

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran untuk penelitian yang menjadi sasaran untuk penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah formulasi NLC resveratrol dengan lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan surfaktan (tween 80).

Sampel adalah bagian dari populasi yang diteliti berdasarkan ciri dan sifatnya, serta keberadaannya mampu mendiskripsikan populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah formulasi NLC resveratrol dengan lipid padat (asam miristat dan asam stearat) pada bobot 10 gram dan surfaktan tween 80 pada bobot 1,4 gram dan 7 gram.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama adalah variabel yang terdiri dari variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung. Variabel bebas yaitu variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penilaian ini yaitu karakterisasi. Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh peneliti lain secara tepat.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama dalam penelitian ini diklasifikasikan dalam berbagai variabel, antara lain variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

Variabel bebas yaitu variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi rantai panjang lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan variasi konsentrasi tween 80.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penilaian ini yaitu karakterisasi. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah karakterisasi NLC resveratrol yaitu efisiensi penjerapan, pelepasan obat dan uji aktivitas antioksidan.

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali adalah proses pembuatan NLC dengan metode emulsifikasi yaitu pengaturan suhu, lamanya pembuatan dan kecepatan putaran lalu ultrasonik dengan mengatur *pulse* dan waktu *on off ultrasonic*.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Zat aktif resveratrol dengan formulasi perbandingan panjang rantai asam miristat dan asam stearat dengan konsentrasi 5% serta variasi konsentrasi asam oleat pada setiap formula dengan surfaktan tween 80 dengan perbandingan 1,4% : 7%. Uji antioksidan pada NLC menggunakan DPPH adalah menentukan jumlah zat aktif dapat memberikan aktivitas antioksidan dan menunjukkan stabilitas antioksidan didalam sistem NLC.

Efisiensi penjerapan dilakukan untuk mengetahui jumlah resveratrol yang terjerap dalam NLC. Pelepasan obat dilakukan untuk mengetahui seberapa obat yang terlepas dengan menggunakan membran dialisis, dan mengetahui ukuran partikel apabila tween 80 dan perbandingan panjang rantai asam miristat dan asam stearat dengan menggunakan metode emulsifikasi dan sonikasi.

## **C. Bahan dan Alat**

### **1. Bahan**

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah resveratrol, Asam miristat (grade farmasi), Asam stearat (grade farmasi), Asam oleat (grade farmasi), Tween 80 (grade farmasi) dan Aquadestilata (semua bahan farmasi) Metanol (Merck, Germany) dan Membran Selofan.

### **2. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat *Hanson Horizontal Diffusion Cell System* (Chatsworth, CA), *Qsonic sinicators* (Newtown, USA),

Timbangan Analitik Ohaus PA213, *Overhead Stirrer IKA RW 20 Digital*, *sentrifugasi*, Spektrofotometri UV-Vis Shimadzu 1800 (Tokyo, Jepang), *Magnetic Stirrer*, alat-alat gelas (*Pyrex*, Jepang) dan non gelas yang terdapat di laboratorium.

#### D. Jalannya Penelitian

##### 1. Pembuatan kurva kalibrasi dapar fosfat pH 7,4

**1.1 Pembuatan dapar fosfat pH 7,4.** Kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ditimbang sebanyak 6,80 gram dan natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ ) sebanyak 0,90 gram dimasukkan kedalam labu takar 1000 mL kemudian ditambahkan Aquades hingga tanda batas kocok sampai homogen sehingga diperoleh nilai pH 7,4.

**1.2 Pembuatan larutan induk resveratrol.** Larutan induk resveratrol disiapkan dengan menimbang resveratrol sebanyak 49,52 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian tambahkan dapar fosfat pH 7,4 sampai tanda batas kemudian homogenkan.

**1.3 Penentuan panjang gelombang maksimum.** Panjang gelombang serapan maksimum resveratrol ditentukan dengancara dibaca serapan pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 400-200 nm. Mengukur serapan maksimum larutan resveratrol 9,90 ppm dalam dapar fosfat pH 7,4 dengan pengenceran larutan induk resveratrol.

