

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Tempat Penelitian

Pembuatan kapsul skala laboratorium dan uji derajat *swelling* dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Karakterisasi dan pengujian sifat kapsul dilaksanakan di University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia. Uji SEM dilaksanakan di Divisi Karakterisasi Material Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya. Uji viskositas dilaksanakan di Laboratorium Kimia Fisik, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Terakhir, uji tarik dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

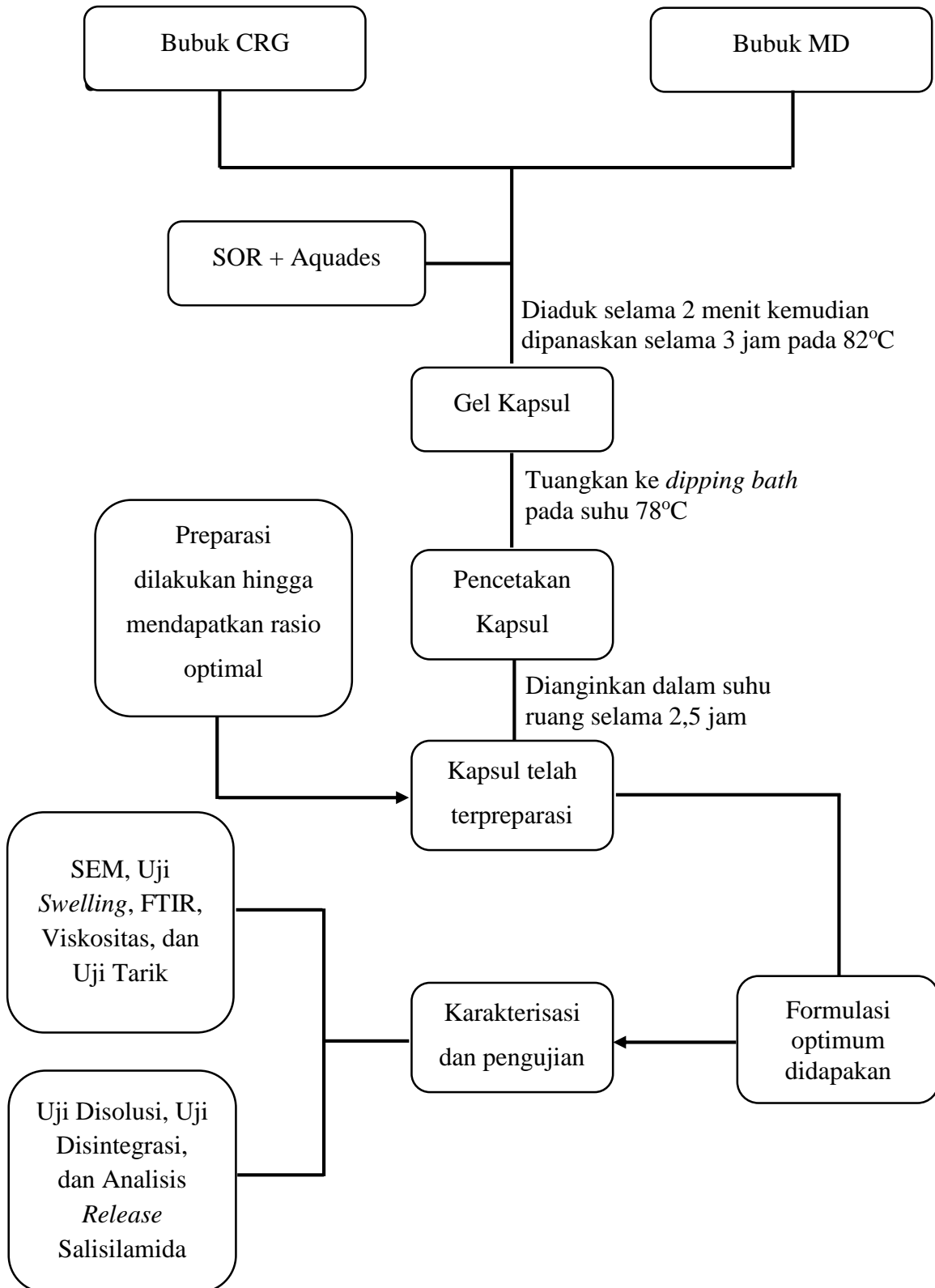
4.2.1 Alat Penelitian

Alat penelitian dalam pembuatan kapsul skala laboratorium menggunakan peralatan laboratorium dasar seperti gelas beker kaca, pengaduk kaca, spatula besi, gelas ukur, timbangan digital analitik, pemanas listrik, statis, klem, termometer laboratorium, dan pipet volume. Untuk mempercepat proses pemanasan, gelas dan penangas air yang digunakan berbahan dasar *stainless steel*. Tambahan alat yang digunakan adalah *dipping pen* untuk mencetak kapsul dan *dipping bath* sebagai wadah untuk perendaman *dipping pen*. Instrumentasi yang digunakan adalah Spektrofotometer FTIR tipe Shimadzu IRTracer – 100, SEM tipe JEOL JSM-8360LA, Spektrofotometer UV-Vis tipe Shimadzu UV – 1601, *Viscotester* tipe *NDJ Series*, *Strograph*, *Disintegration Tester* Model VTD-ATP, dan *Dissolution Tester* Tipe DIS 8000.

4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bubuk CRG *food grade* dari PT. Kappa Carrageenan Nusantara, bubuk MD *food grade* dari Yishul Dadi Corn Developing Co., LTD, SOR *food grade* dari CV. Multi Aroma, lesitin dari Tianjih Hexiyuan Lecithin Technology Co., LTD, Salisilamida dari Sigma-Aldrich, dan Aquades dari CV. Multi Aroma.

