

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*true experimental design*).

4.2 Variabel Penelitian

4.2.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah daya adhesi dan laju pelepasan obat dalam tablet vaginal metronidazol.

4.2.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi kadar polimer mukoadhesive HPMC dan superdisintegran *crosscarmellose sodium*.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasetika Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Fakultas Farmasi Laboratorium Solida Universitas Surabaya.

4.4 Bahan dan Alat Penelitian

4.4.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan sebagai bahan penelitian adalah Metronidazol, HPMC, Magnesium stearat, Talk, Cab-O-Sil, *Crosscarmellose sodium*, dan *Microcrystalin cellulose*.

4.4.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah alat pencetak tablet rotary, timbangan analitik, Spektrofotometer UV-VIS, alat uji sifat alir, alat uji waktu hancur, alat uji kekerasan tablet, alat uji disolusi, alat uji mukoadhesive, stopwatch, kaca arloji, termometer, kuas, jangka sorong, mortir, stamper, dan gelas ukur.

4.5 Definisi Istilah/ Operasional

1. Tablet Vaginal adalah tablet yang dirancang untuk administrasi vaginal dalam pengobatan infeksi local, penyerapan sistemik dan penyerapan ke dalam jaringan vaginal (Lieberman *et al*,1989).
2. Mukoadhesive adalah polimer yang digunakan dalam sistem pelepasan obat dimana terjadi ikatan antara bahan ini dengan substrat biologi yaitu permukaan mukus (Bahaudin *et al*,2012).
3. Superdisintegran adalah bahan yang digunakan dalam sediaan padat untuk mempercepat pemecahan massa padat menjadi partikel yang lebih kecil sehingga lebih mudah larut.
4. Daya adhesi adalah gaya molekuler pada area kontak antar elemen yang berbeda agar dapat berikatan satu sama lain (Bahaudin *et al*,2012).
5. Laju pelepasan obat adalah kecepatan obat per satuan waktu untuk melepaskan obat ke dalam fisiologis tubuh.
6. Optimum adalah kondisi dimana tablet vaginal memiliki daya adhesive yang tinggi dan memiliki laju pelepasan yang cepat.
7. Bulat agak tebal yakni tablet yang memiliki ketebalan lebih dari 0,500 cm.
8. Bulat tebal yakni tablet yang memiliki ketebalan lebih dari 0,600 cm.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Proses Pembuatan Tablet Vaginal Metronidazol

4.6.1.1. Desain Formula Tablet Vaginal Metronidazol

Desain formula untuk penelitian ini ditunjukkan melalui tabel di bawah ini :

Tabel 4.1. Formula Tablet Vaginal Metronidazol

Bahan	Fungsi	FI (%)	FI (mg)	F II (%)	F II (mg)	F III (%)	F III (mg)
Metronidazol	Obat	20	200	20	200	20	200
HPMC	Polimer mukoadhesive	30	150	30	300	50	250
Crosscarmellose sodium	Superdisintegran	1	5	3	15	1	5
Mg Stearat	Lubrikan	1	5	1	5	1	5
Talc	Glidan	1	5	1	5	1	5
Cab-O-Sil	Glidan	1	5	1	5	1	5
Microcrystalline Cellulose	Diluent	Ad 100%	Ad 500	Ad 100%	Ad 500	Ad 100%	Ad 500

4.6.1.2 Pembuatan Tablet Vaginal Metronidazol

Dalam penelitian ini pembuatan tablet vaginal Metronidazol dijelaskan dalam tahap-tahap berikut ini :

1. Penimbangan semua bahan untuk tablet vaginal Metronidazol sesuai dengan formula masing-masing, yaitu Metronidazol, HPMC, *microcrystalline cellulose*, *crosscarmellose sodium*, talk, cab-o-sil dan magnesium stearate.
2. *Microcrystalline cellulose*, *crosscarmellose sodium* dan HPMC dicampur dan dikocok manual hingga homogen selama 10 menit.
3. Metronidazol ditambahkan dalam campuran (2) dan dikocok manual hingga homogen selama 10 menit.

