

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua yang termasuk dalam sasaran penelitian. Dalam penelitian ini populasi yang digunakan adalah sediaan tablet salut enterik asetosal yang beredar di kota Surakarta dengan menggunakan 5 merek dengan kekuatan sama 100 mg.

Sampel adalah proporsi keseluruhan yang dipakai dalam penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tablet salut enterik asetosal dengan 100 mg dengan nomor batch sama.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama merupakan variabel yang terdiri dari variabel bebas, variabel terkendali, dan variabel tergantung. Variabel utama dari penelitian ini adalah uji disolusi terbanding tablet asetosal.

2. Klasifikasi variabel utama

2.1. Variabel bebas. Variabel yang akan diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Tablet asetosal merupakan variabel bebas dalam penelitian ini.

2.2. Variabel tergantung. Variabel yang mudah terpengaruh oleh variabel bebas. Keseragaman bobot tablet, kekerasan tablet, waktu hancur tablet, data uji disolusi, kadar obat adalah variabel tergantung dari penelitian ini.

2.3. Variabel terkendali. Variabel yang memiliki pengaruh terhadap variabel tergantung dan bebas. Variabel terkendali yang dimaksud adalah kondisi peneliti, metode penelitian, dan kondisi laboratorium.

3. Definisi operasional variabel utama

3.1. Keseragaman bobot adalah salah satu parameter untuk mengetahui serta memastikan setiap tablet mempunyai kandungan jumlah bahan aktif atau obat dengan takaran atau ukuran yang tepat dan merata. Syarat uji keseragaman bobot yang baik mempunyai koefisien variasi kurang dari 5%.

3.2. Kekerasan tablet adalah kuat terhadap terjadi guncangan mekanik seperti pada saat pembuatan, pengepakan, dan pengapalan.

Kekerasan tablet dinyatakan baik apabila tablet mempunyai kekerasan 4-8 kg.

3.3. Kerapuhan tablet adalah salah satu parameter uji mutu fisik yang berfungsi sebagai petunjuk dari gambaran ketahanan tablet dalam guncangan dan pengikisan. Kerapuhan tablet dikatakan memenuhi syarat apabila kerapuhan tablet kurang dari 1%.

3.4. Waktu hancur tablet adalah waktu yang dibutuhkan tablet untuk hancur dalam tubuh. Syarat waktu hancur tablet salut enterik adalah tablet tidak boleh hancur dalam tahap asam selama dua jam kecuali zat penyalut dan waktu hancur tidak boleh lebih dari 60 menit pada tahap dasar.

3.5. Produk inovator adalah obat dengan zat aktif yang ditemukan pertama kali oleh industri farmasi.

3.6. Kadar tablet adalah jumlah zat aktif yang terkandung dalam tablet. Syarat kadar tablet asetosal salut enterik adalah 95 sampai 105%.

3.7. Syarat uji disolusi tablet asetosal adalah Tahap asam tidak boleh kurang dari 10% dan dasar harus tidak kurang dari 75 %.

3.8. Faktor perbedaan adalah faktor yang dapat melihat perbedaan dari profil disolusi. Syarat nilai faktor perbedaan atau F1 yaitu 1-15 %.

3.9. Faktor kemiripan atau F2 adalah faktor yang dapat melihat kemiripan profil disolusi. Syarat nilai faktor kemiripan adalah 50 – 100%.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca analitik, mortir, stamper, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kuvet, spektrofotometer UV, dissolution tester, labu takar, beaker glass, gelas ukur, spatel, penyaring, pH meter, hardness tester, friability tester, dan disintegrator tester.

2. Bahan

Tablet asetosal (inovator, paten), baku pembanding asetosal, aquades, kalium dihidrogen fosfat, natrium hidroksida, etanol, kertas whatman, HCl pekat.

D. Jalanya Penelitian

1. Pemilihan dan pengambilan sampel

Pemilihan sampel dilakukan dengan menggunakan metode purposive sampling non random, dimana peneliti menentukan pengambilan sampel dengan ciri-ciri yang khusus yang sesuai dengan tujuan penelitian ampel diambil dengan metode purposive sampling. Sampel yang akan diteliti adalah asetosal 100 mg salut enterik, tablet yang diuji harus dalam batch yang sama, tablet yang diuji dari perusahaan farmasi yang berbeda dengan harga yang berbeda. Sampel diambil dari apotek dan kemudian setiap tablet diberi kode seperti A, B, C, D, E. Sampel dengan kode A adalah produk asetosal dari inovator. Produk B adalah produk asetosal dari luar negeri dengan harga cukup mahal. Asetosal bermerek dagang C adalah produk PMDN dengan harga yang cukup mahal dan D dari PMDN dengan harga yang cukup murah, Sedangkan kode E dari perusahaan swasta indonesia dipilih dengan pertimbangan bahwa harga di pasaran yang cukup terjangkau.