**1.4 Pembuatan kurva baku resveratrol.** Pembuatan kurva baku resveratrol dilakukan dengan membaca serapan resveratrol dengan seri konsentrasi 0,49 ppm; 0,98; 1,94 ppm; 2,91 ppm; 3,81 ppm; 4,76 ppm; 5,65 ppm; 6,52 ppm dan 7,40 ppm pada panjang gelombang maksimum hasil proses pemindaian, kemudian masing-masing seri konsentrasi tersebut diukur dengan perangkat lunak pada alat yaitu dengan memplotkan konsentrasi pada sumbu x dan y sebagai serapan sehingga diperoleh R (koefisien relasi) dari kurva kalibrasi.

##### 2. Pembuatan kurva kalibrasi metanol

**2.1 Pembuatan larutan induk resveratrol.** Larutan induk resveratrol disiapkan dengan menimbang resveratrol sebanyak 52,6 mg dimasukkan ke dalam

labu ukur 10 mL, kemudian tambahkan metanol sampai tanda batas kemudian homogenkan.

**2.2 Penentuan panjang gelombang maksimum.** Panjang gelombang serapan maksimum resveratrol ditentukan dengan cara dibaca serapan pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 400-200 nm. Mengukur serapan maksimum larutan resveratrol 9,99 ppm dalam metanol dengan pengenceran larutan induk resveratrol.

**2.3 Pembuatan kurva baku resveratrol.** Pembuatan kurva baku resveratrol dilakukan dengan membaca serapan resveratrol dengan seri konsentrasi 0,63 ppm; 0,99 ppm; 1,96 ppm; 2,92 ppm; 3,85 ppm; 5,67 ppm dan 7,43 ppm pada panjang gelombang maksimum hasil proses pemindaian, kemudian masing-masing seri konsentrasi tersebut diukur dengan perangkat lunak pada alat yaitu dengan memplotkan konsentrasi pada sumbu x dan y sebagai serapan sehingga diperoleh R (koefisien relasi) dari kurva kalibrasi.

### 3. Validasi metode analisis

**3.1 Linearitas.** Linearitas Dari data pengukuran kurva kalibrasi , kemudian dianalisis dengan regresi linier sehingga diperoleh koefisien korelasi ( $r$ ) yang menunjukkan linieritasnya. Nilai linearitas dikatakan baik apabila nilai  $r \leq 0,999$ . Linearitas ditentukan berdasarkan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) dari persamaan regresi  $y = a + b x$  (Ahuja dan Dong 2005).

**3.2 Akurasi dan presisi.** Uji akurasi dan presisi dilakukan dengan membuat sampel obat yang diketahui konsentrasi resveratrol sesuai dengan 80%, 100% dan 120%, masing-masing dimasukkan dalam labu takar 10 mL ditambah metanol sampai tanda batas. Serapan sampel dibaca secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Ulangi sebanyak 3 kali untuk masing-masing konsentrasi. Hitung nilai % *recovery* dengan kriteria 95%-105% dengan bias  $\pm 5\%$  pada pelepasan obat dan 98%-102% dengan bias  $\pm 2\%$  pada penetapan kadar, sedangkan RSD  $\leq 20\%$  untuk pelepasan obat  $\leq 2\%$  untuk penetapan kadar (Ahuja dan Dong 2005).

**3.3 Batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ).** Batas deteksi dan batas kuantifikasi penetapan kadar obat resveratrol dibuat larutan baku

resveratrol yang mengacu pada kurva kalibrasi dari larutan baku resveratrol ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan membuat seri konsentrasi dibawah konsentrasi terkecil pada uji linearitas. Nilai pengukuran dapat juga diperoleh dari nilai b (slope) pada persamaan regresi linear  $y = a + bx$ , sedangkan simpangan blanko sama dengan simpangan baku residual ( $Sy/x$ ). Batas deteksi dan kuantifikasi dapat ditentukan dengan rumus, sebagai berikut: (Asra 2017).

$$LOD = \frac{3,3 Sy/x}{b} \dots\dots\dots$$

$$LOQ = \frac{10 Sy/x}{b} \dots\dots\dots$$

Keterangan :

$Sy/x$  : Simpangan baku residual dari serapan

b : Slope persamaan regresi linear kurva kalibrasi (Rivai *et al.* 2017).