4. Talk ditambahkan dalam campuran (3) dan dikocok manual hingga homogen selama 5 menit.
5. Kemudian ditambahkan magnesium stearate dan cab-o-sil dalam campuran (4) dan diaduk hingga homogen selama kurang lebih 1 menit
6. Campuran serbuk yang telah homogen disiapkan untuk penabletan.
7. Setelah alat diatur, campuran serbuk dicetak dengan mesin pencetak tablet

Alur penelitian pembuatan tablet vaginal Metronidazol dapat dilihat pada gambar 4.1.

4.6.2 Evaluasi *In Process Control* Tablet Vaginal Metronidazol

4.6.2.1 Uji Laju Alir Massa Serbuk

Tujuan

Uji laju alir dilakukan untuk mengetahui massa serbuk dari tablet vaginal Metronidazol dapat mengalir dengan baik melewati corong gelas.

Metode

Uji ini dilakukan dengan menggunakan corong gelas, pertama yang dilakukan yakni menyiapkan 100 gram serbuk sampel dimasukkan ke dalam beaker glass. Kemudian masukkan serbuk dengan hati-hati, tekan dengan perlahan bagian bawah corong sehingga serbuk masuk ke dalam corong gelas. Setelah serbuk dimasukkan, biarkan selama minimal 30 detik sebelum memulai tes untuk menghindari

kemungkinan pembentukan flokulat. Lepaskan tekanan pada bawah corong, biarkan serbuk mengalir selama 10 detik. Waktu diamati dengan stopwatch dari mulai dibukanya lubang corong hingga seluruh massa serbuk mengalir melewati lubang bawah corong. Laju/kecepatan alir dinyatakan dalam gram/detik.

Interpretasi Hasil

Laju alir dikatakan baik apabila 100 g massa serbuk mengalir ≥ 10 g/detik (Lachman et al,1980).

4.6.2.2 Uji Homogenitas Massa Serbuk

Tujuan

Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah obat pada proses pencampuran telah tercampur dengan merata dalam massa serbuk dengan menggunakan metode penetapan kadar obat.

Metode

Uji ini dilakukan dengan menggunakan pipet mikromeritik yang dimasukkan ke bagian atas, tengah dan bawah massa serbuk selama proses pencampuran. Sejumlah gram bahan yang setara dengan 50 mg obat diambil dilarutkan dalam 100 ml buffer sitrat ph 4,8 sampai tanda batas dan dikocok selama 30 menit. Didiamkan beberapa saat, sehingga bagian yang tidak larut mengendap dan disaring dengan kertas saring. Larutan bening dipipet 10 ml ke dalam labu ukur 50 ml, lalu diencerkan dalam buffer sitrat ph 4,8 sampai tanda batas dan dikocok selama 30 menit. Larutan dipipet sebanyak 7,5 ml dan dimasukkan dalam labu ukur 50 ml, lalu diencerkan dalam buffer sitrat ph 4,8 sampai tanda batas dan

dikocok selama 30 menit. Hasilnya kemudian disaring dengan kertas saring dan ditentukan kadarnya dengan spektrofotometri Uv/vis dengan panjang gelombang 319 nm (Depkes RI,1995).

Interpretasi Hasil

Homogenitas serbuk dikatakan baik apabila tiap bagian mengandung kadar Metronidazol yang didapatkan tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110%(Depkes RI,1995).

4.6.3 Evaluasi Sediaan Tablet Vaginal Metronidazol

4.6.3.1 Uji Organoleptik

Tujuan

Uji organoleptik dilakukan dengan tujuan mengetahui bentuk fisik sediaan tablet vaginal Metronidazol, yang meliputi bentuk tablet, homogenitas warna, dan tekstur permukaan

Metode

Uji organoleptik dilakukan secara deskriptif dengan cara mengidentifikasi sediaan. Diambil 10 tablet yang dihasilkan, kemudian diamati secara visual, meliputi bentuk tablet, homogenitas warna, tekstur permukaan cacat atau tidak, dan penampilan fisik bebas dari bintik-bintik atau tidak.