2. Uji verifikasi metode

2.1. Penentuan linearitas. Penentuan linearitas dengan membuat seri konsentrasi 30 – 80 untuk medium HCl 0,1 N dan 20-70 untuk medium dapar. Konsentrasi tersebut dibaca serapan menggunakan spektrofotometri uv pada panjang gelombang maksimum. Hasil analisis absorbansi dibuat suatu persamaan garis regresi linier dan tentukan koefisien relasi.

2.2. Penentuan LOD dan LOQ. Penentuan batas atas deteksi dan batas kuantitasi (LOD dan LOQ) dilakukan dengan menggunakan kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi diasumsikan dengan respon instrumen (y) berhubungan secara linear dengan standar (x) sehingga dapat dinyatakan dalam persamaan $y = a + bx$. Berikut adalah rumus batas deteksi dan batas kuantitas:

2.3. Penentuan presisi. Presisi diperoleh dengan mengukur konsentrasi 50 ppm sebanyak 10 pengulangan dari data serapan atau absorbansi tersebut dihitung nilai rata-rata % recovery kemudian dihitung nilai RSD.

2.4. Uji akurasi. Penentuan akurasi dilakukan dengan menggunakan 3 konsentrasi (40; 50; dan 60 ppm) dan 3 replikasi untuk masing-masing konsentrasi. Data yang diperoleh dihitung nilai perolehan kembali atau recovery dengan rumus sebagai berikut (Depkes RI, 2020).

3. Uji mutu fisik tablet

3.1. Uji keseragaman bobot. 20 tablet dari masing masing sampel ditimbang dengan menggunakan neraca analitik. Hasil penimbangan bobot dicatat dan dibandingkan dengan persyaratan yang berada dalam farmakope indonesia.

3.2. Uji kekerasan. 10 tablet dan tiap tablet diletakan dengan posisi tegak lurus pada alat hardness tester. Alat penekan ditekan hingga tablet pecah dan skala yang diperoleh menunjukan kekerasan tablet.

3.3. Uji kerapuhan tablet. 20 tablet dibebasdebukan kemudian ditimbang dengan menggunakan neraca analitik dan masukan kedalam alat friability tester. Pengujian dilakukan selama 100 putaran dengan kecepatan 25 rpm. Tablet dikelurkan kemudian dibebasdebukan dan timbang kembali. Sampel dinyatakan memenuhi syarat jika bobot yang hilang tidak lebih dari 1% bobot awal dan tidak ada tablet yang hancur.

3.4. Uji waktu hancur. 6 tablet dimasukan dalam media uji waktu hancur, setiap tabung diisi 1 tablet dengan media uji dengan $37^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. pengujian waktu hancur tablet dilakukan 2 tahap yaitu tahap asam dan dapar. pada tahap asam dilakukan selama 1 jam pengerjaan dan 60 menit pada tahap dapar. Apabila 1 atau 2 tablet dalam uji waktu hancur tidak hancur secara sempurna maka prosedur dapat diulangi dengan menggunakan 12 tablet. Syarat uji waktu hancur dari total 18 tablet tidak kurang dari 16 tablet yang hancur sempurna.

4. Penetapan kandungan tablet asetosal

4.1 Pembuatan larutan induk.

4.1.1 pembuatan larutan induk dalam HCl 0,1 N. Asetosal baku ditimbang seksama 100 mg dilarutkan dalam 100 mL HCl 0,1 N. Larutan tersebut dipepet 10 mL dan diencerkan dengan menggunakan HCl 0,1 N hingga 100 mL.

4.1.2 Pembuatan larutan induk dalam dapar fosfat pH 6,8. Asetosal baku ditimbang seksama 100 mg dilarutkan dalam 100 mL dapar fosfat pH 6,8. Larutan tersebut dipepet 10 mL dan diencerkan dengan menggunakan dapar fosfat pH 6,8 hingga 100 mL.

