

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Riset Kimia Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FPMIPA) Universitas Pendidikan Indonesia. Waktu penelitian dapat dilihat dari jadwal kegiatan penelitian pada tabel 3.1, dimulai pada bulan maret 2024 sampai bulan juli 2024

Tabel 3.1 Jadwal Kegiatan Penelitian

No	Kegiatan	Bulan Pelaksanaan			
		Mar	Apr	Mei	Jun
1.	Persiapan Alat Bahan				
2.	Preparasi NLC				
3.	Penentuan Kondisi Optimum				
4.	Uji pemuatan obat, pelepasan obat dan karakterisasi NLC				
5.	Analisis Hasil Karakterisasi				
5.	Pengolahan Data				

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

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

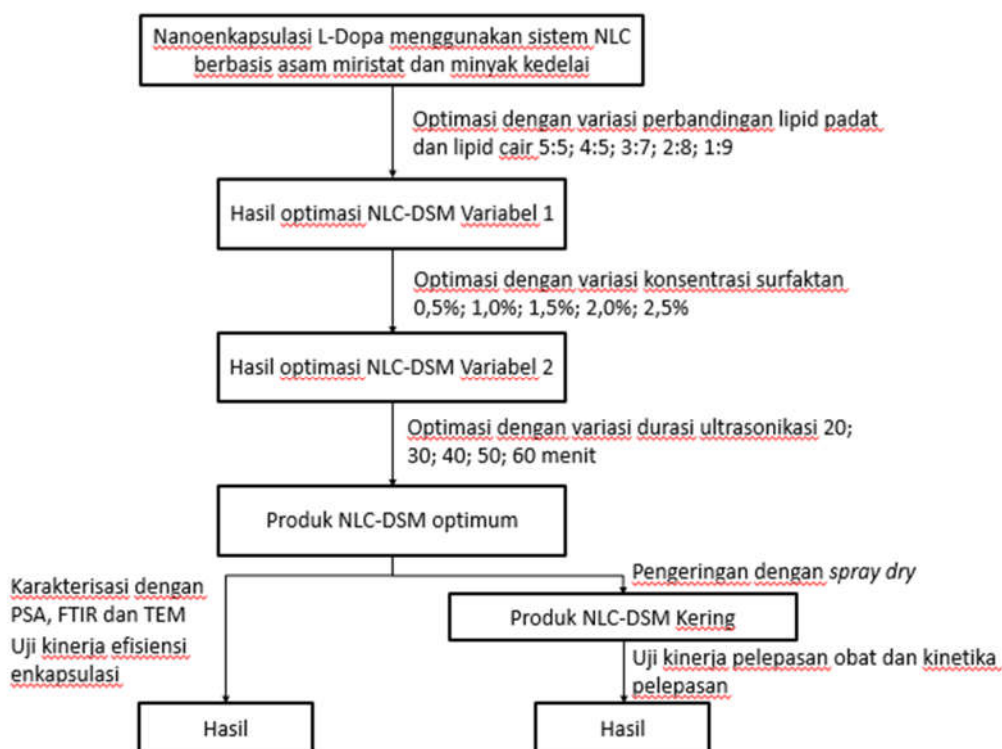
3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu L-dopa, akuades, air demineralisasi, asam miristat, minyak kedelai, dan Tween 80 untuk membuat

formulasi. Pada proses *spray drying* digunakan NaCl sebagai eksipien. Kemudian digunakan KH_2PO_4 dan akuades untuk membuat larutan buffer fosfat pH 7,4, dan digunakan NaCl, akuades, 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