Interpretasi Hasil

Bentuk : Memiliki bentuk yang bulat dengan permukaan atas dan bawah tablet rata

Warna : Putih, bebas dari bintik-bintik atau noda

Tekstur Permukaan : Halus, tidak cacat

4.6.3.2 Uji Keseragaman Bobot

Tujuan

Uji keseragaman bobot tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui keseragaman bobot pada masing-masing tablet.

Metode

Uji keseragaman bobot tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan cara menimbang 20 tablet, lalu hitung bobot rata-rata tiap tablet (Depkes RI, 1979).

Interpretasi Hasil

Jika ditimbang satu persatu, tidak boleh lebih dari 2 tablet yang masing-masing bobotnya menyimpang dari bobot rata-ratanya lebih besar dari harga yang ditetapkan kolom A, dan tidak satu tablet pun yang bobotnya menyimpang dari bobot rata-ratanya lebih dari harga yang ditetapkan kolom B. Jika tidak mencukupi 20 tablet, dapat digunakan 10 tablet; tidak satu tablet pun yang bobotnya menyimpang lebih besar dari bobot rata-rata yang ditetapkan kolom A dan tidak satu tablet pun yang bobotnya menyimpang lebih besar dari bobot rata-rata yang ditetapkan kolom B (Depkes RI, 1979).

Tabel 4.2 Syarat Keseragaman Bobot Tablet

Bobot rata – rata	Penyimpangan bobot rata – rata dalam %	
	A	B
25 mg atau kurang	15%	30%
26 mg sampai dengan 150 mg	10%	20%
151 mg sampai dengan 300 mg	7,5%	15%
Lebih dari 300 mg	5%	10%

4.6.3.3 Uji Keseragaman Ukuran

Tujuan

Uji keseragaman ukuran tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh ukuran yang seragam pada sediaan tablet.

Metode

Uji keseragaman ukuran tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan cara mengukur diameter pada 20 tablet dengan menggunakan *hardness tester*. Hasil pengukuran dicatat dan kemudian dihitung rata-ratanya (Depkes RI, 1979).

Interpretasi Hasil

Diameter tablet vaginal Metronidazol tidak lebih dari 3 kali dan tidak lebih dari 1 1/3 tebal tablet (Depkes RI, 1979). Untuk penelitian ini diameter tablet tidak boleh lebih dari 15 mm dan tebal tablet tidak boleh lebih dari 0,675 cm.

4.6.3.4 Uji Kekerasan Tablet

Tujuan

Uji kekerasan tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ketahanan tablet dalam melawan tekanan mekanik seperti guncangan, kikisan dan terjadi keretakan tablet selama pembungkusan, pengangkutan dan pemakaian.

Metode

Uji kekerasan tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan 10 tablet dari masing-masing formula diukur kekerasannya dengan alat *hardness tester*. Kekerasan tablet yang diperkenankan adalah antara 4 sampai 10 kg. Kemudian mencatat hasil yang didapat. Selanjutnya dilakukan analisis kekerasan tablet (Ansel,1989).

Interpretasi Hasil

Pada umumnya, tablet yang baik dinyatakan mempunyai kekerasan antara 4-10 kg. Namun hal ini tidak mutlak, artinya kekerasan tablet dapat lebih kecil dari 4 atau lebih tinggi dari 8 kg. Kekerasan tablet kurang dari 4 kg masih dapat diterima dengan syarat kerapuhannya tidak melebihi batas yang diterapkan. Tetapi biasanya tablet yang tidak keras akan memiliki kerapuhan yang tinggi dan lebih sulit penanganannya pada saat pengemasan, dan transportasi. Kekerasan tablet lebih besar dari 10 kg masih dapat diterima, jika masih memenuhi persyaratan waktu hancur/disintegrasi dan disolusi yang dipersyaratkan (Ansel,1989).

4.6.3.5 Uji Kerapuhan Tablet

Tujuan

Uji kerapuhan tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan tujuan untuk mengukur ketahanan permukaan tablet terhadap gesekan sewaktu pengemasan dan pengiriman.