#### 4. Pembuatan rancangan formula NLCresveratrol dengan *factorial design*

Pembuatan rancangan formula NLC *resveratrol* menggunakan *factorial design* dengan faktor lipid padat dan *surfaktan* masing-masing dengan konsentrasi. Rancangan tersebut dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 4. Formula NLC resveratrol dengan factorial design**

Formula	Kode		Aktual	
	Lipid padat	Tween 80	Lipid padat	Tween 80
1	-1	-1	Asam miristat	1,4
2	+1	-1	Asam stearat	1,4
3	-1	+1	Asam miristat	7
4	+1	+1	Asam stearat	7

**Tabel 5. Rancangan formula NLC resveratrol**

Bahan	Formula			
	1	2	3	4
Resveratrol	0,025	0,025	0,025	0,025
Asam miristat	5	-	5	-
Asam stearat	-	5	-	5
Asam oleat	2	2	2	2
Tween 80	1,4	1,4	7	7
Aquadestillata ad	91,575	91,575	85,975	85,975

#### 5. Pembuatan emulsi NLC resveratrol dengan menggunakan metode emulsifikasi

Pembuatan NLC resveratrol dibuat dengan cara melelehkan fase lipid berupa asam miristat dan asam stearat masing-masing 5 g untuk asam oleat

masing-masing 2 g. Dibuat 4 formula, campuran lipid dileburkan secara bersamaan pada suhu 70-80 °C pada saat yang sama larutan surfaktan (tween 80) ditimbang untuk F1 & F2 1,4 g, F3 & F4 7 g disiapkan dan dipanaskan dengan air pada suhu 70-80°C kemudian ditimbang resveratrol sebanyak 25 mg. Campuran lipid panas diaduk dengan menggunakan *over heat stirer* pada kecepatan 1000 rpm kemudian ditambahkan zat aktif resveratrol ke dalam campuran lipid lalu ditambahkan campuran surfaktan panas sedikit demi sedikit selama 10 menit dengan mengatur suhu antara 70-80°C kemudian akan terbentuk mikroemulsi panas. Tahap selanjutnya yaitu campuran dimasukkan ke dalam sonikator pada amplitudo 35% selama 5 menit dengan *pulseon* 1 menit *off* 1 menit (Sriarumtias dkk 2017).

## 6. Pengukuran efisiensi penjerapan resveratrol

Pengukuran persen efisiensi penjerapan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV. Efisiensi penjerapan merupakan langkah yang digunakan untuk mengetahui seberapa besar presentase zat aktif yang terjerap didalam sistem NLC. Pembuatannya dengan diambil volume 1,0 ml setiap sampel yang diisi obat disentrifugasi pada 6000 rpm selama 30 menit untuk memisahkan fase lipid dan air. Bagian minyak yang bening diambil sebanyak 50 µL dilarutkan dengan 3 mL metanol kemudian dibaca spektrofotometer UV-VIS pada 306 nm. Keberhasilan jerapan NLC dihitung sebagai berikut:

$$\% \text{ Entrapment Efficiency} = \frac{(W_a - W_s)}{W_a} \times 100 \dots\dots\dots$$

$$\text{Drug Loading} = \frac{(W_a - W_s)}{W_a - W_s + W_l} \times 100 \dots\dots\dots$$

Keterangan :

EE = efisiensi penjerapan

DL = Kandungan Obat

W<sub>a</sub> = massa obat yang ditambahkan kedalam formula

W<sub>s</sub> = analisa bobot obat dalam supernatan

W<sub>l</sub> = penambahan bobot lipid (Sethuraman *et al.* 2017).

