

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tablet *effervescent* meloksikam dengan konsentrasi komponen *effervescent* dan PEG 6000 yang berbeda.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah formula tablet *effervescent* meloksikam dengan konsentrasi komponen *effervescent* dan PEG 6000 yang berbeda dengan model *factorial design*.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah konsentrasi komponen *effervescent* dan PEG 6000 dalam empat macam perbandingan serta pengujian mutu fisik granul dan mutu fisik tablet *effervescent* meloksikam.

2. Klasifikasi variabel utama

2.1. Variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah komponen *effervescent* dan PEG 6000 sesuai dengan model *factorial design*.

2.2. Variabel tergantung. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah respon yang ingin diketahui yaitu ; uji disolusi (Q_3), DE_{15} , peningkatan kelarutan, peningkatan kelembaban, keseragaman bobot, keseragaman kandungan, waktu larut, dan stabilitas tablet.

2.3. Variabel terkendali. Variabel terkendali pada penelitian ini adalah metode pembuatan dispersi padat, proses pembuatan atau pencetakan sediaan tablet *effervescent* meloksikam, suhu dan RH ruangan selama praktikum, bobot tablet *effervescent*, jumlah bahan aktif meloksikam, jumlah bahan-bahan tambahan, peralatan yang digunakan, dan peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Tablet *effervescent* meloksikam adalah tablet yang dapat terlarut atau terdispersi secara keseluruhan dalam beberapa menit tanpa perlu ditelan maupun dikunyah dan dibuat secara kempa langsung dengan bahan aktif meloksikam.

Kelembaban adalah pengukuran kandungan air dalam granul.

Q3 adalah metode untuk mengetahui besarnya kelarutan suatu zat dalam matriks pada suhu dan kecepatan pergerakan pada menit ke-3.

DE₁₅ adalah perbandingan antara luas area dibawah kurva AUC dengan luas total secara keseluruhan dari persentase jumlah obat yang terdisolusi selama 15 menit.

Peningkatan kelarutan adalah parameter untuk mengetahui peningkatan kelarutan dari suatu obat.

Keseragaman bobot adalah banyaknya penyimpangan bobot pada tiap tablet terhadap bobot rata-rata dari semua tablet sesuai syarat yang ditentukan dalam Farmakope Indonesia Edisi V.

Keseragaman kandungan adalah parameter untuk menjamin bahwa kandungan zat aktif pada setiap tablet relatif seragam atau memiliki variasi yang kecil.

Waktu larut tablet adalah waktu yang dibutuhkan tablet untuk hancur atau melarut.

Stabilitas adalah penyimpanan sediaan selama jangka waktu tertentu dengan kondisi penyimpanan meliputi suhu, cahaya, udara, dan kelembaban sedian bahan obat yang tersimpan dalam ruangan.

C. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam proses pembuatan tablet *effervescent* meloksikam dengan kombinasi komponen *effervescent* dan PEG 6000 antara lain adalah : timbangan analitik (Ohaus®), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu® UV-1800), spektroskopi IR Prestige-21, *micropipet*, *stopwatch*, sonikator,

desikator, *water bath*, *cube mixer*, mesin tablet *single punch*, *dissolution tester*, dan seperangkat alat kaca (Pyrex®).

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah meloksikam, pearlitol® 400DC (Roquette), sodium stearil fumarat (JHS Pharma), PEG 6000 (PT. Brataco, Indonesia), asam sitrat (PT. Brataco, Indonesia), natrium bikarbonat (PT. Brataco, Indonesia), metanol, dan dapar *phospat buffer saline* pH 6,8 (USP 2015).

D. Jalannya Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Universitas Setia Budi Surakarta yaitu di Laboratorium Teknologi Farmasi dan Laboratorium Analisis Farmasi.