4.3 Diagram Alir Penelitian



Gambar 4.1 Diagram Alir Penelitian

4.4 Prosedur Penelitian

4.4.1 Preparasi dan Optimasi Kapsul

Prosedur preparasi kapsul diadopsi dari Ridgway (1987). Bubuk CRG dan MD dicampurkan dalam rasio massa tertentu. Secara terpisah, SOR dalam rasio tertentu dilarutkan ke dalam aquades. Kemudian, campuran bubuk tersebut dituangkan ke dalam larutan secara perlahan dan diaduk dengan pengaduk kaca selama kurang lebih 1 menit hingga membentuk campuran koloidal. Kemudian, campuran tersebut dipanaskan pada suhu 82 – 84 °C di dalam penangas air selama kurang lebih 3 jam untuk membentuk gel tanpa *bubble* yang terperangkap. Pemanasan campuran dilakukan bersamaan dengan *dipping bath* (penampung material untuk pencetakan) agar tidak terjadi perbedaan suhu antara material kapsul dan *dipping bath*.

Percetakan dilakukan dengan merendam *dipping pen* (alat pencetak) yang sudah dilumasi dengan yelkin secara cepat sebanyak dua kali ke dalam *dipping bath*. Kemudian, *dipping bath* dirotasi dengan kecepatan konstan agar material yang menempel tidak menebal di salah satu sisi. Terakhir, material kapsul dianginkan pada suhu ruang selama 2 – 3 jam hingga mengering dan siap dicabut.

Optimasi prosedur dilakukan berdasarkan *ruggedness* dari prosedur tersebut. Pengoptimalan parameter yang dilakukan adalah suhu, lama pemanasan, dan rasio komposisi material kapsul. Optimasi ini dilakukan dengan tujuan mendapatkan prosedur yang bersifat *reproducible*. Terakhir, dibuat empat jenis formulasi untuk dibandingkan satu sama lainnya, yakni: CRG, CRG-MD, dan CRG-MD/SOR. Perbandingan ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh masing – masing material terhadap sifat CRG itu sendiri.

