

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi merupakan wilayah generalisasi yang terdiri dari objek/subjek yang mempunyai kualitas serta karakteristik tertentu yang ditetapkan lalu dipelajari oleh peneliti untuk diambil suatu kesimpulan (Sugiyono, 2018). Populasi dari penelitian ini adalah tablet glibenklamid generik dan bermerk yang diperoleh dari salah satu apotek yang berada di daerah Mojosongo, Surakarta.

Sampel merupakan suatu bagian dari karakteristik dan jumlah yang dimiliki populasi (Sugiyono, 2018). Sampel yang digunakan terdiri dari 2 obat generik serta 2 obat bermerk glibenklamid masing-masing 5 mg yang akan dilakukan pada hewan uji Tikus Putih Jantan Galur Wistar

B. Variabel Penelitian

1. Variabel Penelitian

1.1. Variabel Bebas. Variabel Bebas dalam penelitian ini yaitu tablet glibenklamid generik 1, generik 2, bermerk 1 dan bermerk 2 masing-masing 5 mg.

1.2. Variabel Tergantung. Variabel tergantung dalam penelitian ini yaitu penetapan kadar tablet glibenklamid generik dan bermerk serta data uji disolusi.

1.3. Variabel Terkendali. Variabel tergantung dalam penelitian ini yaitu prosedur kerja, metode kerja, alat dan bahan yang digunakan..

2. Definisi Operasional

Pertama, tablet glibenklamid dengan kekuatan sediaan 5 mg generik 1, generik 2, bermerk 1 dan bermerk 2 yang diperoleh dari salah satu apotek di wilayah Mojosongo, Surakarta dalam kondisi baik (Tablet utuh, kemasan tidak mengembung, kemasan tidak rusak).

Kedua, penetapan kadar zat aktif meliputi pembuatan HCl-metanol 0,1 N, pembuatan larutan induk, pembuatan larutan kurva baku, penentuan *operating* time dan penentuan panjang gelombang maksimum lalu dilakukan validasi metode (Linearitas, presisi, akurasi, LOD dan LOQ).

Ketiga, dilakukan penetapan kadar tablet glibeklamid generik dan bermerk.

Keempat, dilakukan uji disolusi tablet glibenklamid generik dan bermerk dengan menggunakan alat disolusi tipe dayung dengan media asam klorida 0,1 N 900 ml dengan temperature $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

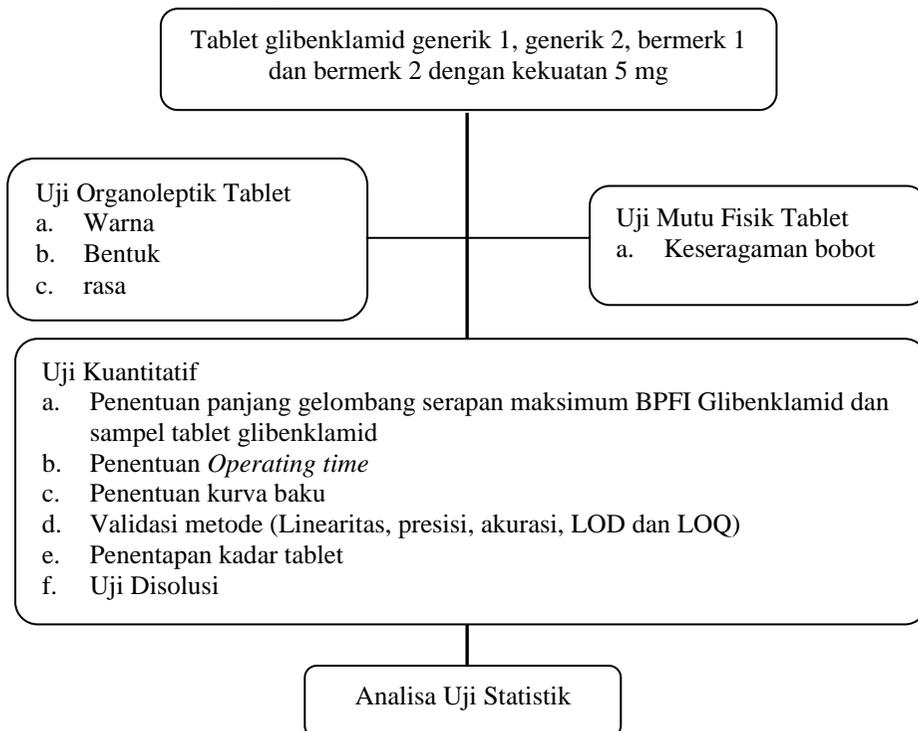
Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini diantara lain gelas ukur, pipet volume, labu takar, Spektrofotometri UV-Vis Shimadzu Corp 80550 serta peralatan computer personal dilengkapi dengan *software* UV-Probe, neraca analitik, mortir dan stemper, *Disolution tester standart USP Electrolab*, Spuit 5 ml, kertas saring, vial, *stopwatch*.

