

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1. Bahan

Pada penelitian ini digunakan bahan diantaranya *ascorbyl palmitate*, PLGA p.a (*Poly Lactic-co-Glycolic Acid*) (Aldrich), PVA (*Polyninyl Alcohol*) (Aldrich), kitosan p.a (Aldrich), etil asetat p.a (Merck), asam asetat glasial p.a (Merck), aqua pro injeksi (Ikapharmindo), mikrofilter 0,4 μm .

3.1.2. Alat

Pada penelitian ini digunakan alat-alat diantaranya, mikropipet (*Thermoscientific Finnpiette*), timbangan analitik (*Ohaus*), *transmission electron microscopy* (JEOL JEM-1010) *ultrasonic homogenizer* (Biologic, Inc.), sentrifugator (Nuve NF-400), *particle size analyzer* (Horiba SZ-100), *magnetic stirrer* (Ika werke), mikrokuvet, spuit, dan seperangkat alat gelas (Pyrex).

3.2 Cara Penelitian

3.2.1. Sistematika kerja penelitian

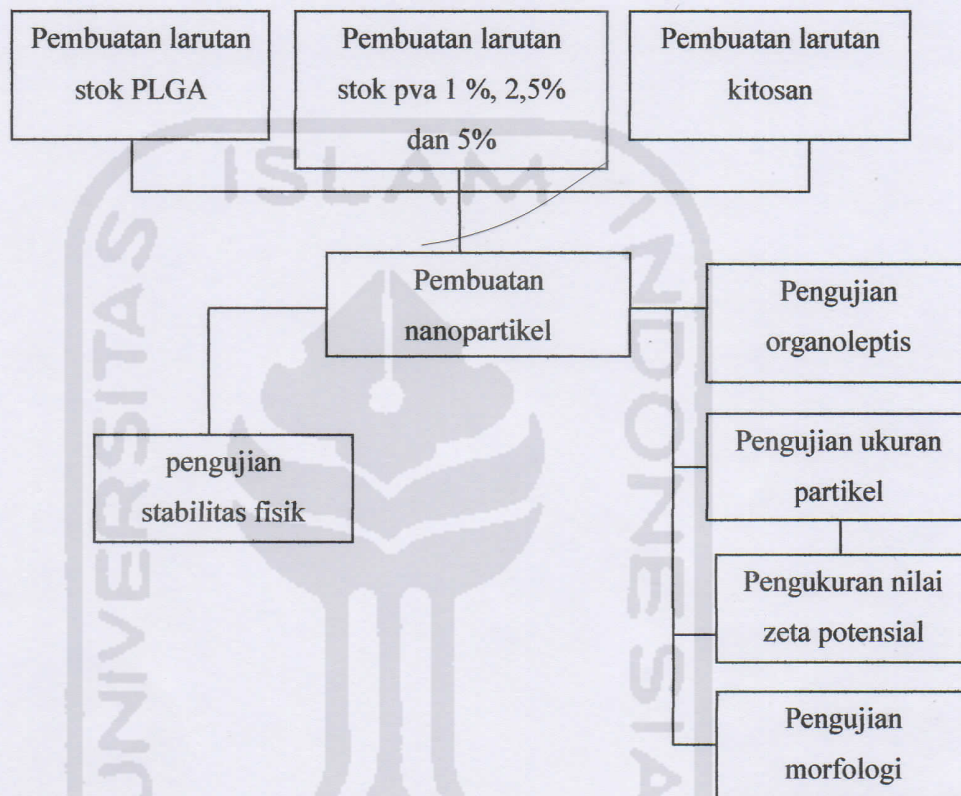
Sistematika kerja pada penelitian ini berisi urutan proses mulai dari pembuatan larutan stok PVA, pembuatan larutan stok PLGA, Pembuatan larutan kitosan, pembuatan nanopartikel, pengujian organoleptis, penentuan ukuran partikel, penentuan zeta potensial, pengujian morfologi nanopartikel, dan uji stabilitas. Untuk proses yang lebih rinci dapat dilihat pada gambar 2.6.

3.2.2. Pembuatan Larutan Stok PLGA

Diambil 0,25 ml PLGA, 10 mg AP dan dilarutkan dalam 2,25 mL etil asetat. Kemudian campuran tersebut dihomogenkan dengan cara di *stirrer* dengan kecepatan 175 rpm selama 10 menit.

