

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi merupakan keseluruhan jumlah dari subjek yang akan diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah zat aktif glibenklamid PEG-4000 dibuat dengan dengan metode disperse padat, dibuat sediaan ODT dengan bahan *crospovidone* dan Ac-Di-Sol® sebagai *superdisintegrant*.

Sampel merupakan bagian kecil dari populasi yang diambil sebagai objek pengamatan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu glibenklamid yang akan dibuat sediaan ODT yang digunakan.

### **B. Variabel Penelitian**

#### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah tablet ODT dengan kombinasi *crospovidone* dan *crosscarmellose* sodium sebagai *superdisintegrant* tablet dengan perbandingan yang berbeda.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah kecepatan alir granul, sifat fisik pada tablet (kerapuhan, kekerasan, waktu pembasahan, waktu disintegrasi), dan kecepatan pelepasan tablet ODT glibenklamid.

Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah metode pembuatan tablet (alat, lama pencampuran kecepatan putaran mixer), tekanan kompresi dan metode).

#### **Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama diklasifikasikan dalam variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah pada saat diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah proporsi kombinasi *disintegrant crospovidone* dan Ac-Di-Sol ODT glibenklamid.

Variabel tergantung adalah variabel dalam penelitian ini yang diukur untuk mengetahui besarnya pengaruh variabel lain. Variabel tergantung yang dimaksud adalah waktu alir, sudut diam, sifat fisik tablet (kekerasan kerapuhan, waktu pembasahan, waktu disintegrasi, tanggap rasa), dan kecepatan pelepasan ODT glibenklamid.

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah metode pembuatan tablet (alat, lama pencampuran kecepatan putaran mixer), tekanan kompresi dan metode uji.

### C. Bahan dan Alat

#### 1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk glibenklamid, PEG-4000, *crospovidone*, Ac-Di-Sol<sup>®</sup>, avicel PH 102, talk, Mg stearat, aspartam, dan akuades.

#### 2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, mesin pencetak tablet (*single punch*), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800), *hardness tester* (Aikho engineering Model AE-20), *friability tester* (Erwake type TA), *moisture balance*, ayakan no. 18, *orbital shaker*, alat gelas, dan alat lainnya.

### D. Jalannya Penelitian

#### 1. Pembuatan larutan induk

**1.1 Pembuatan larutan induk medium akuades.** Pembuatan larutan induk yang dilakukan dengan cara menimbang bahan zat aktif glibenklamid 100 mg, selanjutnya ditambahkan akuades sampai 100 ml dilakukan scanning larutan glibenklamid dengan pada panjang gelombang 230-350 nm. \*Pembuatan larutan induk dengan menggunakan pelarut akuades tidak tepat dan tidak akurat jika digunakan karena glibenklamid tidak larut dalam akuades. Dalam farmakope indonesia edisi VI menyatakan bahwa zat aktif glibenklamid larut dalam metanol dan asetonitril, untuk penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan pelarut yang direkomendasikan farmakope indonesia edisi VI\*

#### 2. Penetapan panjang gelombang

Ditimbang kurang lebih 10 mg glibenklamid, dimasukkan dalam labu tentukur 100 mL, glibenklamid tersebut kemudian ditambahkan dilarutkan dengan akuades sampai tanda batas. Diamati serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 230-350 nm dan ditentukan panjang gelombang maksimumnya (Barus *et al.*, 2016).

### 3. Penetapan operating time

Larutan induk glibenklamid dibaca absorbansi pada panjang gelombang maksimum dari menit 0 sampai 30 menit hingga didapat pada menit ke 13 sampai ke menit 18 absorbansi yang stabil.

### 4. Pembuatan kurva baku

Pembuatan kurva baku glibenklamid dilakukan dengan pembuatan dari larutan induk yang sudah dibuat, dipipet 5ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml dan 9 ml dimasukkan ke dalam labu tentukur yang berukuran 10 ml tambahkan akuades ad tanda batas. Masing-masing larutan baku kerja diamati serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Serapan dari masing-masing larutan baku kerja kemudian digunakan untuk membuat persamaan regresi linier antara konsentrasi versus absorbansi dari hasil pengukuran tersebut (Barus *et al.*, 2016). \*Glibenklamid dengan pelarut akuades tidak tepat dan tidak akurat jika digunakan dalam pembuatan grafik kurva baku kalibrasi karena glibenklamid tidak larut dalam akuades. Dalam farmakope indonesia edisi VI menyatakan bahwa zat aktif glibenklamid larut dalam metanol dan asetonitril, untuk penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan pelarut yang sesuai pada buku panduan farmakope indonesia edisi VI \*

