

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Alat dan Bahan**

##### **3.1.1. Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu ekstrak *Pueraria mirifica* propilenglikol (St. herb), aquabides, kalsium klorida (Merck, Jerman) dan natrium alginat (Sigma-Aldrich).

##### **3.1.2. Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *particle size analyzer* (Horiba Scientific, Nano Particle Analyzer SZ-100), *scanning electron microscope* (SEM) (Hitachi su3500), *transmission electron microscope* (TEM) (JEOL 1400), pipet tetes, pipet volume, seperangkat alat gelas (Pyrex), spatula, spuit, *syringe pump*, timbangan analitik (Ohaus Pioneer PA214, China), dan *ultrasonic homogenizer probes* (Model 150VT Biologics, USA).

#### **3.2 Skema Penelitian**

Skema dari penelitian ini meliputi pembuatan larutan natrium alginat 0,1%, kalsium klorida 0,02%, pembuatan nanosuspensi ekstrak *Pueraria mirifica* terjerat kalsium alginat menggunakan teknik ultrasonikasi, karakterisasi nanopartikel dengan uji organoleptis, penentuan ukuran dan distribusi partikel, pengukuran zeta potensial menggunakan PSA, pengamatan morfologi menggunakan SEM dan TEM serta pengujian stabilitas siklus. Untuk proses lebih rinci dapat dilihat pada **gambar 3.1**.

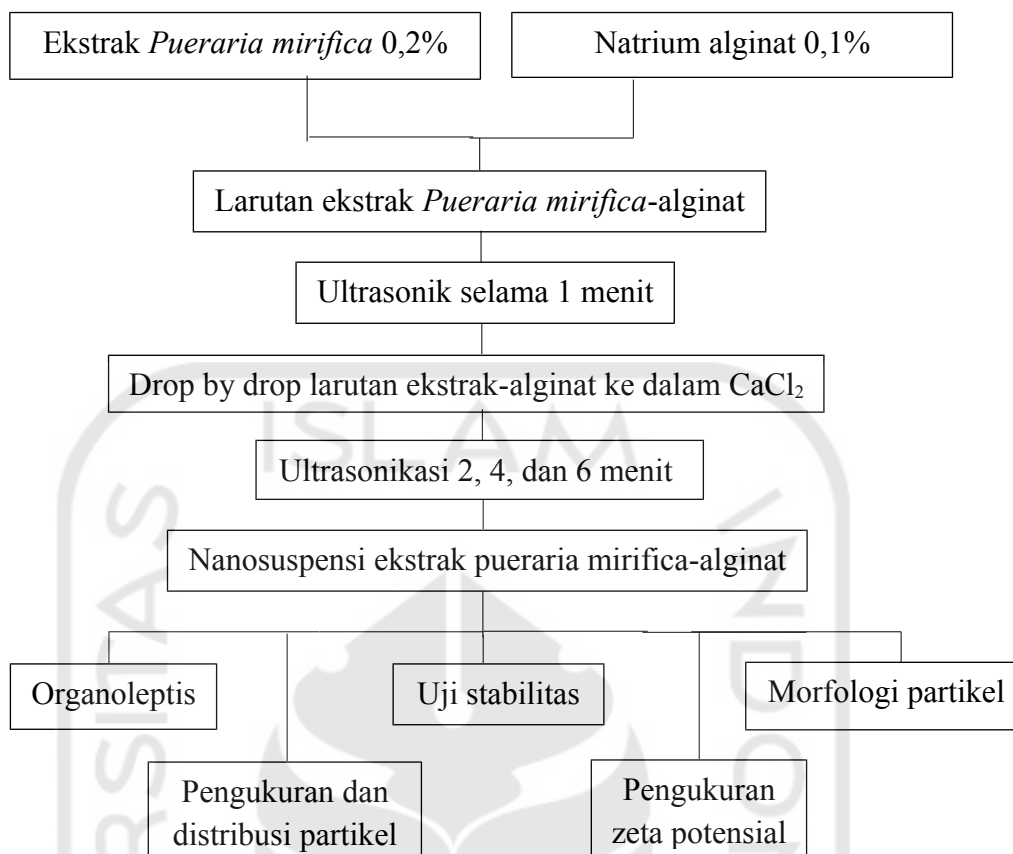
#### **3.3 Cara Kerja**

##### **3.3.1 Pembuatan larutan natrium alginat 0,1% b/v**

Sejumlah 0,1 g natrium alginat ditimbang, dilarutkan menggunakan aquabidest dalam labu ukur 100 ml dan dihomogenkan (Tyagi et al., 2017).