4.4.2 Karakterisasi Kapsul

4.4.2.1 Karakterisasi *Moisture*

Berdasarkan adopsi dari SNI 03 – 1971 – 1990, sebanyak 2,0 gram kapsul ditimbang pada timbangan digital. Alas timbangan dari aluminium juga perlu ditimbang untuk keperluan penimbangan akhir nantinya. Kemudian, semua kapsul diletakkan di dalam oven dan kemudian dipanaskan selama 4 jam pada suhu 110 °C

agar dapat mengurangi kadar air pada kapsul. Terakhir, perubahan massa kapsul ditimbang agar dapat ditentukan *moisture*-nya.

4.4.2.2 Karakterisasi Fisik DDS

Pengukuran panjang, tebal, dan diameter dari kapsul ditentukan dengan mikrometer sekrup digital dimana 8 kapsul kapsul dihitung pada penelitian ini. Rerata dari keseluruhan data dihitung untuk kemudian didapatkan hasil karakterisasi fisik DDS pada penelitian ini dan kemudian dibandingkan dengan kapsul konvensional yang ada.

4.4.2.3 Analisis *Crosslinking* dengan FTIR dan Komputasi

Analisis gugus fungsi diperoleh menggunakan spektrum FTIR. Sampel padat dipreparasi dengan mencampurkan 2 mg sampel dan 200 mg KBr hingga homogen. Selanjutnya sampel dicetak berbentuk pelet dengan proses vakum dan penekanan. Pelet sampel kemudian diukur dengan spektroskopi FTIR Shimadzu IRTracer – 100.

Perhitungan komputasi dilakukan menggunakan perangkat lunak HyperChem 8.0 dan divisualisasi menggunakan GaussView 5.0.8. Perangkat keras lokal yang digunakan adalah merk DELL tipe P24T dengan prosesor AMD A9-9420e RADEON R5 dan inti prosesor 5 COMPUTE 2C+3G 1,80 GHz.

4.4.2.4 Karakterisasi Morfologi Permukaan dengan SEM

Karakterisasi morfologi permukaan dan pori sampel dilakukan dengan menggunakan SEM tipe JEOL JSM-8360LA. Sampel dipotong dalam bentuk balok berukuran 3 x 3 x 2 mm dengan rapi untuk kemudian ditempelkan pada *specimen holder* berdiameter 1 cm dan dengan tebal 0,5 cm (www.jeol.co.jp, diakses pada 13 Februari 2019). *Specimen holder* sebelumnya dibersihkan dengan aseton dan diolesi dengan pasta *dotite*. Sekeliling sampel diolesi dengan *dotite* agar tidak ada rongga antara *specimen holder* dengan sampel. Kemudian, sampel dikeringkan di atas *hot plate* selama 10 – 15 menit dan ditiup dengan *blower* agar pengeringan dapat dipastikan. Terakhir, sampel dimasukkan ke dalam *fine coat* agar analisis SEM dapat dilakukan.

4.4.2.5 Karakterisasi dengan *Viscosity Test*

Sesuai dengan SOP dari Laboratorium Kimia Fisik Fakultas Sains dan Teknologi, Uji viskositas dilakukan dengan menggunakan *Digital Display Viscometer NDJ Series*. Sampel dituang ke dalam gelas beker 250 mL hingga penuh. Kemudian, ukuran *spindle* viskometer disesuaikan dengan tingkat kekentalan dari larutan sampel. Setelah didapat ukuran yang sesuai, kecepatan rotasi *spindle* diatur pula sesuai dengan menu yang tersedia. Alat dioperasikan sesuai dengan ukuran dan rotasi yang diatur sehingga didapat hasil data viskositas yang tertera pada layar alat.

4.4.2.6 Karakterisasi dengan Uji Tarik

Data *tensile strength* material kapsul diperoleh dengan cara memberikan beban ke penampang benda secara bertahap yang diatur secara otomatis. Kurva tegangan-regangan linier rata-rata diperoleh dengan cara membandingkan perpanjangan yang dihasilkan setelah pengujian terhadap panjang awal material. *Modulus young* diperoleh dengan cara membagi data nilai *stress* (tegangan) dan *strain* (regangan).