## 7. Uji pelepasan obat

Pelepasan obat *in vitro* disiapkan NLC-RSV dilakukan dengan menggunakan metode kantung dialisis (Membran Himedia-Dialisis 135, Mol.

Memotong 12.000-14.000 Da, Mumbai, India). NLC-RSV diambil 10 gram kemudian dimasukkan ke dalam kantung dan kedua ujung kantung diklem. Kantung dimasukkan ke dalam chamber dengan bantuan pemberat kemudian diisi dengan larutan fosfat 500 mL pH 7,4. Suhu pada media dipertahankan pada  $37 \pm 1$  °C dengan kecepatan 50 rpm. Disampling 5 mL pada interval waktu 5, 10, 15, 30, 45, 60 dan 120 dengan spuit dan diganti dengan buffer yang baru pada setiap waktu pengambilan sampling. Sampel yang telah diambil kemudian dibaca dengan spektrofotometri UV-Vis pada lamda max 316 nm. Setiap sampling dibaca sebanyak 2 kali (duplo).

## **8. Pengujian antioksidan resveratrol**

**8.1 Penentuan panjang gelombang maksimum.** Penentuan panjang gelombang maksimum larutan DPPH untuk uji aktivitas antioksidan sampel dilakukan dengan pengambilan 1 mL larutan DPPH ditambahkan 4 mL metanol kocok sampai homogen dan amati serapannya pada rentang 520-500 nm. Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang yang mempunyai nilai serapan paling tinggi.

**8.2 Penentuan *operating time*.** Penetapan *operating time* yaitu dengan mencampurkan 1 mL larutan DPPH dengan 1 mL larutan induk resveratrol yang telah diencer ditambahkan 3 mL metanol kocok sampai homogen dan amati serapannya pada panjang gelombang yang telah ditentukan. Serapan dibaca mulai dari menit 0 sampai 60 menit yang didapatkan nilai absorbansinya yang stabil pada menit tertentu. Penentuan *operating time* dapat ditentukan dari grafik antara waktu pembacaan dengan serapan.

**8.3 Pembuatan kurva baku.** Kurva baku dibuat seri konsentrasi 1,48; 2,35; 4,68; 9,32; 18,23 dan 35,80 ppm dari larutan induk. Masing-masing dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan 3 mL metanol. Larutan konsentrasi masing- masing dibuat kemudian dibaca pada waktu *operating time* dan didapatkan panjang gelombangnya. Hasil yang diperoleh dibuat regresi linear antara konsentrasi (sumbu x) dan serapan (sumbu y). Hasil tersebut didapatkan persamaan regresi linier yang digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan.

Selanjutnya hasil absorbansi dihitung untuk mendapatkan %Inhibisi, dengan perhitungan :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100 \dots\dots\dots$$

Keterangan :  
 % inhibisi : besarnya hambatan serapan  
 Abs DPPH : absorbansi kontrol  
 Abs sampel : absorbansi sampel (Lung and Destiani 2015).

## 9. Pengujian antioksidan NLC resveratrol

**9.1 Pembuatan larutan uji.** Formula NLC resveratrol ditimbang 2 gram, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambah metanol p.a sampai larut sampai tanda batas hingga didapat konsentrasi 250 ppm, semua formula dibuat sama. Kemudian di ambil 1 bagian larutan uji + 1 bagian DPPH + 3 bagian metanol p.a kemudian dibuat sesuai OT, baca di spektrofotometri UV-Vis dan dihitung % inhibisi. Hasil tersebut didapatkan persamaan regresi linier yang digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan.