4.2 Penentuan panjang gelombang maksimum.

4.2.1 Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dalam HCl 0,1 N. Larutan asetosal dengan konsentrasi 80 mg/mL dibaca dengan menggunakan spektrofometri uv. Serapan dibaca pada panjang gelombang antara 200-400 nm. Hasil panjang gelombang maksimum

dapat dilihat dari panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum.

4.2.2 Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dalam dapar fosfat pH 6,8. Larutan asetosal dengan konsentrasi 60 mg/mL dibaca dengan menggunakan spektrofometri uv. Serapan dibaca pada panjang gelombang antara 200-400 nm. Catat panjang gelombang maksimal yang diperoleh. Hasil panjang gelombang maksimum dapat dilihat dari panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum.

4.3 Penentuan *operating time*.

4.3.1 Penentuan *operating time* dalam medium HCl 0,1 Larutan asetosal dengan konsentrasi 80 mg/mL dibaca dengan menggunakan spektrofometri uv. Serapan dibaca pada panjang gelombang maksimum Serapan dibaca dengan gelombang maksimum dari menit ke-0 sampai menit 30 hingga diperoleh absorbansi yang stabil.

4.3.2 Penentuan *operating time* dalam dapar fosfat pH 6,8. Larutan asetosal dengan konsentrasi 60 mg/mL dibaca dengan menggunakan spektrofometri uv. Serapan dibaca pada panjang gelombang maksimum Serapan dibaca dengan gelombang maksimum dari menit ke-0 sampai menit 30 hingga diperoleh absorbansi yang stabil.

4.4 Penentuan kurva baku. Kurva baku ditentukan dengan menggunakan larutan yang telah dibuat seri konsentrasinya yaitu 20, 30, 40, 60, dan 80 ppm. Seri konsentrasi tersebut serapannya dibaca dengan menggunakan spektrofotometer uv pada panjang gelombang maksimal. Hasil yang diperoleh dibuat hubungan antara konsentrasi asetosal dengan absorbansinya dalam satu kurva dan persamaan regresi linier. Persamaan kurva baku ini akan digunakan untuk penetapan kadar asetosal terdisolusi.

4.5 Uji disolusi asetosal. Penetapan jumlah asetosal yang terlarut dilakukan dengan cara satu tablet dimasukan ke dalam labu disolusi yang berisi 900 ml medium disolusi. Pengujian dilakukan 2 tahap. Tahap asam dengan menggunakan HCl 0,1 N selama 2 jam dan tahap dapar dengan menggunakan dapar fosfat pH 6,8 selama 60 menit. Suhu dijaga konstan pada $37,5 \pm 0,5$ °C dan kecepatan putaran 100 rpm. Tahap asam pada jam 2 diambil sampel sebanyak 5 ml dan tahap dapar pada tiap menit ke 10, 15, 20, 30, 45, dan 60 diambil sampel sebanyak 5,0 ml. Setiap pengambilan sampel, cairan medium yang diambil diganti dengan cairan medium yang baru dengan volume yang sama dengan pengambilan.

4.6 Kadar obat asetosal. 20 tablet diserbukan dan diambil serbuk setara dengan 100 mg kemudian dilarutkan dalam 100 ml dapar fosfat. Larutan tersebut dipepet 1 mL dan diencerkan dengan menggunakan dapar fosfat pH hingga 25 mL. Larutan hasil pengenceran tersebut dibaca serapannya dengan menggunakan spektrofometri uv.