### 5. Validasi Metode

**5.1 Linieritas.** Validasi metode penentuan linieritas mencari persamaan regresi linier dari larutan induk 1000 ppm dibuat larutan baku dengan 5 seri konsentrasi dengan pemipetan 5ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml dan 9 ml. Larutan seri yang telah dibuat kemudian diukur serapan masing-masing konsentrasinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Data hasil absorbansi yang diperoleh, selanjutnya dihitung persamaan kurva bakunya menggunakan microsoft excel sehingga diperoleh persamaan garis  $y = a + bx$ . \*Penggunaan pelarut akuades pada metode analisis linieritas dengan hasil yang didapat tidak tepat dan tidak valid jika digunakan untuk penelitian selanjutnya karena glibenklamid tidak larut dalam akuades. Dalam farmakope indonesia edisi VI menunjukkan pelarut yang sesuai menggunakan metanol dan asetonitril\*

**5.2 LOD dan LOQ.** Penentuan LOD dan LOQ dari hasil pembacaan serapan 5 seri konsentrasi dari pemipetan 5ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml dan 9 ml mencari simpangan baku respon dan kemiringan kurvabasi dari hasil pembacaan. Berdasarkan simpangan baku blanko dan sampel

blanko dijalankan simpangan baku ditentukan deviasi standar. Selanjutnya hasil diperoleh menggunakan microsoft excel, persamaan dari perhitungan kalibrasi yang digunakan dalam menentukan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) (Anon, 2018).

Ditentukan dalam persamaan yaitu:

$$\text{LOD} : 3,3 \times \frac{sx/y}{b}$$

$$\text{LOQ} : 10 \times \frac{sx/y}{b}$$

Keterangan :

$S_{x/y}$  : Simpangan baku residual dari serapan

B : Slope persamaan regresi linier kurva baku kalibrasi

\*Penggunaan pelarut akuades pada metode analisis LOD dan LOQ dengan hasil yang didapat tidak tepat dan tidak valid jika digunakan untuk penelitian selanjutnya karena glibenklamid tidak larut dalam akuades. Dalam farmakope indonesia edisi VI menunjukkan pelarut yang sesuai pada glibenklamid yaitu metanol dan asetonitril\*

**5.3 Akurasi (ketepatan).** Ketepatan metode analisis atau kedekatan antara nilai yang terukur dengan nilai yang diterima baik nilai kovensi atau nilai sebenarnya. Membuat 3 seri konsentrasi yang berbeda dengan sampel yang masing-masing direplikasikan sebanyak 3 kali, kemudian dibuat 3 pengulangan sehingga total jumlahnya ada 9 labu tentukur, catat hasil dan dianalisa nilai akurasinya menggunakan microsoft excel. Uji perolehan kembali dengan memasukan analit sampel dalam blanko dibaca 3 kali dalam serapan konsentrasi yang berbeda. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (%Recovery) analit yang ditambahkan. \*Hasil penelitian penggunaan pelarut akuades pada analisis akurasi dengan hasil yang didapat tidak tepat dan tidak valid jika digunakan untuk penelitian selanjutnya karena glibenklamid tidak larut dalam akuades. Dalam farmakope indonesia edisi VI menunjukkan pelarut yang sesuai menggunakan metanol dan asetonitril\*

**5.4 Presisi (ketelitian).** Satu konsentrasi tersebut yang memenuhi syarat masuk rank dimasukan dalam labu tentukur, diukur nilai absorbansinya, catat dan analisa data untuk menentukan presisi menggunakan microsoft excel. Nilai presisi dihitung menggunakan standar deviasi (SD) untuk menghasilkan. Relative Standard Deviasion (RSD) atau Coeficient Variation (CV). Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan nilai % RSD  $\leq 2\%$ . Semakin kecil nilai standar deviasi yang diperoleh, maka makin kecil pula nilai koefisien

variasinya. \*Hasil penelitian menggunakan pelarut akuades pada analisis presisi dengan hasil yang didapat tidak tepat dan tidak valid jika digunakan untuk penelitian selanjutnya karena glibenklamid tidak larut dalam akuades. Dalam farmakope indonesia edisi VI menunjukkan pelarut yang sesuai menggunakan metanol dan asetonitril\*