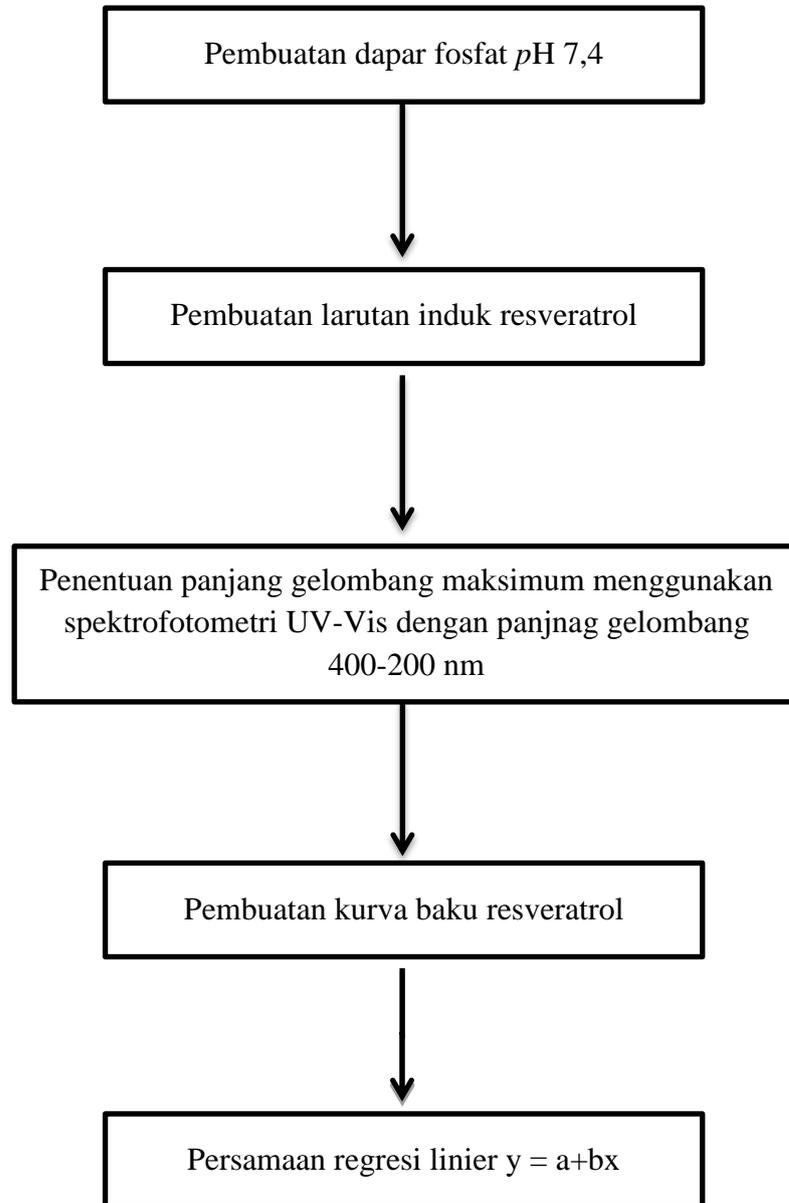
Selanjutnya hasil absorbansi dihitung untuk mendapatkan %Inhibisi, dengan perhitungan :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100 \dots\dots\dots$$

Keterangan :  
 % inhibisi : besarnya hambatan serapan  
 Abs DPPH : absorbansi kontrol  
 Abs sampel : absorbansi sampel (Lung and Destiani 2015).