2. Bahan

Glibenklamid murni, tablet glibenklamid generik 1, generik 2, bermerk 1, bermerk 2 masing-masing 5 mg; metanol p.a; HCl; aquadest.

D. Jalannya Penelitian

1. Skema jalannya penelitian



Gambar 8. Skema jalannya penelitian

2. Penetapan Kadar Zat Aktif

2.1. Pembuatan larutan HCl – methanol 0,1 N. Ambil 8,5 ml larutan HCl 37%, tuang perlahan ke dalam labu takar 1000 ml, tambahkan metanol hingga tanda batas, kocok hingga tercampur rata. (Farmakope Indonesia VI).

2.2. Pembuatan larutan induk 1000 ppm. Ditimbang seksama sejumlah 100 mg serbuk glibenklamid murni, masuk dalam labu takar 1000 ml ditambahkan HCl-metanol 0,1 N sampai tanda batas.

2.3. Pembuatan Kurva Baku. Lima konsentrasi larutan (40, 50, 60, 70 dan 80 ppm) diperoleh dengan memipet satu larutan stok (4, 5, 6, 7 dan 8 ml) untuk setiap konsentrasi ke dalam labu takar 10 ml. Ditambahkan HCl-metanol 0,1 N sampai tanda batas. Dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis, larutan diukur pada panjang gelombang serapan maksimum. Konsentrasi glibenklamid dan penyerapannya ditemukan berhubungan dengan data yang diperoleh dalam kurva dan persamaan regresi linier. Untuk menghitung kadar glibenklamid, gunakan persamaan kurva standar berikut.

2.4. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum. Absorbansi larutan diukur menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang antara 200 – 400 nm. Panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum disebut panjang gelombang serapan maksimum. 5,0 ml larutan stok diambil dan diencerkan dengan asam metanol klorida 0,1 N hingga 10,0 mL.

2.5. Penentuan *operating time*. Untuk melakukan pengujian, lima mililiter Larutan Induk diambil, dimasukkan ke dalam labu ukur sepuluh mililiter, dan kemudian ditambahkan dengan HCl-metanol 0,1 N. Setelah penyerapan yang konsisten tercapai, bacalah panjang gelombang tertinggi pada 229,5 nm dari menit 0 hingga menit tertentu.

2.6. Validasi metode.

2.6.1. Linearitas. Membuat konsentrasi larutan 40, 50, 60, 70 dan 80 ppm dengan cara memipet dari larutan induk untuk masing-masing konsentrasi sebanyak 4, 5, 6, 7 dan 8 ml masukkan ke dalam labu ukur 10 ml lalu tambahkan HCl-methanol 0,1 HCl-methanol 0,1 N sampai tanda batas. Kemudian masing-masing larutan di analisa menggunakan Spektrofotometri UV-Vis lalu dilihat absorbansinya untuk mencari $y = a+bx$.

2.6.2. Presisi. Membuat konsentrasi larutan 40 ppm dengan cara memipet sebanyak 4 ml larutan induk masukkan ke dalam labu ukur 10 ml lalu tambahkan HCl-metanol 0,1 N sampai tanda batas. Kemudian larutan di Spektrofotometri UV-Vis untuk melihat absorbansinya dengan pengulangan 10 kali.

