

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Riset Kimia Material dan Hayati Program Studi Kimia, FPMIPA UPI. Karakterisasi menggunakan instrumen FTIR dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen FPMIPA UPI, sedangkan karakterisasi menggunakan instrumen PSA, SEM, dan TEM dilakukan di Pusat Penelitian Nanosains dan Nanoteknologi ITB. Proses pengeringan menggunakan *spray dryer* dilakukan di Universitas Gadjah Mada. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Maret 2023 hingga Juli 2023.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

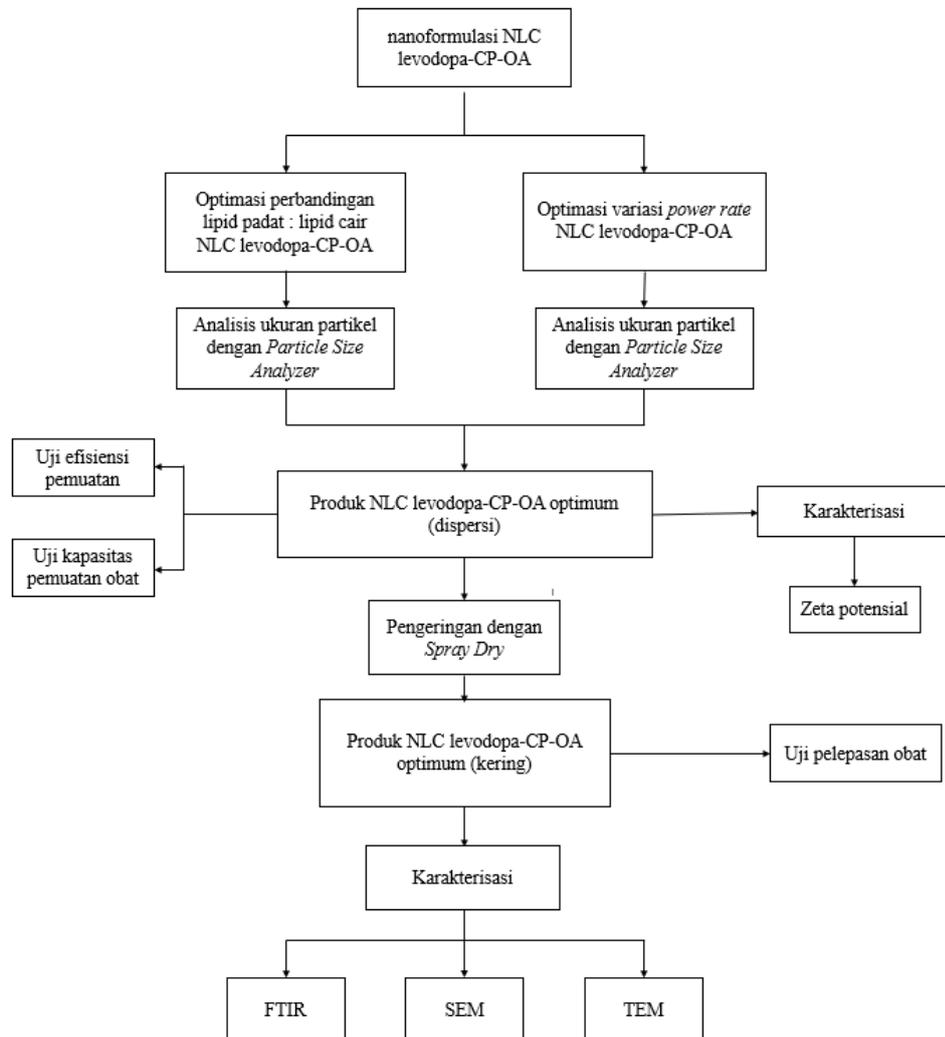
Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu neraca analitik, *magnetic stirrer*, *hot plate*, sonikator, dan perlengkapan gelas lainnya. Alat instrumen yang digunakan untuk karakterisasi diantaranya adalah instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA), *Fourier Transform Infra-Red*, spektrofotometer UV-Vis, *Scanning Electron Microscope* (SEM), *Transmission Electron Microscope* (TEM), dan *spray dryer*.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu levodopa murni, akuades, akua demineralisasi, asam oleat, setil palmitat, dan Tween 80 untuk membuat formulasi. Pada proses *spray drying* digunakan NaCl sebagai eksipien. Kemudian digunakan KH_2PO_4 dan aquades untuk membuat larutan buffer fosfat pH 7,4, dan digunakan NaCl, aquades, HCl, untuk membuat larutan pH 1,2. Digunakan etanol sebagai pendispersi untuk proses analisis TEM.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan ditunjukkan pada Gambar 3.1.