2. Komposisi formula tablet *effervescent* meloksikam

Rancangan formula dapat dilihat pada tabel 3 dengan penentuan proporsi sebagai berikut :

Tabel 3. Rancangan formula factorial design

Formula (mg)	Xa	Xb	Xa	Xb
Formula 1	-1	-1	15%	4 bagian
Formula 2	+1	-1	25%	4 bagian
Formula 3	-1	+1	15%	6 bagian
Formula 4	+1	+1	25%	6 bagian

Keterangan : (Xa) Asam sitrat dan (Xb) PEG 6000.

Tabel 4. Formulasi tablet *effervescent* meloksikam dengan kombinasi komponen *effervescent* asam sitrat dan PEG 6000

Bahan	Komposisi formula (mg)			
	F1	F2	F3	F4
Meloksikam	15	15	15	15
PEG 6000	130,4	217,4	195,7	326,1
Asam sitrat	32,6	54,3	32,6	54,3
Natrium bikarbonat	42,4	70,7	42,4	70,7
Sodium stearil fumarat	5	5	5	5
Pearlitol® 400DC	ad	500	500	500

Keterangan : (F1) semua bahan pada konsentrasi level rendah, (F2) PEG 6000 level tinggi dan asam sitrat level rendah, (F3) PEG 6000 level rendah dan asam sitrat level tinggi, (F4) PEG 6000 dan asam sitrat pada konsentrasi level tinggi.

Penentuan formula dengan metode optimasi *factorial design* dapat dilihat pada tabel di atas yaitu dengan faktor pembanding komponen *effervescent* asam sitrat dan PEG 6000 menggunakan 2 level (level atas +1 dan level bawah -1)

dalam proporsi tertentu. Komponen *effervescent* asam sitrat menggunakan level atas 25% dan level bawah 15%. PEG 6000 menggunakan konsentrasi level atas 6x dari bobot asam sitrat dan level bawah 4x dari bobot asam sitrat.

3. Pembuatan kurva kalibrasi

3.1 Pembuatan Dapar Phospat Buffer Saline (PBS). Pembuatan larutan dapar *phospat buffer saline* 1 L dilakukan dengan cara, menimbang semua bahan yaitu NaCl sebanyak 8 gram; KCl sebanyak 0,2 gram; Na₂HPO₄ sebanyak 1,44 gram; KH₂PO₄ sebanyak 0,24 gram, kemudian dimasukkan ke dalam wadah 1000 mL, ditambahkan 800 mL *water for injeksi* (WFI) / *aquadest* dan dikocok sampai homogen menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Kemudian menambah dengan WFI / *aquadest* sampai 1000 mL dan dicek pH PBS dengan pH meter yang sudah dikalibrasi sebelumnya hingga diperoleh larutan dapar phospat pH 7,4 sebanyak 1 L. Pembuatan PBS diulang hingga diperoleh larutan dapar phospat pH 6,8 sebanyak 1 L (USP 2015).

3.2 Pembuatan larutan induk meloksikam. Larutan induk meloksikam dibuat dengan menimbang meloksikam sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan dengan 5 mL metanol dan disonikasi. Menambahkan dapar phospat pH 6,8 dalam labu takar 10 mL sampai tanda batas. Didapat larutan dengan konsentrasi 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Memipet larutan 1 mL dan mengencerkan dengan dapar phospat pH 6,8 sampai 50 mL. Didapat larutan stok dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

3.3 Penentuan panjang gelombang maksimum. Mengambil dari larutan stok meloksikam 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sebanyak 1 mL kemudian diencerkan dengan dapar phospat pH 6,8 sampai 10 mL, didapat larutan dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan dibaca dengan spektrofotometer Uv-Vis pada λ maksimum 200-400 nm dengan blanko dapar phospat pH 6,8. Hasil *scan wavelength* menunjukkan nilai absorbansi tertinggi terdapat pada λ maksimum.

3.4 Pembuatan larutan seri kurva kalibrasi. Mengambil dari larutan stok 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sebanyak 200, 400, 600, 800, dan 1.200 μL , kemudian diencerkan dengan dapar phospat pH 6,8 sampai 10 mL sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 12 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Masing-masing larutan dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum menggunakan

spektrofotometri UV-Vis. Pembacaan absorbansi dilakukan 4 replikasi pada setiap konsentrasi dan dibuat persamaan regresi linearnya.

