

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan dari bulan Maret hingga bulan Agustus 2022. Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Riset Kimia Material Departemen Kimia, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

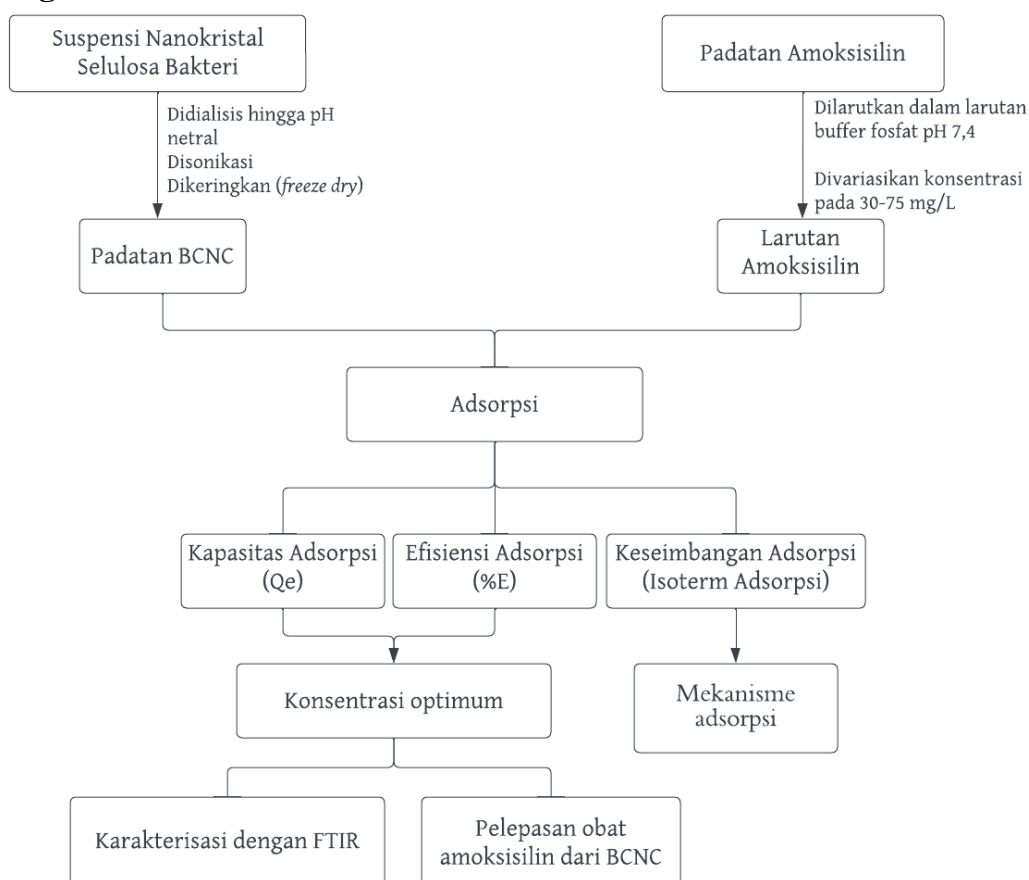
3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini bermacam-macam tergantung pada jenis pekerjaan yang dilakukan. Pada adsorpsi amoksisilin oleh BCNC menggunakan peralatan seperti kaca arloji, spatula, neraca analitik, gelas ukur 100 mL, labu ukur 25 mL, *falcon tube* 50 mL, *centrifuge* (Corona GL-08), *waterbath shaker*, Spektrofotometer UV-Vis. Pada uji pelepasan obat menggunakan peralatan seperti gelas kimia 50 mL, gelas kimia 400 mL, gelas kimia 1 L, labu ukur 1 L, membran selulosa, *magnetic stirrer*, pH meter, dan Spektrofotometer UV-Vis.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini bermacam-macam tergantung pada jenis pekerjaan yang dilakukan. Pada adsorpsi amoksisilin menggunakan bakterial nanokristal selulosa, padatan KH_2PO_4 , padatan NaOH, amoksisilin, dan akuades. Pada uji pelepasan obat menggunakan padatan KH_2PO_4 , padatan NaOH, larutan HCl, dan akuades.

3.3 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3. 1 Bagan Alir Penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi Amoksisilin

Pembuatan larutan buffer fosfat pH 7,4

Mengacu pada penelitian sebelumnya, sebanyak 6,8 gram padatan KH_2PO_4 dilarutkan dalam 650 mL akuades, dan ditambahkan NaOH 2 M untuk mengatur pH larutan hingga mencapai pH 7,4.

Pembuatan larutan induk baku

Mengacu pada penelitian sebelumnya, proses preparasi amoksisilin menggunakan buffer fosfat pH 7,4 untuk mendapatkan konsentrasi obat 500 ppm (Aslani & Sharifian, 2014). Pada preparasi tersebut, amoksisilin ditimbang sebanyak 50 mg dan dimasukkan ke labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan larutan buffer fosfat hingga tanda batas, dikocok hingga homogen.