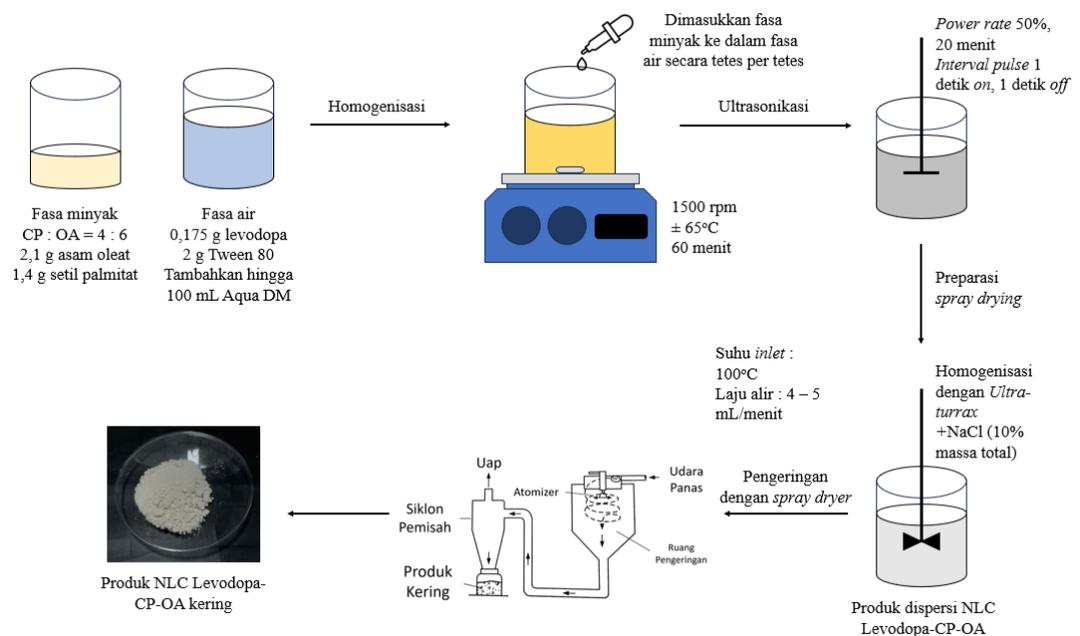
Gambar 3.1 Diagram alir tahapan penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.3.1 Preparasi NLC

NLC dipreparasi dengan menggunakan metode *hot homogenization-sonication*. Campuran lipid dipreparasi dengan mencampurkan setil palmitat dan asam oleat sesuai dengan perbandingannya, kemudian diaduk dan dipanaskan pada suhu 60°C (di atas titik leleh dari setil palmitat: 53°C). Kemudian disiapkan suspensi Tween 80 dengan cara didispersikan dalam air demineralisasi, dan dipanaskan pada 60°C. Kemudian ditambahkan Levodopa sebanyak 0,175 g (5% dari total massa lipid), dan dimasukkan ke dalam larutan. Suspensi yang telah

dibuat kemudian ditambahkan per tetes ke lipid yang sudah mencair sambil diaduk selama 1 jam dengan kecepatan stirrer 1500 rpm. Kemudian didapat emulsi kasar dan disonikasi selama 20 menit menggunakan sonikator (Izza et al., 2021). Kemudian sampel dikeringkan dengan menggunakan *spray dryer* dengan menggunakan NaCl sebagai eksipien. Produk dispersi NLC dan NaCl sebanyak 10% dari total massa produk dispersi dihomogenkan dengan *ultra-turrax*, kemudian dilakukan proses *spray drying* dengan suhu *inlet* yang dipertahankan pada 100°C dengan laju 4 hingga 5 mL/menit. Skema pembuatan nanoformulasi dapat dilihat pada gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema pembuatan nanoformulasi NLC levodopa-CP-OA

3.3.2 Karakterisasi Hasil NLC Levodopa-CP-OA

Karakterisasi hasil NLC Levodopa-CP-OA dilakukan menggunakan FTIR pada panjang gelombang 4000 cm^{-1} – 400 cm^{-1} . Karakterisasi ini dilakukan untuk memastikan gugus fungsi dari hasil nanoformulasi. Tahapan karakterisasi ini dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia FPMIPA UPI.