3.5 Penetapan kadar meloksikam. Mengambil granul pada masing masing formula sesuai dengan yang dimasukkan dalam disolusi. Granul dimasukkan dalam labu takar 100 mL kemudian dilarutkan dalam metanol 10 mL dan disonikasi selama 5 menit. Larutan ditambah dengan dapar phospat pH 6,8 sampai tanda batas. Baca absorbansi pada panjang gelombang 362 nm.

4. Validasi metode spektrofotometri UV-Vis

4.1 Akurasi. Membuat seri konsentrasi 80%, 100%, dan 120% dari larutan stok yaitu 6,4, 8, dan 9,6 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan ditambah larutan dapar posphat pH 6,8 sampai tanda batas. Larutan dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum 362 nm sebanyak 3 replikasi pada setiap konsentrasi terhadap dapar fosfat pH 6,8 sebagai blanko. Nilai perolehan kembali (%) diperoleh dari persentase antara jumlah obat yang terukur dibandingkan dengan jumlah obat yang ditambahkan kemudian ditentukan rata-rata perolehan kembali. Nilai perolehan kembali yang diterima antara 95-105% (Ahuja 2005).

4.2 Presisi. Membuat seri konsentrasi 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sebanyak 10 replikasi. Larutan dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan ditambah larutan dapar posphat pH 6,8 sampai tanda batas. Larutan dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum 362 nm. Nilai perolehan kembali (%) diperoleh dari persentase antara jumlah obat yang terukur dibandingkan dengan jumlah obat yang ditambahkan kemudian ditentukan nilai simpangan baku relatifnya. Nilai simpangan baku relatif yang diterima tidak lebih dari 2% (Ahuja 2005).

5. Pembuatan dispersi padat

Membuat dispersi padat kombinasi antara komponen *effervescent* asam sitrat, PEG 6000, dan meloksikam. Menimbang PEG 6000 dan asam sitrat (sesuai dengan konsentrasi tiap formula), serta zat aktif meloksikam sebanyak 15 mg. Melebur PEG 6000 di atas *waterbath* pada suhu berkisar 56-63°C sambil diaduk. Menambahkan asam sitrat dan meloksikam, mengaduk sampai melebur dan homogen. Mendinginkan hasil dispersi padat dan menyimpan pada desikator

selama 24 jam. Hasil campuran dispersi padat yang diperoleh di *cutting* menjadi granul dispersi padat.

6. Pemeriksaan hasil dispersi padat dengan menggunakan spektroskopi FT-IR

Pemeriksaan hasil dispersi padat yang terdispersi PEG 6000 dilakukan dengan menimbang masing-masing sampel yaitu ; meloksikam, PEG 6000, dan dispersi padat formula 1 sampai formula 4 sebanyak 3 mg dan 300 mg KBr. Mencampur masing-masing sampel dengan KBr. Meletakkan hasil campuran masing-masing sampel ke dalam alat pompa hidrolik, kemudian tekan alat pompa dengan tekanan 6 ton sehingga terbentuk pellet, kemudian dianalisis dengan alat FT-IR.

7. Uji mutu fisik granul

7.1 Peningkatan kelembaban. Pengujian kelembaban dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Menimbang 2 gram granul dimasukkan kedalam alat. Menyalakan alat dan setting suhu 105°C. Menunggu alat beroperasi sampai terdengar bunyi. Persentase (%) angka yang muncul pada alat *moisture balance* merupakan nilai kandungan lembab dari granul yang diuji.

7.2 Uji disolusi. Pengujian dilakukan menggunakan alat uji disolusi tipe dayung. Alat uji disolusi diisi dengan dapar fosfat pH 6,8 sebanyak 900 mL. Alat diatur kecepatan putarnya sebesar 50 rpm dengan suhu 37°C. Pengujian dilakukan selama 30 menit. Waktu pengambilan sampling dilakukan pada menit ke 1, 2, 3, 5, 10, 15, dan 30 menit. Hasil cuplikan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum. Menentukan nilai Q_3 , DE_{15} , dan peningkatan kelarutan.