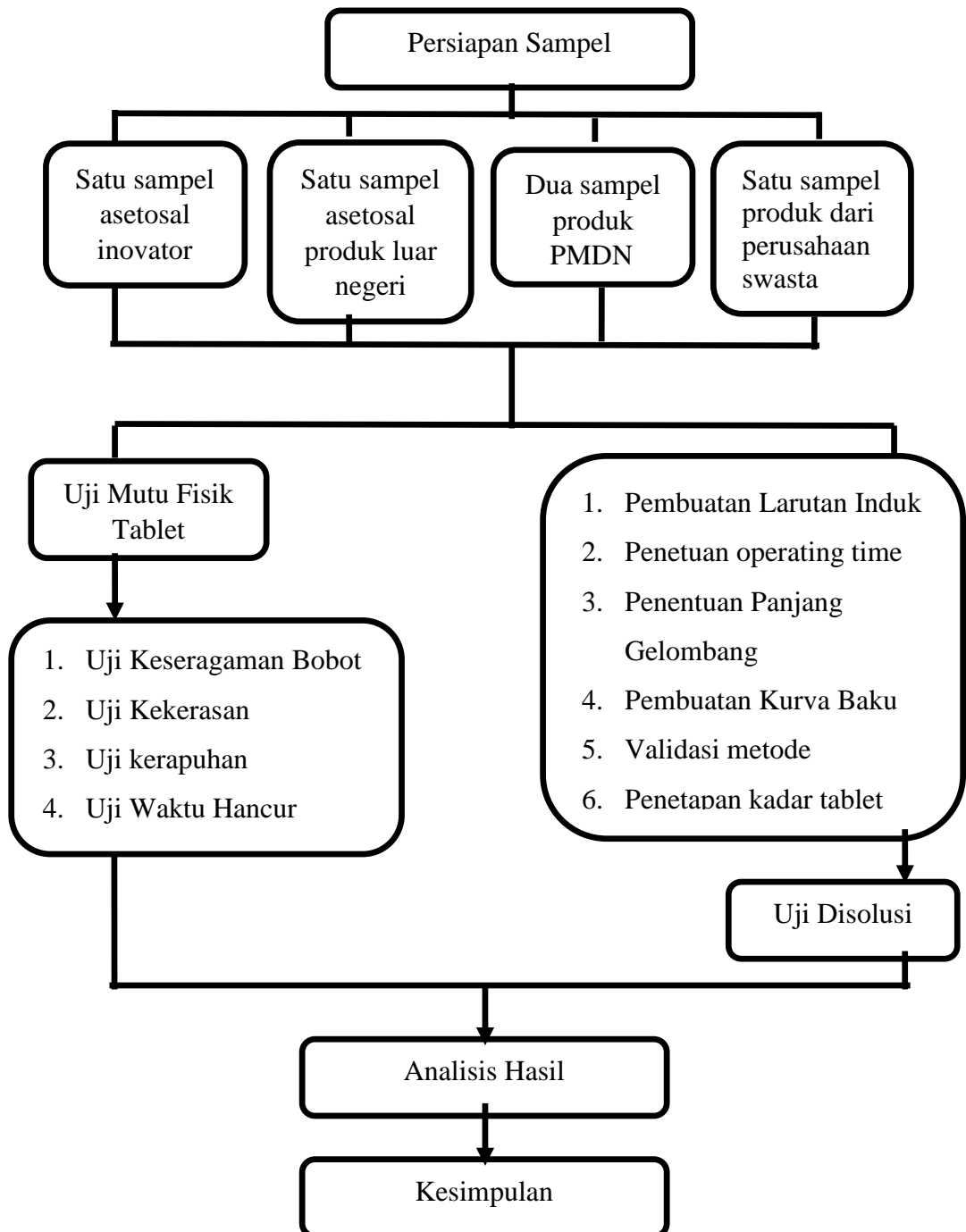
E. Analisis Hasil

1. Pendekatan teoritis

Validasi metode, tablet diuji mutu fisik dan disolusinya didapatkan data uji validasi metode (linearlitas, akurasi, presisi, LOD dan LOQ), uji mutu fisik tablet (keseragaman bobot tablet, kekerasan tablet, kerapuhan tablet, dan waktu hancur), dan data uji disolusi.

2. Pendekatan statistik

Analisis data dapat dianalisis dengan menggunakan SPSS. Pertama dilakukan Uji Kormogrof-smirnov atau Sapiro Wilk untuk melihat apakah data yang didapat terdistribusi normal atau tidak. Apabila data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan pengujian uji non parametik, akan tetapi apabila data terdistribusi normal ($p > 0,05$) maka dapat dilakukan pengujian parametik dengan uji ANOVA. Pada uji ANOVA menunjukan nilai $p < 0,05$ artinya data yang diperoleh dinyatakan terdapat perbedaan antara masing-masing perlakuan namun apabila menunjukkan nilai $p > 0,05$ artinya data yang diperoleh dinyatakan tidak ada perbedaan antara masing-masing perlakuan. Selanjutnya melakukan uji Post Hoc Test dengan Tukey untuk mengetahui obat yang paling efektif

F. Skema penelitian**Gambar 3. Skema Penelitian**