2.6.3. Akurasi. Metrik persen perolehan kembali yang menggunakan metode penambahan standar pada analit (metode penambahan standar) menentukan keakuratan pengujian. Setelah sampel dianalisis, sejumlah bahan mentah tertentu (80, 100, dan 120% dari target kandungan analitis) ditambahkan ke dalam pengujian.

2.6.4. LOD & LOQ. Membuat konsentrasi glibenklamid 40, 50, 60, 70 dan 80 ppm dengan cara memipet dari larutan induk untuk masing-masing konsentrasi sebanyak 4, 5, 6, 7 dan 8 ml masukkan ke dalam labu ukur 10 ml lalu tambahkan HCl-methanol 0,1 HCl-methanol 0,1 N sampai tanda batas. Kemudian dihomogenkan, leratan dianalisa di Spektrofotometri Uv-Vis

2.6.5. Uji penetapan kadar. Proses untuk mengidentifikasi level melibatkan pemilihan setidaknya tiga puluh tablet secara acak, mengambil sepuluh tablet, dan memeriksa setiap kadarnya satu per satu. Satu pil bubuk halus harus ditimbang, dicampur sampai halus, dan kemudian 10 ml asam klorida-metanol 0,1 N harus ditambahkan ke 100 ml. Panjang gelombang maksimum digunakan untuk membaca serapan (Farmakope Indonesia IV).

3. Pengujian Disolusi Tablet

Diambil asam klorida sebanyak 8,5 ml dimasukkan ke dalam labu takar 1 L kemudian di tambahkan aquadest sampai tanda batas kemudian dimasukkan ke dalam chamber sebanyak 900 ml dengan temperature $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Tablet yang digunakan untuk masing-masing sampel sebanyak 6 tablet. Pengaduk yang digunakan yaitu tipe dayung dengan kecepatan 50 rpm. Setelah proses disolusi berjalan pada menit ke 15 dan 45, diambil masing-masing 5 ml larutan media pada posisi yang telah ditentukan. Pada setiap kali pengambilan sampel diganti dengan volume yang sama (5 ml) dengan asam-klorida 0,1 N, kemudian dibaca absorbansinya dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum (Farmakope Indonesia edisi IV).

E. Analisis Hasil

1. Verifikasi Metode

1.1 Linearitas. Nilai keberterimaan linearitas yaitu $\geq 0,999$.

1.2 Presisi. Nilai kadar yang dapat diterima yaitu *Relative Standard Deviation* (RSD) dengan syarat keberterimaan $RSD \leq 15\%$.

1.3 Akurasi. Nilai kadar yang dapat diterima yaitu 85-115%.

1.4 LOD (*Limited of detection*). Nilai LOD diperoleh dari persamaan kurva kalibrasi, nilai LOD dan LOQ diperoleh dari nilai kemiringan. LOD ditentukan untuk menentukan jumlah terkecil analit atau sampel dalam sampel yang masih memberikan respon signifikan terhadap metode tersebut.

2. Statistik

Data yang akan didapatkan dari penelitian ini dianalisis secara statistic menggunakan ANOVA kemudian dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc*. Analisis statistik ini menggunakan program SPSS dan $p < 0,05$ yang dipilih sebagai data tingkat minimal signifikannya. *One Way ANOVA* dipilih dalam penelitian ini karena menggunakan lebih dari 2 kelompok pengujian generalisasi sehingga data sampel yang dihasilkan dianggap mewakili populasi. Syarat terpenuhinya uji *One Way ANOVA* yaitu :

Distribusi data normal

Data numeric pada kelompok kategori

Varian data sama

Apabila uji ANOVA menghasilkan $p < 0,05$, maka dilanjut dengan menggunakan *Post Hoc* (Dahlan, 2013). Nilai yang diperoleh dari penetapan kadar tablet glibenklamid generik dan bermerk sesuai dengan Farmakope Indonesia edisi VI yaitu tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.