Metode

Uji kerapuhan tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan 10 tablet dari masing-masing formula ditimbang dengan seksama (W_o). Sebelum ditimbang, dibersihkan permukaan tablet dari serbuk atau kotoran yang menempel. Setelah itu tablet dimasukkan ke dalam *friabilator* dan menjalankan alat (25 rpm sebanyak 100 kali putaran selama 4 menit). Setelah selesai, tablet dikeluarkan dan dibersihkan serbuk pada permukaan tablet. Selanjutnya timbang kembali (W_t). Dihitung persentase kehilangan bobot sebelum dan sesudah perlakuan (% friabilitas).

$$\% \text{ Friabilitas} = \frac{(W_o - W_t)}{W_o} \times 100 \%$$

(USP XXX,2007).

Interpretasi Hasil

Tablet Vaginal Metronidazol dianggap baik bila kerapuhan tidak lebih dari 1% (USP XXX,2007).

4.6.3.6 Uji Laju Pelepasan Obat

Tujuan

Uji laju pelepasan obat tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seberapa banyak kadar obat yang terlepas dari sediaan secara kuantitatif per satuan waktu

Metode

Uji laju pelepasan obat dilakukan dengan metode keranjang. Medium disolusi terdiri dari 650 mL buffer sitrat (pH 4,8). Pelepasan dilakukan pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, dengan kecepatan rotasi 25 rpm. Sebanyak 10 mL sampel diambil dengan interval waktu yang telah ditentukan (tiap jam antara 30, 60, 90, 120, 180, 240 menit) dan volume diganti dengan medium yang segar. Kemudian sampel disaring melalui kertas saring *Whitman* no. 40 dan dianalisis dengan spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang 319 nm (El-Kamel,2002).

Interpretasi Hasil

Laju pelepasan obat dikatakan baik apabila jumlah obat yang terlepas dari sediaan sebanding dengan waktu (Martin,1993).

4.6.3.7 Uji Pengembangan Tablet

Tujuan

Uji pengembangan tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seberapa banyak tablet bisa mengembang dari sediaan.

Metode

Uji pengembangan tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan 3 tablet vaginal masing-masing ditimbang (W_0) dan ditempatkan secara terpisah pada buffer sitrat pH 4,8 dan diinkubasi pada suhu $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Pada interval waktu 15 menit, 30 menit, 1 jam, 2 jam, dan 4 jam, tablet dikeluarkan dari cawan dan kelebihan air dibuang dengan menggunakan kertas saring. Tablet yang mengembang ditimbang kembali (W_t) dan indeks pengembangan dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Indeks Pengembangan} : \frac{(W_t - W_0)}{W_0}$$

(Geeta,2010)

Interpretasi Hasil

Pengembangan sediaan dikatakan baik apabila peningkatan indeks pengembangan tablet berbanding lurus dengan bertambahnya waktu uji.

4.6.3.8 Uji in-vitro Mukhoadhesive

Tujuan

Uji In-vitro mukhoadhesive tablet vaginal Metronidazol dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seberapa kuat tablet bisa terikat dalam mukosa vagina.

Metode

Daya mukoadhesive tablet diukur dengan menggunakan alat uji mukhoadhesive. Metode ini menggunakan model membran mukosa. Mukosa membran mukosa dibilas dengan buffer sitrat pH 4,8. Kemudian diletakkan pada platform dan dijepit dengan penjepit

platform. Lalu tablet dipasang pada timbangan yang sudah ditara. Sebanyak 0,1 ml larutan buffer sitrat dilewatkan pada membran mukosa dengan syringe plastik. Tablet dan mukosa dibiarkan mengalami kontak selama 15 menit, kemudian timbangan diberi bobot. Penambahan dihentikan setelah terjadi pemutusan kontak antara tablet dengan mukosa (Ahuja *et al*, 1997).

Interpretasi Hasil

Tablet vaginal memiliki daya adhesi baik apabila kenaikan jumlah beban yang dihasilkan tiap tablet semakin besar.

4.6.3.9 Uji Penetapan Kadar Metronidazol

Tujuan

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kadar obat Metronidazol dalam tablet vaginal agar sesuai dengan dosis yang diinginkan.

