

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

Pada penelitian ini digunakan bahan diantaranya *ethyl ascorbic acid (Et-VCTM*, PT.LAUTAN LUAS Tbk), PLGA (*poly lactic-co-glycolic acid*) p.a (Aldrich), Etil Asetat (Merck), akuades (Lab Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia), akua pro injeksi (Ikapharmindo), Kitosan (Aldrich) .

3.1.2 Alat

Pada penelitian ini digunakan alat-alat diantaranya alumunium voil, botol vial (5ml, 10ml,50ml), bluetip, gelas beaker (50 ml), gelas ukur (50ml), *magnetic stirrer* (Ika werke), microfilter 0,45 μm , mikropipet, *particle size analyzer* (Horiba SZ-100), *transmission electron microscopy* (JOEL JEM-1010), *ultrasonic homogenizer* (Biolic, Inc), pipet tetes, spatula, timbangan analitik (OHAUS).

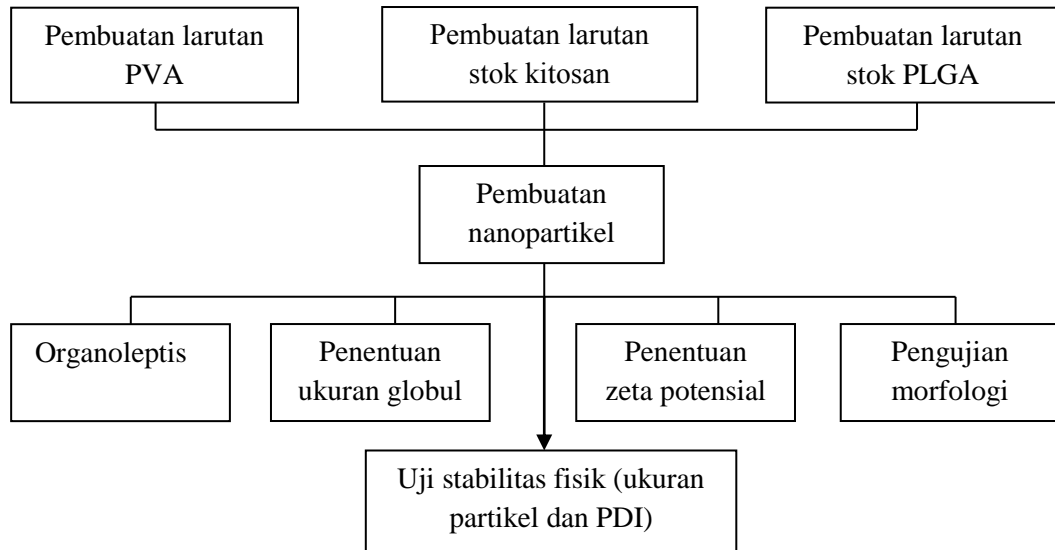
3.2 Cara Penelitian

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, organoleptis, penentuan ukuran globul, pengukuran zeta potensial, pengujian morfologi dan stabilitas fisik. Untuk proses lebih rinci dapat dilihat pada gambar 3.1.

3.2.2 Pembuatan Larutan PVA

Ditimbang masing - masing 1 g, 2,5 g, dan 5 g PVA dalam beker 100 ml, kemudian dilarutkan dengan 100 ml akuades yang dituangkan dari gelas ukur 100 ml. Campuran tersebut dihomogenkan dengan cara diaduk menggunakan stirrer dengan kecepatan 2000 rpm sampai PVA larut sempurna.



Gambar 3.1 Skema Kerja Penelitian.

3.2.3 Pembuatan Larutan Stok PLGA

Ditimbang 1 g PLGA, kemudian dilarutkan dengan 10 ml etil asetat yang dituangkan dari gelas ukur 10 ml. Campuran tersebut dihomogenkan dengan cara diaduk menggunakan stirrer selama 5 menit dengan kecepatan 2000 rpm.