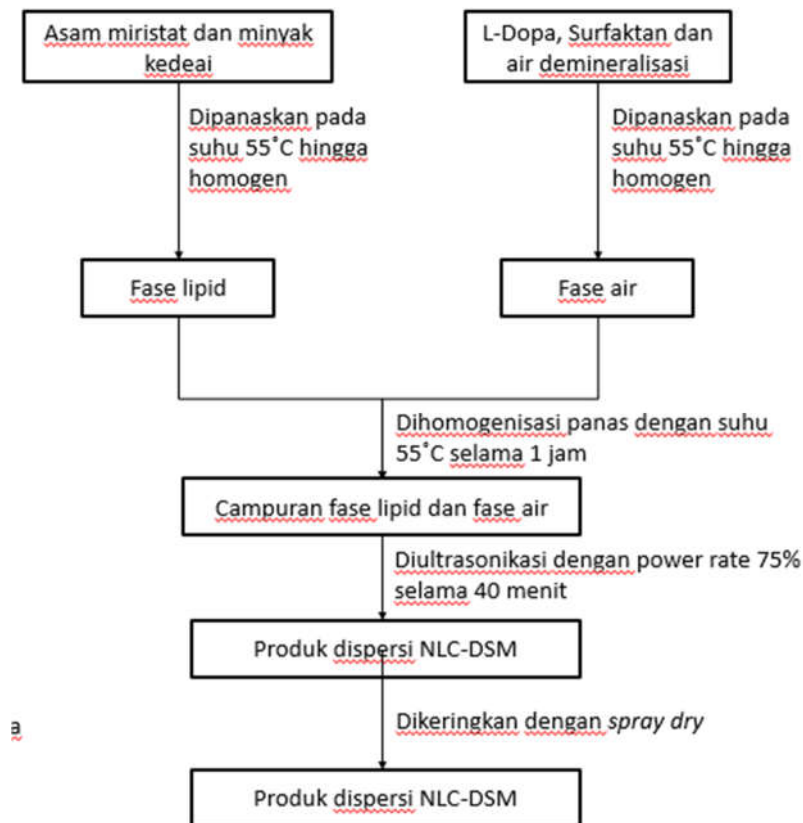
Gambar 3.1 Diagram alir tahapan penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi dan Optimasi NLC

NLC dipreparasi dengan menggunakan metode Homogenisasi panas dan Ultrasonikasi. Campuran lipid dipreparasi dengan mencampurkan asam miristat dan minyak kedelai sesuai dengan perbandingannya, kemudian diaduk dan dipanaskan pada suhu 55°C (di atas titik leleh dari asam miristat: 53°C). kemudian disiapkan suspensi Tween 80 dengan cara didispersikan dalam air

demineralisasi, dan dipanaskan pada 55°C. kemudian ditambahkan L-dopa sebanyak 0,0875 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 40 menit menggunakan sonikator (Izza, 2022).



Gambar 3.2 Proses Homogenisasi Panas dan Ultrasonikasi

Optimasi dilakukan dengan tiga variabel bebas, yakni perbandingan lipid padat terhadap lipid cair, konsentrasi surfaktan dan durasi ultrasonikasi. Berikut merupakan variasi perbandingan asam miristat terhadap minyak kedelai yang ditunjukkan pada **tabel 3.2**

Tabel 3.2 Variasi perbandingan lipid padat terhadap lipid cair

Formulasi	Perbandingan M:S	Massa M (gram)	Massa S (gram)	Massa L-Dopa	Konsentrasi Tween 80 (%)
1.1	5:5	0,875	0,875	0,0875	2

Andre Safrie Maulana, 2024

OPTIMASI DAN KARAKTERISASI NANOSTRUCTURED LIPID CARRIER DARI L-DOPA-ASAM MIRISTAT-MINYAK KEDELAI (NLC-DSM) SEBAGAI KANDIDAT OBAT PARKINSON

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

1.2	6:4	0,700	1,050	0,0875	2
1.3	7:3	0,525	1,225	0,0875	2
1.4	8:2	0,350	1,400	0,0875	2
1.5	9:1	0,175	1,575	0,0875	2
1.6	9,5:0,5	0,0875	1,6625	0,0875	2

M = Asam Miristat

S = Minyak Kedelai

Setelah diperoleh titik optimum pada formula perbandingan lipid padat terhadap lipid cair yang dianalisis dengan parameter ukuran partikel menggunakan PSA. Tahapan optimasi dilanjutkan dengan variasi konsentrasi surfaktan seperti yang ditunjukkan pada **tabel 3.3**

Tabel 3.3 Variasi konsentrasi surfaktan

Formulasi	Perbandingan M:S	Massa L-Dopa (gram)	Konsentrasi Tween 80 (%)	Amplitudo (%)	Waktu Sonikasi (menit)
2.1	9:1	0,0875	0,5	75%	40
2.2	9:1	0,0875	1	75%	40
2.3	9:1	0,0875	1,5	75%	40
2.4	9:1	0,0875	2	75%	40
2.5	9:1	0,0875	2,5	75%	40