Metode

Uji ini dilakukan dengan menggunakan 10 tablet vaginal Metronidazol yang dihancurkan hingga menjadi massa serbuk. Sejumlah gram bahan yang setara dengan 50 mg obat diambil dilarutkan dalam 100 ml buffer sitrat pH 4,8 sampai tanda batas dan dikocok selama 30 menit. Didiamkan beberapa saat, sehingga bagian yang tidak larut mengendap dan disaring dengan kertas saring. Larutan bening dipipet 10 ml ke dalam labu ukur 50 ml, lalu diencerkan dalam buffer sitrat pH 4,8 sampai tanda batas dan dikocok selama 30 menit. Larutan dipipet sebanyak 7,5 ml dan dimasukkan dalam labu ukur 50 ml, lalu diencerkan dalam buffer sitrat pH 4,8 sampai tanda batas dan dikocok selama 30 menit.

Hasilnya kemudian disaring dengan kertas saring dan ditentukan kadarnya dengan spektrofotometri Uv/vis dengan panjang gelombang 319 nm (Depkes RI,1995).

Interpretasi Hasil

Kadar Metronidazol dikatakan baik apabila kadar Metronidazol yang didapatkan tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110%(Depkes RI,1995).

4.6.3.10 Uji Waktu Hancur / *Disintegrating Time*

Tujuan

Uji waktu hancur dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui waktu hancur dari sediaan tablet

Metode

Uji waktu hancur dilakukan dengan cara memasukkan 1 tablet pada masing-masing tabung dari keranjang. Tanpa menggunakan cakram pada tiap tabung, jalankan alat. Gunakan air bersuhu $37^{\circ} \pm 2^{\circ}$ sebagai media. Angkat keranjang dan amati semua tablet (Depkes RI, 1995).

Interpretasi Hasil

Tablet vaginal Metronidazol dinyatakan hancur sempurna bila waktu yang diperbolehkan untuk menghancurkan tablet vaginal adalah tidak lebih dari 30 menit (Depkes RI, 1995).

4.7 Analisis Data Statistik

Analisis data statistik yang digunakan adalah *one-way analysis of variance* (One-Way ANOVA) yang merupakan metode untuk menganalisis data dari eksperimen desain yang objektif untuk membandingkan rata-rata dua grup atau lebih dengan menggunakan variabel numerik tunggal untuk menguji hipotesis nol dari populasi yang memiliki rata-rata hitung (*mean*) yang sama (Dahlan, 2009).

Analisis post hoc dilakukan dengan uji Tukey HSD (Honestly Significant Difference Test). Uji Tukey digunakan untuk membandingkan seluruh pasangan rata-rata perlakuan setelah analisis uji Anova dilakukan. Prinsipnya yakni membandingkan selisih masing-masing rata-rata dengan sebuah nilai kritis. Jika harga mutlak selisih rata-rata yang dibandingkan lebih dari atau sama dengan nilai kritisnya, maka dapat dikatakan bahwa kedua rata-rata tersebut nyata (signifikan). Akan tetapi bisa dilihat juga berdasarkan nilai α , bila nilai $HSD_{\alpha_{0,05}}$ maka hasil uji tersebut signifikan (Abdi, 2010).

Pengolahan hasil uji dianalisa menggunakan SPSS 20 dengan metode ANOVA one-way lalu dilanjutkan dengan analisis post hoc dengan metode Tukey HSD pada masing-masing formula dimana sebelum dilakukan uji tersebut data harus memenuhi tiga kriteria yaitu data terdiri dari dua rerata atau lebih, distribusi data normal yang dapat dilihat dari nilai test of normality dan data harus homogen yang dapat dilihat dari nilai tes of Homogeneity $p > 0.05$. Nilai metode ANOVA dikatakan terdapat perbedaan signifikan jika nilai $p < 0.05$. Pada hasil penelitian ini setelah dilakukan uji normalitas ternyata ada beberapa data

yang tidak normal. Untuk solusinya dilakukan uji normalitas kemudian dilakukan uji signifikansi dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis untuk data yang tidak terdistribusi normal dan uji oneway ANOVA untuk data yang terdistribusi normal. Setelah itu dilakukan uji Mann-Whitney untuk melihat signifikansi antar formula untuk data yang tidak terdistribusi normal dan uji Tukey untuk data yang terdistribusi normal (Dahlan,2009).