Kemudian nanoenkapsulan yang telah dibuat akan dikarakterisasi menggunakan instrumen PSA, SEM, dan TEM. Analisis PSA menunjukkan

distribusi ukuran partikel dari dispersi produk, SEM menunjukkan morfologi permukaan, bentuk, dan ukuran partikel, dan analisis TEM menunjukkan struktur partikel di dalam atom, diameter partikel, dan struktur matriks. Analisis SEM akan dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, dan analisis TEM akan dilakukan di Institut Teknologi Bandung.

3.3.3 Pemuatan obat dan Efisiensi Pemuatan

Uji pemuatan obat dan efisiensi pemuatan yang digunakan diadaptasi dari penelitian yang dilakukan oleh Rabima & Sari, 2019. Efisiensi pemuatan levodopa ditentukan dengan produk dispersi NLC yang disentrifugasi pada 100.000 rpm selama 60 menit. Bagian supernatan didekantasi, dan kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 220-230 nm, kemudian dibandingkan dengan serapan pada produk yang tidak disentrifugasi. Sedangkan untuk pemuatan obatnya, isi levodopa dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 220-230 nm, dan menggunakan HPLC, yang kemudian dikalkulasi dengan persamaan sebagai berikut,

$$\text{Efisiensi Pemuatan} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

$$\text{Pemuatan Obat} = \frac{C - D}{E} \times 100\%$$

dimana A adalah konsentrasi levodopa awal, B adalah konsentrasi levodopa pada supernatan, C adalah massa awal levodopa, D adalah massa akhir levodopa, dan E adalah massa total lipid.

3.3.4 Pelepasan Obat

Uji pelepasan obat yang digunakan diadaptasi dari penelitian yang dilakukan oleh Aisiyah et al. (2019). Uji pelepasan obat levodopa dilakukan dengan menggunakan metode *dialysis bag* pada media pH 1,2 dan pH 7,4. Dipersiapkan terlebih dahulu buffer fosfat pH 7,4 dengan melarutkan 6,8 gram KH_2PO_4 ke dalam 650 mL aquades, dan kemudian ditambahkan 0,2 M NaOH, lalu ditandabatkan pada labu ukur 1 L. Disiapkan juga larutan pH 1,2 dengan melarutkan sebanyak 2 gram NaOH pada 1 L aquades, kemudian ditambahkan HCl 12 M hingga didapat pH 1,2. Lalu disiapkan deret standar untuk kedua kondisi pH pada konsentrasi 5

ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 229 nm untuk larutan pH 1,2, dan pada panjang gelombang 226 nm untuk larutan buffer fosfat pH 7,4. Hasil absorbansi dari semua konsentrasi kemudian diplot kedalam grafik, dan dibuat persamaan regresi.

Kemudian penentuan nilai pelepasan obat NLC levodopa-CP-OA dilakukan dengan mengambil sebanyak 2 mg produk NLC kering, kemudian dimasukkan ke dalam *dialysis bag* dan kedua ujung kantung diikat. Kantung dimasukkan ke dalam *beaker glass* kemudian diisi masing-masing dengan buffer fosfat 30 mL pH 7,4 dan larutan pH 1,2. Suhu pada media dipertahankan pada 37° C, kemudian disampling pada interval waktu 60, 120, 180, 240, 300, 360, dan 420 menit. Setiap sampling dibaca sebanyak 3 kali. Kemudian hasilnya dapat dikalkulasi dengan persamaan berikut,

$$D (\%) = \frac{C_n}{C_{levodopa}} \times 100\%$$

dimana D adalah jumlah levodopa, C_n adalah konsentrasi release (ppm), dan $C_{levodopa}$ adalah konsentrasi levodopa awal (ppm).