## **6. Pembuatan sistem metode dispersi padat**

Pembuatan dengan sistem metode dispersi padat glibenklamid dengan PEG-4000 dengan cara dicampurkan perbandingan glibenklamid dan PEG-4000 dengan perbandingan 1:4 diatas cawan porselin. Campuran tersebut dipanaskan di atas *hotplate* dengan waktu selama 10 menit dengan suhu 80°C dengan diaduk hingga homogen. Proses selanjutnya dinginkan disimpan ke dalam alat desikator ditunggu dengan waktu selama 24 jam atau 1 hari. Campuran dispersi tersebut digerus ke dalam mortar hingga memperoleh serbuk halus lalu di ayak menggunakan *mesh* berukuran no. 80. Serbuk dispersi padat disimpan dalam wadah dan disimpan didalam desikator (Meinisasti *et al.*, 2015).

## **7. Karakterisasi dispersi padat**

**7.1 Uji kelarutan glibenklamid.** Uji kelarutan pada glibenklamid yang dilakukan. Ditimbang serbuk sebanyak 10 mg dimasukan ke dalam erlenmeyer 50 ml dan ditambahkan 5 tetes metanol dan 50 ml akuades kemudian ditutup menggunakan alumunium foil. Kemudian diletakan pada alat *orbital shaker* pada suhu 37°C dengan menggunakan kecepatan 100 rpm selama 6-8 jam. Kemudian disaring menggunakan kertas saring hasil filtrat dianalisa spektrofotometer UV-Vis (Lalita, 2020).

**7.2 Uji kelarutan dispersi padat.** Uji kelarutan pada glibenklamid yang dilakukan agar mengetahui hasil perbandingan kelarutan glibenklamid dari hasil dipersi. Ditimbang serbuk sebanyak 10 mg dimasukan ke dalam erlenmeyer 50 ml dan ditambahkan 5 tetes metanol dan 50 ml akuades selanjutnya tutup rapat menggunakan alumunium foil, kemudian diletakan pada alat orbital shaker pada suhu 37°C dengan menggunakan kecepatan 100 rpm selama 6-8 jam. Kemudian disaring hasil filtrat dianalisa pada spektrofotometer UV-Vis (Chauhan Lalita, 2020).

**7.3 Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy.** Penggunaan alat *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) pada metode pelet KBr yaitu 4 mg dalam sampel 400 mg KBr diukur dengan

spektrum inframerah glibenklamid dan PEG-4000 FTIR dilakukan dengan cara mendispersikan sampel pada pelet KBr yang dikempa pada tekanan tinggi. Selanjutnya diukur persen transmittan dengan bilangan gelombang 400 – 4000 cm (Meinisasti *et al.*, 2015).

## 8. Pembuatan ODT

### 8.1 Formula ODT glibenklamid.

Tabel 1. Formula ODT Glibenklamid

Bahan	Fungsi	Formula					
		F1	F2	F3	F4	F5	F6
Glibenklamid	Zat aktif	5 mg	5 mg	5 mg	5 mg	5 mg	5 mg
PEG-4000	Pelarut	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg
<i>Crospovidone</i>	Superdisintegran	-	2 mg	4 mg	6 mg	8 mg	10 mg
Ac-Di-Sol	Superdisintegran	10 mg	8 mg	6 mg	4 mg	2 mg	-
Avicel PH 102	Pengisi	120 mg	120 mg	120 mg	120 mg	120 mg	120 mg
Talk dan Mg stearat	Pelicin	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg	2 mg
Aspartam	Pemanis	43 mg	43 mg	43 mg	43 mg	43 mg	43 mg
Bobot tablet		200 mg	200 mg	200 mg	200 mg	200 mg	200 mg

Keterangan : dispersi padat

F1 : Formula ODT dengan 0% *Crospovidone* dan 5% Ac-Di-Sol 5%

F2 : Formula ODT dengan 1% *Crospovidone* dan 4% Ac-Di-Sol 4%

F3 : Formula ODT dengan 2% *Crospovidone* dan 3% Ac-Di-Sol 3%

F4 : Formula ODT dengan 3% *Crospovidone* dan 2% Ac-Di-Sol 2%

F5 : Formula ODT dengan 4% *Crospovidone* dan 1% Ac-Di-Sol 1%

F6 : Formula ODT dengan 5% *Crospovidone* dan 0% Ac-Di-Sol 0%

Pembuatan hasil dispersi padat dengan menimbang glibenklamid dan PEG-4000 dimasukan ke dalam cawan porselin dipanaskan di atas *hotplate* dengan diaduk waktu selama 10-15 menit. Selanjutnya disimpan pada desikator selama 24 jam. Hasil dispersi padat dan semua bahan kecuali bahan untuk talk dan Mg stearat dicampur menjadi satu dengan mixer selama 15 menit, massa yang sudah dicampur lalu dimasukan talk dan Mg stearat kemudian dicampur dengan menggunakan mixer selama 5 menit. Setelah itu campuran bahan tersebut diuji sifat fisik granul setelah granul memenuhi persyaratan langkah selanjutnya dikempa dengan berat bobot yang dihasilkan tiap tabletnya seberat 200 mg dengan menggunakan alat *single punch*.