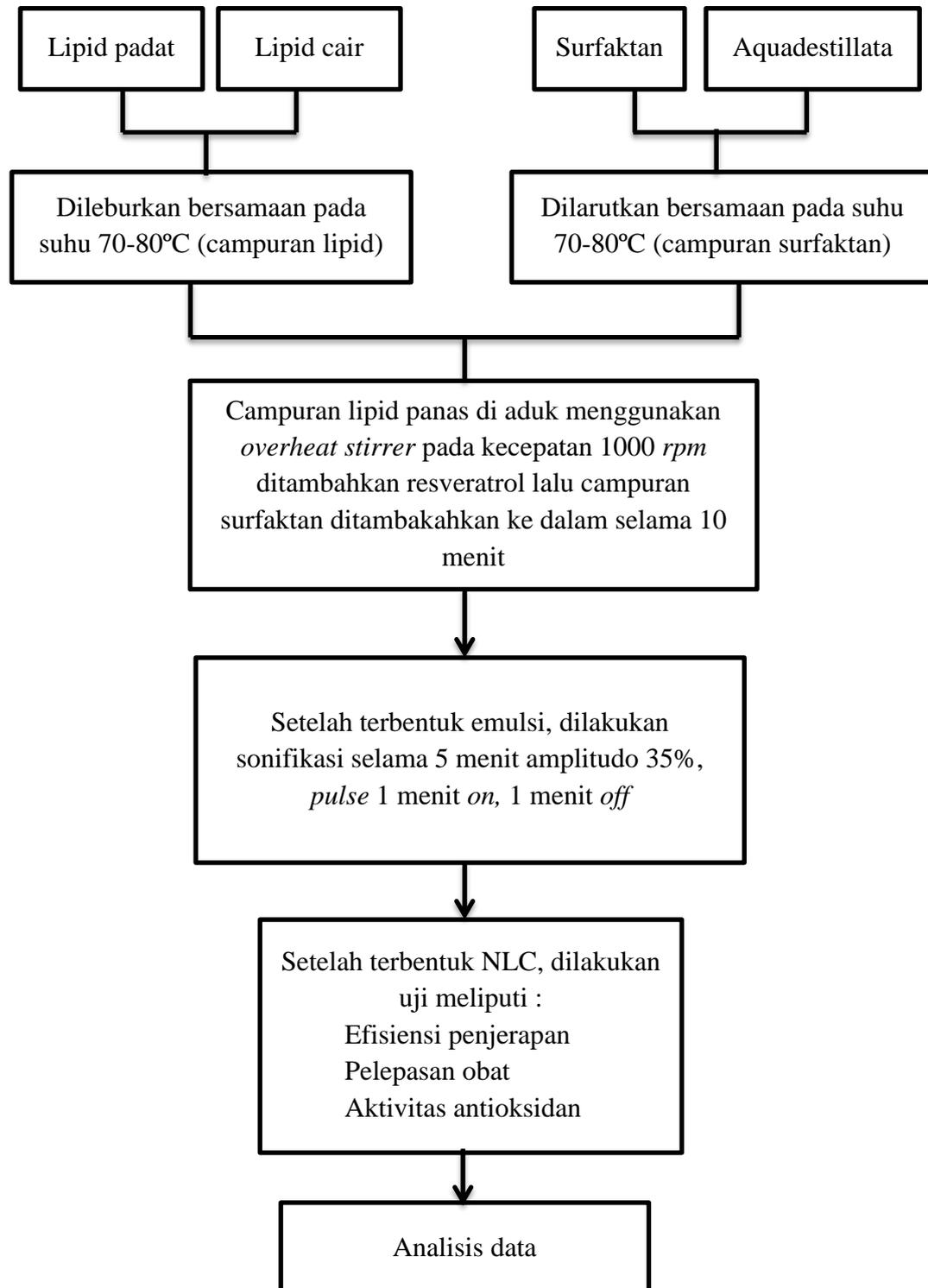
## E. Skema Penelitian

### 1. Pembuatan Kurva Kalibrasi



Gambar 6. Pembuatan Kurva Kalibrasi

## 2. Pembuatan Sistem NLC



Gambar 7. Pembuatan Sistem NLC

### 3. Skema Pengujian Aktivitas Antioksidan



Gambar 8. Skema Pengujian Aktivitas Antioksidan

### F. Analisis Hasil

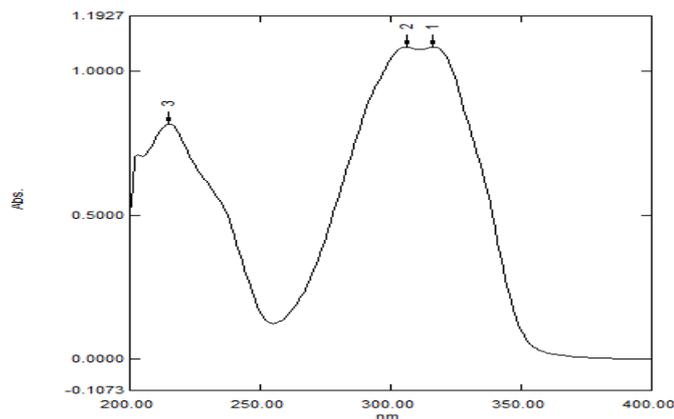
Data hasil penelitian resveratrol menggunakan uji efisiensi penyerapan untuk mengetahui jumlah obat yang terjerap dalam metode NLC. Uji pelepasan obat yaitu jumlah resveratrol yang dapat melewati membran. Persen daya hambat antioksidan dengan DPPH, untuk penurunan serapan DPPH setelah diberi resveratrol. Data profil konsentrasi terhadap kurva kalibrasi dianalisis dengan metode korelasi regresi untuk mendapatkan persamaan regresi linear.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