3.2.3. Pembuatan Larutan Stok PVA 1 %, 2,5 %, dan 5%

Ditimbang 1 gram, 2,5 gram, dan 5 gram PVA kemudian dilarutkan masing-masing dalam 100 mL aqua pro injeksi. Campuran tersebut dihomogenkan dengan cara di *stirrer* dengan kecepatan 175 rpm selama 24 jam. Kemudian larutan disaring menggunakan mikrofilter 0,45 μ m.



Gambar 3.1. Skema kerja penelitian

3.2.4. Pembuatan larutan Kitosan

Asam asetat glasial sebanyak 1 mL dilarutkan dalam 100 mL aqua pro injeksi. Sebanyak 0,9 ml larutan asam asetat digunakan untuk melarutkan kitosan sebanyak 2 mg, campuran dihomogenkan dengan cara digojok.

3.2.5. Pembuatan Nanopartikel

Nanopartikel dibuat dengan menggunakan metode penguapan pelarut. Disiapkan masing-masing campuran larutan PLGA sebanyak 2,5 mL yang terdiri atas 0,25mg larutan stok PLGA dan 2,25 ml etil asetat yang telah ditambahkan AP 10 mg diteteskan ke dalam larutan yang berisi 1,6 ml larutan PVA (1%, 2,5%, dan 5%), dan 2 mg kitosan yang telah dilarutkan dalam 0,9 ml asam asetat. Diteteskan secara perlahan (satu tetes tiap 20 detik) hingga terbentuk dua fase. Dua fase ini disatukan dengan menggunakan *stirrer* dengan kecepatan 175 rpm selama 5 menit. Setelah itu campuran dihomogenkan dengan *ultrasonic homogenizer* kekuatan 40 watt selama 1 menit dengan *pulser* 20 detik. Campuran yang terbentuk diencerkan dengan 50 mL aqua pro injeksi. Pelarut etil asetat diuapkan selama 24 jam dengan menggunakan *stirrer*⁽²⁹⁾.

3.2.6. Pengujian Organoleptis

Uji organoleptis adalah pengujian yang meliputi pengamatan terhadap bentuk, bau, dan warna terhadap nanopartikel yang dihasilkan. Dilakukan dengan cara mengamati sampel yang berada didalam vial.

3.2.7. Penentuan Ukuran Partikel

Penentuan ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan alat *particle size analyzer*. Ditimbang 0,25 gram sampel kemudian ditambahkan aqua pro injeksi hingga 2,5 gram dimasukkan kedalam kuvet. Larutan sampel diletakkan dan dibaca oleh alat *particle size analyzer*.

3.2.8. Penentuan nilai Zeta Potensial

Penentuan zeta potensial dilakukan dengan menggunakan alat *particle size analyzer*. Sampel dimasukkan kedalam kuvet khusus zeta menggunakan spuit. Larutan sampel diletakkan dan dibaca oleh alat *particle size analyzer*.

Tabel 3.1 pembuatan nanopartikel

Nama bahan	F I	F II	F III
<i>Ascorbyl palmitate</i> (AP)	10 mg	10mg	10mg
Etil asetat	2,25 ml	2,25ml	2,25 ml
<i>Poly Lactic-co-Glycolic Acid</i> (PLGA)	250 μ l	250 μ l	250 μ l
<i>Polyvinyl Alcohol</i> (PVA 1 %)	1,6 ml	-	-
<i>Polyvinyl Alcohol</i> (PVA) 2,5 %	-	1,6 ml	-
<i>Polyvinyl Alcohol</i> (PVA 5) %	-	-	1,6 ml
Kitosan	0,9 ml	0,9 ml	0,9 ml
Aqua pro injeksi	50ml	50 ml	50 ml

Keterangan :

FI : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 1 g

FII : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 2,5 g

FIII : Formula nanopartikel dengan jumlah PVA 5 g

3.2.9. Pengujian Morfologi Nanopartikel

Morfologi yang terbentuk dari nanopartikel dibaca dengan menggunakan alat *transmission electron microscopy* (TEM). Sampel ditetaskan sebanyak 10 μ l kedalam grid, kemudian didiamkan selama 1 menit. Volume residu pada *grid* diserap menggunakan kertas saring. *Phosphotungstic acid* sebanyak 10 μ l ditetaskan kedalam grid. Volume residu pada grid diserap kembali menggunakan kertas saring. *Grid* dikeringkan selama 30 menit dan selanjutnya diobservasi menggunakan *transmission electron microscopy* (TEM).