## 9. Pengujian sifat mutu fisik granul

**9.1 Waktu alir.** Uji waktu alir menggunakan granul dengan berat 100 gram dimasukan pada alat *flowability tester* atau corong. Catat hasil granul yang mengalir keluar dari alat tersebut, replikasi sebanyak 3 kali (Gustaman, 2019).

**9.2 Sudut diam.** Pengujian dalam sudut diam dengan menggunakan metode corong, dengan diukurinya ketinggian granul dan

ujung corong hingga menyentuh puncak dari granul. Untuk menentukan persamaan sudut diam yang akan dihitung yaitu,  $2\frac{h}{d}$  dengan keterangan h untuk tinggi kerucut dan d yaitu diameter kerucut. Catat hasil dan replikasi sebanyak 3 kali (Wati, 2020).

**9.3 Kelembaban.** Pengujian kelembaban yang dilakukan menggunakan *moisture balance* dengan memasukan dan menimbang granul 2 g pada masing-masing formula secara bergantian. Kemudian tunggu alat hingga bunyi dan catat hasil (Anggraeni, 2023).

## **10. Pengempaan tablet**

Pengempaan tablet, granul dikempa dengan menggunakan alat pencetak tablet *single punch* dengan bobot diatur 200 mg dengan tekanan kompresi yang sama (Anon, 2018).

## **11. Pengujian uji mutu fisik tablet**

**11.1 Uji kekerasan tablet.** Pada uji kekerasan tablet diletakan pada alat hardness tester posisi tegak dan lurus. Kekerasan pada skala sudah diatur dalam posisi nol, selanjutnya tekan pada pengungkit sampai tablet tersebut pecah. Kekerasan pada tablet menunjukkan pada skala saat tablet pecah. Dilakukan pengulangan pengujian pada kekerasan tablet sebanyak 6 kali dihitung puratanya. Catat hasil dan direplikasi sebanyak 3 kali. Kekerasan tablet ODT yang baik sekitar 3-5 kg/cm (Nurdianti, 2018).

**11.2 Uji kerapuhan tablet.** Diambil sebanyak 20 tablet lalu ditimbang seluruh tablet dicatat bobot awal. Semua tablet dimasukan ke dalam alat *friability tester* lalu tekan tombol putar atau on dengan putaran 100 kali/menit kurang lebih selama 4 menit (25 rpm). Tablet dibersihkan dari debu lalu timbang catat bobot akhir dan dihitung presentase dari bobot awal dengan bobot akhir yang telah selesai ditimbang. Catat hasil dan direplikasi sebanyak 3 kali (Gustaman 2019).

**11.3 Uji waktu pembasahan.** Pada uji pembasahan disiapkan kertas saring dengan diameter 8 cm diletakan di dalam petridish atau cawan petri dengan diameter 10 cm yang dibasahi dengan akuades yang telah diberi warna. Tablet diletakan pada permukaan kertas saring, catat waktu tablet yang terbasahi. Catat hasil waktu yang diperoleh dan direplikasi sebanyak 3 kali (Bestari, 2014).

**11.4 Uji waktu hancur *in vitro*.** Siapkan cawan petri tablet yang sudah disiapkan dimasukan dalam cawan yang berdiameter 10 cm diisi sebanyak 10 ml dengan dapar fosfat pH 6,8. Disintegrasi