##### **3.3.2 Pembuatan larutan CaCl<sub>2</sub> 0,02% b/v**

Sebanyak 0,02 g CaCl<sub>2</sub> ditimbang, kemudian dilarutkan menggunakan aquabides dalam labu ukur 100 ml (Kaur, 2013).



**Gambar 3.1** Skema kerja penelitian.

### 3.3.3 Pembuatan sediaan ekstrak pueraria mirifica terjerap kalsium alginat

Sebanyak 50 mL ekstrak *Pueraria mirifica* 0,2% dilarutkan ke dalam larutan natrium alginat 0,1%. Diultrasonikasi selama 1 menit. Dimasukkan larutan ekstrak *Pueraria mirifica*-alginat sebanyak 6 ml ke dalam *syringe pump*. Ditambahkan dengan teknik *drop by drop* ke dalam 4 ml larutan  $\text{CaCl}_2$  0,02% sambil dihomogenisasi dengan alat ultrasonikator selama 2, 4 dan 6 menit hingga terbentuk suspensi (Manda, et al., 2010)

**Tabel 3.1** Formula nanosuspensi ekstrak *Pueraria mirifica* terjerap kalsium alginat

Formula	Ekstrak (%)	Natrium alginat	$\text{CaCl}_2$	Waktu (menit)
1	0,2	0,1	0,02	2
2	0,2	0,1	0,02	4
3	0,2	0,1	0,02	6

### **3.3.4 Evaluasi dan Karakterisasi**

#### **3.3.4.1 Organoleptis Nanosuspensi Ekstrak *Pueraria mirifica*-Alginat**

Uji organoleptis dilakukan untuk mengamati bentuk, warna dan bau pada nanopartikel. Dipipet sebanyak 5 ml sediaan nanosuspensi untuk dimasukkan ke dalam botol diamati warna dan bentuk. Pengujian bau dilakukan dengan menghirup udara di atas vial. Pengujian ini dilakukan oleh 20 responden.

#### **3.3.4.2 Penentuan ukuran globul dan distribusi partikel**

Penentuan ukuran globul dan distribusi partikel dapat dilakukan menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA). Sebanyak 3 ml sediaan diambil. Diukur diameter dari partikel yang terdispersi (Bhatia, 2016).

#### **3.3.4.3 Pengukuran zeta potensial**

Diambil 1 ml sediaan nanosuspensi kemudian zeta potensial diukur menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) (Bhatia, 2016).

#### **3.3.4.4 Pengamatan Morfologi Nanopartikel**

Morfologi nanopartikel diamati menggunakan instrumen *Scanning electron microscope* (SEM) dan *Transmission Electron Microscope* (TEM). Ditetaskan sediaan nanosuspensi pada *grid* tembaga, ditunggu hingga meresap dan kering. Kemudian dilapisi dengan karbon. Kemudian dianalisis menggunakan instrumen SEM (Bhatia, 2016).

Ditetaskan sediaan nanosuspensi pada *grid* tembaga, ditunggu hingga meresap. Kemudian ditetaskan dengan uranyl acetate hingga meresap. Dilakukan analisis menggunakan instrumen TEM.

#### **3.3.4.5 Uji Stabilitas Dipercepat**

Dilakukan pengujian stabilitas dipercepat. Sediaan disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam kemudian disimpan pada suhu 40°C selama 24 jam. Setelah berlangsung tiap 6 siklus dilakukan pembacaan ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan nilai zeta potensial. Siklus ini dilakukan hingga mencapai 12 siklus (Restu et al., 2015). Kemudian dari pengujian stabilitas dilakukan uji analisis statistik menggunakan manova.