3.2.4 Pembuatan Larutan Kitosan

Ditimbang asam asetat sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Ditambahkan akuades ke dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas. Dipipet sebanyak 900 μ l larutan asam asetat ke dalam gelas beker 50 ml yang berisi kitosan sebanyak 2 mg. Campuran kemudian di gojog perlahan.

3.2.5 Pembuatan nanopartikel

Pada setiap batch, asam etil askorbat sebanyak 10 mg dimasukkan ke dalam campuran kitosan 0,9 ml dan PVA 1,6 ml. Dalam keadaan di stirrer campuran ini diteteskan pada larutan 0,25 ml PLGA yang dilarutkan dalam 2,25 ml etil asetat. Ultrasonik dilakukan selama 5 menit, lalu emulsi yang terbentuk diencerkan sampai 50 ml dengan akuabides. Etil asetat diuapkan 24 jam pada suhu ruangan.

Setelah etil asetat menguap, terjadi suspensi yang mengandung nanopartikel PLGA-AEA⁽⁴⁾.

Tabel II. Formulasi Nanopartikel Polimer PLGA

Bahan	Formula I	Formula II	Formula III
Ethyl Ascorbic Acid	10 mg	10 mg	10 mg
PVA 1%	1,6 ml	-	-
PVA 2,5%	-	1,6 ml	-
PVA 5%	-	-	1,6 ml
PLGA	250 µl	250 µl	250 µl
Kitosan	0,9 ml	0,9 ml	0,9 ml
Etil Asetat	2,25 ml	2,25 ml	2,25 ml
Aqua Pro Injeksi	50 ml	0 ml	50 ml

3.2.6 Organoleptis Nanopartikel Polimer PLGA

Uji organoleptis adalah pengujian yang meliputi pengamatan terhadap bentuk, bau, dan warna. Pengujian bentuk dan warna dilakukan dengan cara dipipet 25 ml kedalam botol vial bening, kemudian diamati dari atas, samping, dan bawah. Pengujian bau dilakukan dengan menghirup udara di atas botol vial.

3.2.2 Karakterisasi Nanopartikel Polimer PLGA

3.2.2.1 Penentuan Ukuran Globul

Penentuan ukuran globul menggunakan PSA. Ditimbang 0,25 g sampel dalam kuvet, kemudian tambahkan akuades sampai 2,5 g. Kuvet dimasukkan ke dalam holder alat PSA.

3.2.2.2 Pengukuran Zeta Potensial

Penentuan zeta potensial dilakukan dengan menggunakan alat PSA. Sampel dimasukkan kedalam *zetacell* menggunakan spuit. Larutan sampel diletakkan dan dibaca oleh alat PSA.

3.2.2.3 Pengujian Morfologi Nanopartikel

Morfologi yang terbentuk dari nanopartikel dibaca dengan menggunakan alat TEM. Sampel ditetaskan sebanyak 10 µl kedalam grid, kemudian didiamkan selama 1 menit. Volume residu pada grid diserap menggunakan kertas saring. Uranyl acetate sebanyak 10 µl ditetaskan kedalam grid. Volume residu pada grid diserap kembali menggunakan kertas saring. Grid dikeringkan selama 30 menit dan selanjutnya diobservasi menggunakan TEM.

3.2.3 Pengujian Stabilitas Ukuran Partikel dan Nilai PI

Stabilitas Ukuran Partikel dibandingkan dengan ukuran partikel pada setiap uji, nano disimpan dalam suhu 25°C diuji menggunakan PSA setiap 2 hari sekali selama 14 hari penyimpanan. Ditimbang 0,25 gram sampel kemudian ditambahkan akuades hingga 2,5 gram dimasukkan kedalam kuvet. Larutan sampel diletakkan dan dibaca oleh alat PSA.

3.3 Analisis Hasil

Analisi hasil dilakukan secara deskriptif. Data yang diperoleh dari hasil penelitian seperti ukuran globul, zeta potensial, morfologi partikel, dan stabilitas fisik (ukuran partikel) selama 14 hari dibandingkan dengan jurnal.