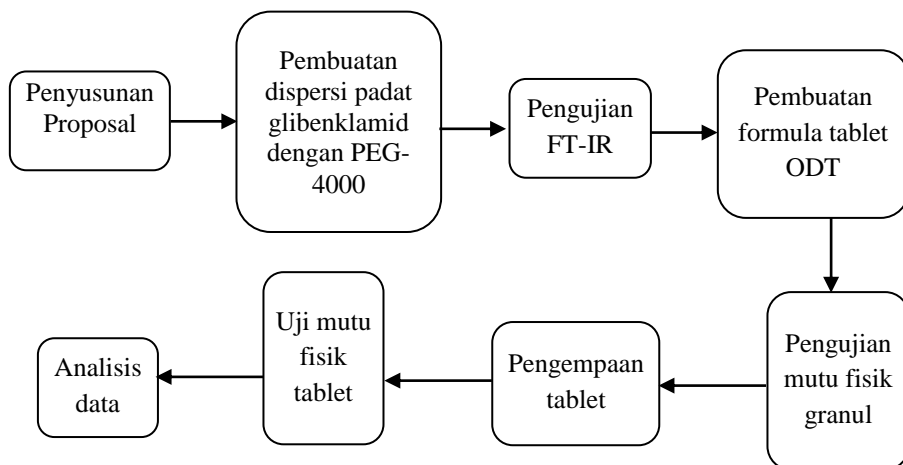
memerlukan waktu yang diperlukan untuk menghancurkan tablet yang diuji. Pengujian dilakukan 6 kali lalu dihitung waktu hancur atau melarutnya obat tersebut. Catat hasil waktu yang diperoleh dan direplikasi sebanyak 3 kali (Barus *et al.*, 2016).

**11.5 Uji tanggap rasa.** Sebanyak 20 responden pada pengujian tanggap rasa mencoba masing-masing formula, selanjutnya responden memberikan penilaian atau tanggapan terhadap rasa dan tekstur pada tiap formula.

### E. Metode Analisis

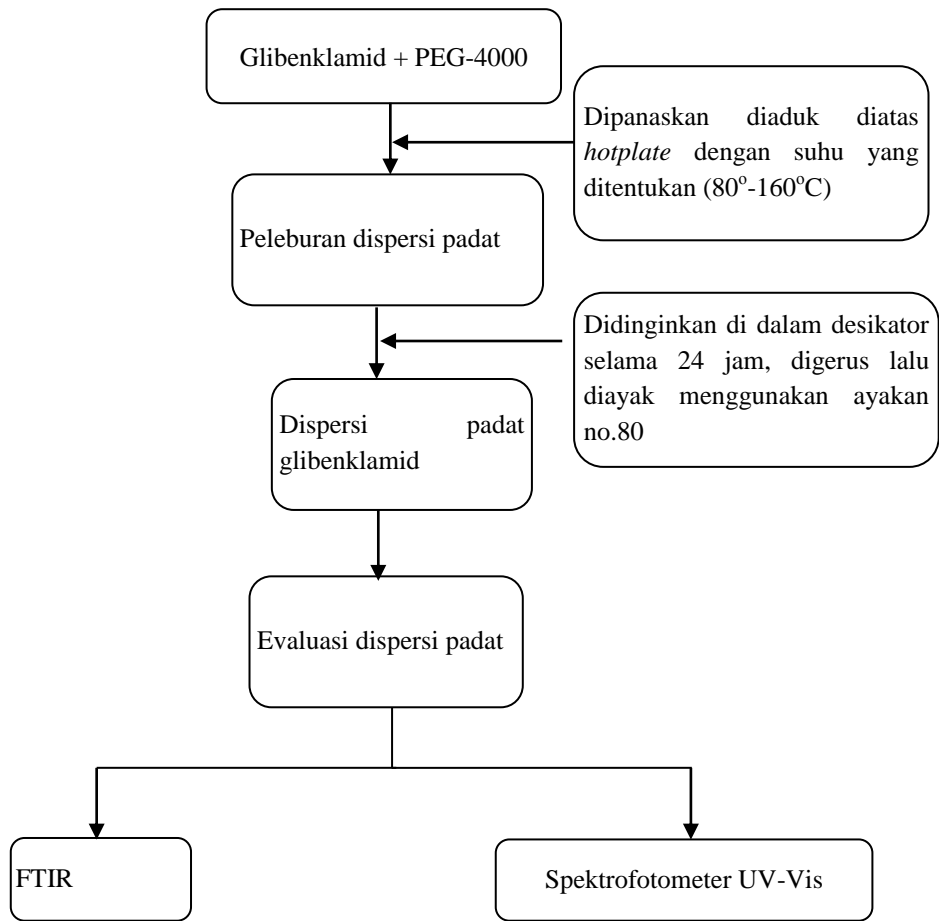
Data yang telah dianalisis dan diperoleh dari pengujian yang digunakan yaitu pendekatan statistik dengan normalitas analisis Shapiro-Wilk. Data yang telah diperoleh dilakukan perhitungan statistik dengan uji *one way analysis of variance* (ANOVA). Untuk mengetahui homogenitas, jika homogen dilanjutkan dengan uji *Tukey Post Hoc Test*. Hasil dari analisis data uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*, jika diperoleh data tidak normal maka dilakukan uji *KruskalWallis* dan uji *Mann Whitney*.