M = Asam Miristat

S = Minyak Kedelai

Setelah diperoleh titik optimum pada formula konsentrasi surfaktan, tahapan optimasi dilanjutkan dengan variasi durasi ultrasonikasi seperti yang ditunjukkan pada **tabel 3.4**

Tabel 3.4 Variasi durasi ultrasonikasi

Formulasi	Perbandingan M:S	Massa L-Dopa (gram)	Konsentrasi Surfaktan (%)	Amplitudo ultrasonikasi (%)	Waktu sonikasi (menit)
3.1	9:1	0,175	2,5	75%	20
3.2	9:1	0,175	2,5	75%	30
3.3	9:1	0,175	2,5	75%	40
3.4	9:1	0,175	2,5	75%	50
3.5	9:1	0,175	2,5	75%	60

M = Asam Miristat

S = Minyak Kedelai

Setelah diperoleh titik optimum dari ketiga variabel bebas, produk NLC-DSM kemudian dikeringkan dengan metode *spray dry*, proses tersebut dimulai dengan menambahkan NaCl sebagai eksipien. Sampel dihomogenkan dengan ultra turrax 12.000 rpm selama 10 menit. Proses pengeringan diatur menggunakan suhu inlet diatur pada 100°C dengan laju 5 mL/menit. Serbuk NLC-DSM yang diperoleh dilakukan karakterisasi lebih lanjut.

3.4.2 Karakterisasi Hasil NLC

Karakterisasi hasil NLC dilakukan menggunakan FTIR pada panjang gelombang 4000 cm⁻¹ – 400 cm⁻¹. Karakterisasi ini dilakukan untuk memastikan gugus fungsi dari produk NLC-DSM. Tahapan karakterisasi ini dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen FPMIPA UPI

Kemudian produk NLC-DSM yang telah dibuat akan dikarakterisasi menggunakan instrumen PSA dan TEM. Analisis PSA menunjukkan distribusi ukuran partikel dari dispersi produk dan analisis TEM menunjukkan morfologi partikel, diameter partikel, dan struktur matriks. Analisis PSA dan TEM akan dilakukan di Laboratorium PPNN ITB

3.4.3 Efisiensi enkapsulasi

Cara pengujian efisiensi enkapsulasi obat ditentukan dengan produk dispersi NLC yang disentrifugasi pada 30.000 rpm selama 60 menit. Bagian supernatan didekantasi, dan kemudian di ukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 220-280 nm, kemudian dibandingkan dengan serapan pada produk yang tidak disentrifugasi. sedangkan untuk pemuatan obatnya, isi l-dopa dianalisis dengan spktrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 220-280 nm, yang kemudian dikalkulasi dengan persamaan sebagai berikut:

$$Efisiensi\ Enkapsulasi = \frac{(C_o - C_t)}{C_o} \times 100\%$$

Dimana C_o adalah konsentrasi l-dopa awal, C_t adalah konsentrasi l-dopa pada supernatan.

3.4.4 Pelepasan Obat

Uji pelepasan obat yang digunakan diadaptasi dari penelitian yang dilakukan oleh Aisiyah et al., (2019). Uji pelepasan obat l-dopa 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, 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 ke dalam grafik, dan dibuat persamaan regresi.

Kemudian penentuan nilai pelepasan obat NLC l-dopa 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, 420, hingga 1440 menit (dengan pengambilan per 3 jam). Setiap sampling dibaca sebanyak 3 kali. Kemudian hasilnya dapat dikalkulasi dengan persamaan berikut;

$$\text{Pelepasan obat (\%)} = \frac{C_n}{C_{L-dopa}} \times 100\%$$

Dimana D adalah jumlah L-dopa, C_n adalah konsentrasi *release* (ppm), dan C_{L-dopa} adalah konsentrasi L-dopa awal (ppm).

Kinetika pelepasan zat aktif dari suatu sediaan yang pelepasannya dimodifikasi dapat diperoleh dengan menggunakan orde nol, orde satu, persamaan Higuchi dan persamaan Korsmeyer-peppas. Berikut merupakan rumus keempat model matematika ditunjukkan pada tabel

Tabel 3.5 Rumus perhitungan kinetika obat (Haqie, 2010)

Persamaan	$y = a + bx$
Orde nol	$M_t/M_o = K_o.t$
Orde satu	$\ln M_t/M_o = K_1.t$
Higuchi	$M_t/M_o = K_H.t^{1/2}$
Korsmeyer-peppas	$\log M_t/M_o = \log K + n.\log t$