4.4.2.7 Uji Derajat *Swelling*

Analisis dengan minimal enam kali replikasi dilakukan dengan mengapungkan sampel kapsul di dalam 100 mL akuades selama 30 menit pada suhu $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Dalam setiap interval waktu 5 menit, sampel dikeringkan dan kemudian ditimbang massanya untuk didapatkan grafik hubungan antara waktu pengapungan sampel dengan *swelling* yang dialami (Efentakis *et al.*, 1997; Mahkam dan Doostie, 2005; Ruvalcaba *et al.*, 2009; Hezaveh *et al.*, 2012; Yang, 2012; Estrada *et al.*, 2013; Bennour dan Louzri, 2014; Ngadiwiyanana *et al.*, 2018; dan Unagolla *et al.*, 2018). Perhitungan derajat *swelling* dilakukan menggunakan persamaan 6.

4.4.3 Analisis pada Kapsul

4.4.3.1 Uji Waktu Disintegrasi

Mengikuti Pharmacopoeia 8.0, uji disintegrasi dilakukan dengan merendam 8 kapsul sampel di dalam 600 mL aquades ($\text{pH} = 7$) pada suhu $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Kemudian, alat dioperasikan hingga seluruh kapsul larut sempurna. Untuk

mempermudah pengamatan ketika kapsul tepat terintegras, kapsul diisi dengan karbon aktif. Uji disintegrasi dilakukan menggunakan instrumen *Veego Disintegration Tester Model VTD – AVP*.

4.4.3.2 Uji Disolusi dan Analisis Kinetika *Release* Secara *In Vitro*

Mengikuti USP-711, pembuatan kurva baku dilakukan sebelum uji disolusi. larutan induk dibuat terlebih dahulu pada konsentrasi 100 ppm, kemudian dari larutan induk tersebut dilakukan pengenceran hingga didapatkan konsentrasi berturut-turut 1, 10, 20, 40, dan 50 ppm. Medium disolusi yang digunakan untuk uji *in vitro* adalah air sebagai representasi komposisi fluida terbesar dalam tubuh manusia.

Uji disolusi dilakukan terhadap 6 kapsul yang mengandung 100 ppm salisilamida pada setiap pH yang merepresentasikan kondisi tubuh manusia, yakni pada pH 1,2; 4,5; dan 6,8. Kapsul tersebut direndam dalam 900 mL medium disolusi dan uji disolusi dioperasikan menggunakan instrumen *Veego Dissolution Tester Type Dis 8000*. Pengambilan sampel sebanyak 10 mL dilakukan pada interval waktu 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, dan 90 menit. Terakhir, seluruh sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 236,6 nm menggunakan instrumen spektroskopi UV – Vis Shimadzu tipe UV – 1601. Nilai absorbansi yang didapat kemudian dikonversi menjadi konsentrasi sampel dan terakhir dibuat plot perubahan konsentrasi terhadap waktu.

10 liter larutan medium pH 1,2 didapatkan dari 52 mL HCl (36,5%). pH 1,2 ini bertujuan sebagai representasi dari keadaan lambung tubuh manusia. Kemudian, larutan standar pH 4,5 dapat dibuat dari larutan buffer sitrat untuk merepresentasikan pH fluida sel tubuh. 10 liter larutan tersebut dapat dibuat dari 1,212 gram asam sitrat dan 29,41 gram trinitrium sitrat dihidrat. Terakhir, larutan standar pH 6,8 dibuat dari larutan buffer fosfat untuk merepresentasikan keadaan pH pada usus halus. Dalam 10 liter larutan buffer, dibutuhkan 2,844 mg KH_2PO_4 dan 17,42 gram K_2HPO_4 .

Analisis kinetika *release* dilakukan dengan membuat plot konsentrasi sampel terhadap waktu mengikuti persamaan – persamaan yang direkomendasikan oleh Unagolla *et al.* (2018) yakni persamaan orde nol, orde satu, model Higuchi,

Ritger-Peppas, dan Peppas-Sahlin. Analisis secara statistik menggunakan metode AIC (*Akaike Information Criterion*) dilakukan untuk menentukan model matematis yang paling tepat untuk mendeskripsikan proses *release* salisilamida dalam material kapsul pada tiga variasi pH tersebut.