7.3 Uji stabilitas granul. Mengambil granul pada setiap formula dan asam sitrat tunggal masing-masing sebanyak 1 gram, kemudian disimpan pada suhu ruang dan suhu AC. Melakukan pengecekan bobot granul pada jam ke 0, 1, 2, 3, 24, dan 48. Menghitung persen kenaikan bobotnya.

8. Penentuan konsentrasi formula optimum komponen *effervescent* asam sitrat dan PEG 6000 berdasarkan hasil uji mutu fisik granul

Penentuan konsentrasi formula optimum komponen *effervescent* asam sitrat dan PEG 6000 didasarkan pada *superimposed contour plot* (hasil optimasi dengan menggunakan program *factorial design*) dari hasil pengujian mutu fisik granul. Penentuan konsentrasi optimum ini menggunakan empat parameter kritis yaitu ; Q_3 , DE_{15} , uji peningkatan kelarutan, dan uji peningkatan kelembaban. Hasil konsentrasi optimum kemudian dibuat ke dalam formula tablet *effervescent* meloksikam.

9. Pembuatan tablet *effervescent* meloksikam

Membuat dispersi padat dari konsentrasi optimum, kemudian dispersi di *cutting* menjadi granul dispersi padat. Mencampur granul dispersi padat dengan bahan-bahan lain yaitu ; natrium bikarbonat, pearlitol® 400DC, dan sodium stearil fumarat. Melakukan *mixing* campuran bahan tablet *effervescent* pada alat *cube mixer* dengan kecepatan 25 rpm selama 15 menit. Mengempa campuran bahan tablet *effervescent* pada mesin tablet *single punch* dengan bobot tablet yang diinginkan yaitu 500 mg.

10. Uji mutu fisik tablet

10.1 Uji keseragaman bobot. Mengambil 10 tablet secara acak, timbang masing-masing tablet dengan timbangan analitik. Mencatat hasil yang diperoleh untuk menghitung nilai rata-rata bobot tablet dan nilai standard deviasi.

10.2 Uji keseragaman kandungan. Mengambil 10 tablet dan larutkan dengan metanol 10 mL, kemudian tambah dapar fosfat pH 6,8 ad 100 mL. Menghitung nilai penerimaan (NP).

10.3 Uji waktu larut. Mengambil 3 tablet dan melarutkan masing-masing tablet dengan air ± 180 mL. Mengamati lamanya waktu tablet untuk melarut dan mencatat hasil waktu yang dibutuhkan sampai tablet terlarut habis.

10.4 Uji stabilitas. Mengambil 3 tablet dan disimpan pada suhu ruang 25°C dalam keadaan terbuka. Melakukan pengecekan kestabilan tablet selama waktu tertentu (Siregar & Wikarsa 2010).

E. Analisa Hasil

1. Pendekatan secara teoritis

Hasil penelitian dilakukan analisis dan dilihat kesesuaian dengan persyaratan baku uji mutu fisik tablet (keseragaman bobot, keseragaman kandungan, waktu larut, dan stabilitas tablet) sesuai ketentuan dari sediaan tablet *effervescent* meloksikam yang terdispersi PEG 6000 dan asam sitrat. Data hasil penelitian yang diperoleh dibandingkan dan dianalisis dengan berbagai artikel, jurnal penelitian, literatur maupun buku untuk menghindari adanya kesalahan dalam penelitian.

2. Pendekatan statistik

Prediksi konsentrasi optimum komponen *effervescent* asam sitrat dan PEG 6000 ditentukan dari perolehan data hasil pengujian mutu fisik granul dispersi padat komponen *effervescent* asam sitrat, PEG 6000, dan meloksikam dengan menggunakan *Software Design Expert versi 7.1.6*. Pendekatan statistik menggunakan *Uji One Sample T-test* dengan taraf kepercayaan 95% untuk menguji perbedaan nilai mean (rata-rata) dari kelompok uji secara statistik dan mengetahui besarnya signifikan.