### F. Skema Jalannya Penelitian

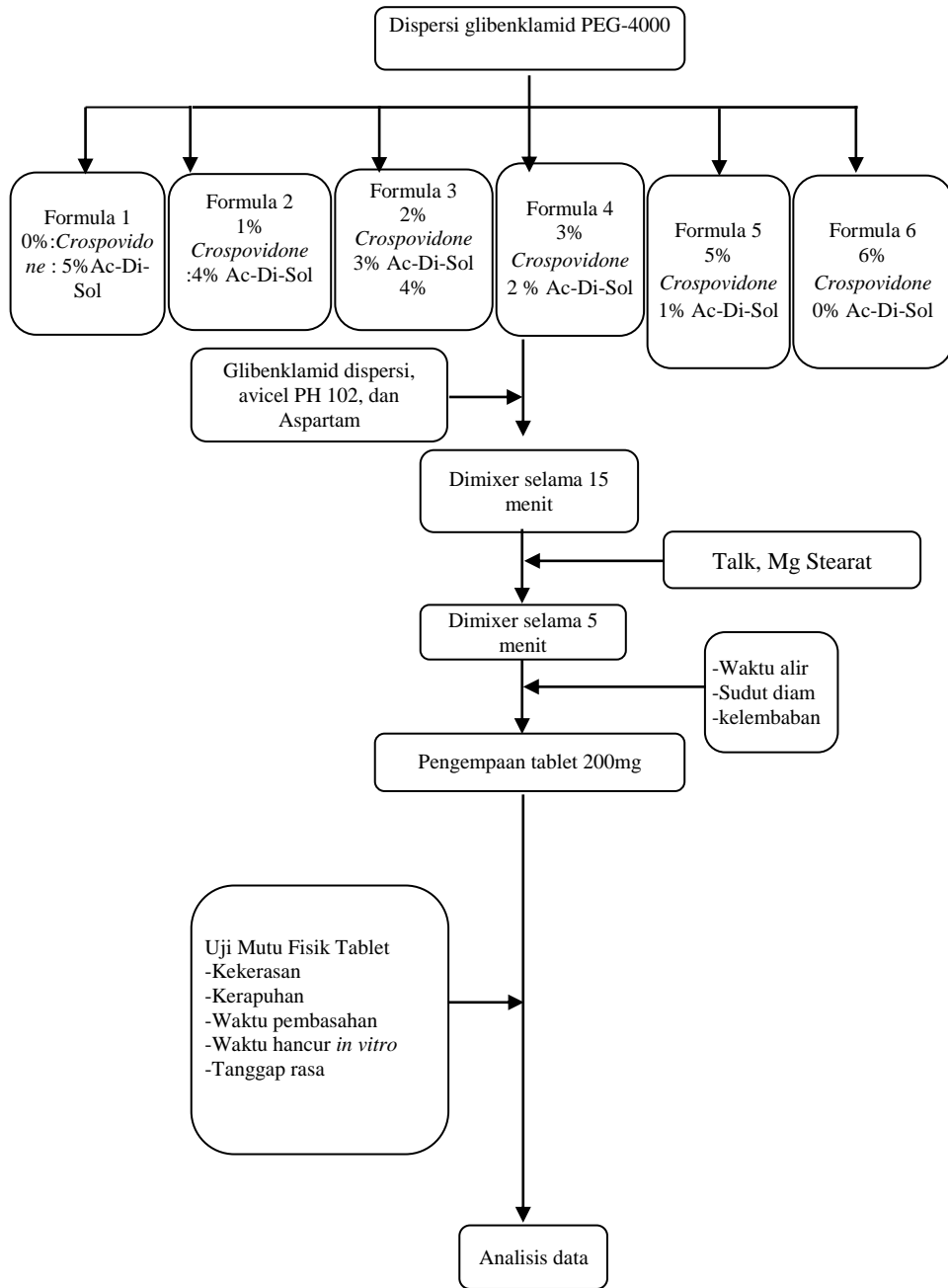


Gambar 9. Skema Jalannya Penelitian





**Gambar 10. Skema Penelitian Pembuatan PEG-4000 glibenklamid**



**Gambar 11. Skema Pembuatan ODT (Anon, 2018).**