadestillata* sebagai blangko. Kadar metoklopramid HCl ditentukan dengan persamaan kurva kalibrasi, serta dihitung terhadap % *recovery* (Harmita 2004).

4.3 Linieritas. Dibuat seri pengenceran dengan konsentrasi 4,52; 9,04; 13,56; 18,08; dan 22,6 ppm. Larutan baku metoklopramid HCl dipipet sebanyak 1, 2, 3, 4, dan 5 mL dimasukkan ke dalam masing-masing labu tentukur 25 mL dan ditambahkan *aquadestillata* sampai tanda batas. Larutan dibaca serapannya dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 273 nm dengan blangko *aquadestillata*. Parameter adanya hubungan linier digunakan korelasi r pada analisis regresi linier $Y = a + bx$. Hubungan linier tercapai jika nilai $r = +1$ atau -1 (bergantung pada arah baris) dan nilai $b = 0$, sedangkan sensitivitas analisis seperti instrumen yang digunakan ditunjukkan oleh nilai a (Harmita 2004).

4.4 Precision (keseksamaan). Konsentrasi larutan baku metoklopramid HCl dibuat sebesar 100% (13,56 ppm), dipipet sebanyak 3 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL, ditambahkan *aquadestillata* sampai tanda batas.. Simpangan baku (SD) dan simpangan baku relatif (RSD) dihitung. Standar deviasi merupakan akar jumlah kuadrat deviasi masing-masing penetapan terhadap *mean* dibagi dengan derajat kebebasan.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{(N-1)}} \dots\dots\dots (6)$$

Keterangan :

X = nilai pengukuran

\bar{X} = Rata-rata (mean) dari pengukuran

N = frekuensi penetapan

Nilai dari $\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{(N-1)}$ disebut sebagai varian (v), jadi $SD = \sqrt{v}$. Nilai SD dari serangkaian pengukuran yang semakin kecil sebanding dengan semakin cepatnya metode yang digunakan (Gandjar & Rohman 2007).

Standar deviasi relatif (RSD) atau *coefficients of variation* (CV) umumnya dinyatakan dalam %. Nilai RSD dari serangkaian pengukuran yang semakin kecil sebanding dengan semakin tepatnya metode yang digunakan. Standar deviasi relatif dinyatakan dengan rumus :

$$\text{RSD} = \frac{100 \times \text{SD}}{\bar{X}} \dots\dots\dots(7)$$

Keterangan :

RSD = standar deviasi relatif (%); SD = Standar deviasi; \bar{X} = rata-rata (mean)

4.5 Batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ). Batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) ditentukan dari hasil perhitungan persamaan kurva kalibrasi, dengan persamaan (8) dan (9) (Gandjar & Rohman 2012).

$$\text{LOD} = 3,3 \times \frac{S_{x/y}}{b} \dots\dots\dots(8)$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \frac{S_{x/y}}{b} \dots\dots\dots(9)$$

Keterangan :

$S_{x/y}$ = simpangan baku residual dari serapan

B = slope persamaan regresi linier kurva kalibrasi

5. Penentuan formula optimum FDT metoklopramid HCl

Penentuan formula optimum *fast disintegrating tablet* dengan memperhatikan sifat fisik massa tablet yang dihasilkan. Sifat fisik tablet yang dimasukkan dalam persamaan *simplex lattice design* $Y = a(A) + b(B) + ab(A)(B)$ yaitu kekerasan, kerapuhan, waktu hancur, waktu pembasahan, dan disolusi tablet. Masing-masing respon tersebut diberi kriteria sesuai dengan besarnya pengaruh terhadap tablet sehingga diperoleh persamaan dan profil masing-masing respon serta hasil prediksi untuk formula optimum. Hasil persamaan maka akan didapatkan fraksi serta koefisien regresinya. Penentuan formula dengan menggabungkan *counter plot* pada masing-masing parameter dengan menggunakan *software design expert 11 trial*.

E. Analisis Hasil

Analisis hasil pengujian berbagai parameter tertentu dilakukan dengan dua cara, yaitu :

1. Pendekatan secara teoritis

Data uji sifat campuran serbuk massa tablet yang meliputi pengujian waktu alir, pengujian kompresibilitas, dan data uji sifat fisik (keseragaman

sediaan, kekerasan, kerapuhan, waktu hancur, waktu pembasahan, dan disolusi) yang didapatkan kemudian dibandingkan dengan literatur.

2. Pendekatan secara statistik

Data formula optimum dan data hasil percobaan dibandingkan dengan uji *t-test* untuk mengetahui adanya perbedaan makna atau tidak. Taraf kepercayaan 95% untuk validasi hasil teoritis dan percobaan dua kelompok uji. Mutu fisik masing-masing formula dilakukan verifikasi hasil analisa menggunakan pendekatan statistik dengan uji ANOVA.