Pembuatan kurva serapan larutan amoksisilin dalam buffer fosfat pH 7,4

Dipipet sebanyak 1,9 mL larutan induk baku, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Ditambahkan larutan buffer fosfat hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm.

Pembuatan kurva kalibrasi larutan amoksisilin dalam buffer fosfat pH 7,4

Larutan induk baku dibuat dalam berbagai konsentrasi, yaitu 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, dan 45 ppm dalam labu ukur 25 mL dan absorbansinya ditentukan dengan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang maksimum 228,5 nm. Percobaan ini diulang sebanyak 3 kali.

3.4.2 Uji Kinerja BCNC sebagai sistem penghantar obat

Adsorpsi amoksisilin dengan BCNC

Adsorpsi amoksisilin pada BCNC dilakukan dengan menambahkan 90 mg BCNC pada serangkaian botol sampel yang berisi 20 mL larutan amoksisilin pada rentang konsentrasi 30 hingga 75 mg/L. Semua botol ditempatkan dalam thermostatic water bath shaker selama 45 menit, kemudian fase padat/cair dipisahkan dengan sentrifugasi pada 4000 rpm selama 5 menit.

Konsentrasi awal (C_0) dan kesetimbangan (C_e) amoksisilin dalam larutan diukur menggunakan Spektrofotometer Shimadzu UV/VIS-1700 pada panjang gelombang maksimum (228,5 nm). Besarnya kapasitas amoksisilin yang teradsorpsi oleh CNC (q_e) diperoleh melalui persamaan sebagai berikut:

$$q_e = \frac{C_0 - C_e}{m} V$$

Dimana m dan V adalah massa CNC dan volume larutan. Studi adsorpsi dilakukan dalam tiga kali pengulangan. Diukur konsentrasinya untuk uji pelepasan obat.

3.4.3 Pelepasan obat *in vitro*

Uji pelepasan amoksisilin dilakukan dalam dua media yang berbeda: simulasi cairan/asam lambung, pada pH 1,2 dan cairan usus halus disimulasikan pada pH 7,4 (Morales et al., 2021)

Preparasi larutan buffer pH 1,2**Pembuatan larutan buffer pH 1,2**

Larutan buffer pH 1,2 dibuat dengan mencampurkan 2 gram natrium hidroksida yang dilarutkan dalam 1 liter air suling dan 15 mL asam klorida 37%.

Pembuatan larutan induk

Sebanyak 5 mg amoksisilin ditimbang dan dimasukkan ke labu ukur 50 mL, kemudian ditambahkan larutan buffer hingga tanda batas, dikocok hingga homogen.

Pembuatan kurva kalibrasi larutan amoksisilin dalam buffer pH 1,2

Larutan induk baku dibuat dalam berbagai konsentrasi, yaitu 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, dan 36 ppm dalam labu ukur 10 mL. Ditentukan absorbansinya dengan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang maksimum 228,5 nm. Percobaan ini diulang sebanyak 3 kali.

Preparasi larutan buffer pH 7,4**Pembuatan larutan buffer pH 7,4**

Larutan buffer pH 6,4 dibuat dengan mencampurkan 6,8 gram kalium dihidrogen fosfat yang dilarutkan dalam 650 mL air suling dengan 190 mL larutan natrium hidroksida 0,2 M dan disesuaikan hingga mencapai pH 7,4 dengan penambahan larutan natrium hidroksida 0,2 M. Volume larutan disesuaikan hingga 1L dengan penambahan air suling

Pembuatan larutan induk

Sebanyak 5 mg amoksisilin ditimbang dan dimasukkan ke labu ukur 50 mL, kemudian ditambahkan larutan buffer hingga tanda batas, dikocok hingga homogen.

Pembuatan kurva kalibrasi larutan amoksisilin dalam buffer pH 7,4

Larutan induk baku dibuat dalam berbagai konsentrasi, yaitu 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, dan 36 ppm dalam labu ukur 10 mL. Ditentukan absorbansinya dengan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang maksimum 228,5 nm. Percobaan ini diulang sebanyak 3 kali.

3.4.4 Uji pelepasan obat amoksisilin

Studi pelepasan obat secara in vitro menggunakan teknik kantong dialisis. 5 mg padatan kering amoksisilin-BCNC hasil adsorpsi dimasukkan ke dalam kantong dialisis, ditambahkan larutan buffer perbandingan 1:3 dengan larutan suspensi dan ditutup rapat. Kantong yang disegel disuspensikan dalam larutan buffer dan diaduk dengan bantuan pengaduk magnet. Kondisi larutan tersuspensi adalah pH 1,2 dan pH 6,4 pada suhu $37^{\circ}\text{C} + 0,5^{\circ}\text{C}$. Selama 5 jam, Aliquot ditarik pada periode waktu yang berbeda (30, 60, 90, 120 menit, dan 3, 4, 5 jam), jumlah obat yang dilepaskan dianalisis dengan menggunakan spektrofotometri UV/VIS pada panjang gelombang 228,5 nm.