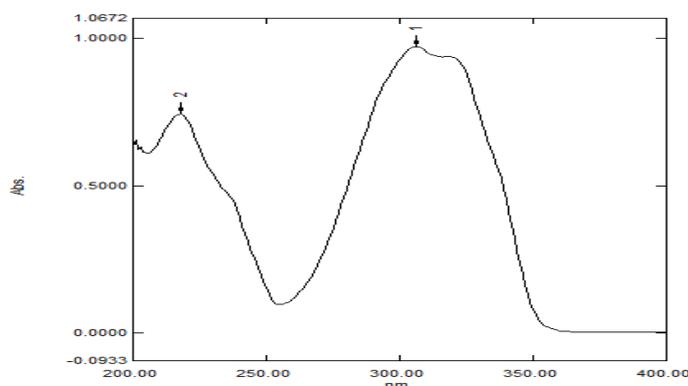
### A. Verifikasi Metode Analisis

#### 1. Hasil kurva kalibrasi resveratrol dapar posfat dan metanol

Hasil pengukuran kurva kalibrasi resveratrol dibuat dengan pelarut dapar fosfat *pH* 7,4 dan metanol. Penentuan kurva kalibrasi dengan pelarut dapar fosfat *pH* 7,4 dilakukan dalam pengujian pelepasan obat dan pelarut metanol dilakukan dalam pengujian efisiensi penyerapan dan uji aktivitas antioksidan. Penentuan panjang gelombang maksimum pada pelarut dapar fosfat *pH* 7,4 diperoleh pada panjang gelombang maksimal dihasilkan 316 nm dengan serapan 1,083, sedangkan dengan pelarut metanol dihasilkan 306 nm dengan serapan 0,9705.



Gambar 9. Hasil panjang gelombang maksimum resveratrol pelarut dapar posfat *pH* 7,4



Gambar 10. Hasil panjang gelombang maksimum resveratrol pelarut metanol

Hasil panjang gelombang maksimum resveratrol dengan pelarut dapar posfat dan metanol, panjang gelombang maksimum pada resveratrol pelarut dapar posfat pH 7,4 penelitian ini didapatkan serapan 316 nm dan panjang gelombang maksimum pada resveratrol pelarut metanol diperoleh 306 nm sehingga pada panjang gelombang maksimum resveratrol pada penelitian ini mendapatkan hasil yang sama (Nemcova *et al.*2012).

## 2. Hasil validasi metode analisis resveratrol dengan pelarut dapar fosfatpH 7,4

Hasil validasi metode analisis dilakukan untuk penilaian terhadap parameter tertentu, dalam percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Validasi metode analisis resveratrol dilakukan dengan pelarut dapar fosfat pada pH 7,4 sebagai parameter untuk uji pelepasan obat. Hasil validasi metode analisis resveratrol denga pelarut dapar fosfat dapat dilihat pada Tabel.

**Tabel 6. Parameter validasi metode analisis resveratrol dengan pelarut dapar fosfat**

Parameter	Hasil
Linieritas	0,9995
Batas deteksi (LOD)	0,2755µg/mL
Batas Kuantifikasi (LOQ)	0,8348µg/mL
Perolehan kembali (recovery)	100,77%
Simpangan baku relatif (RSD)	0,81%

Parameter diatas menunjukkan bahwa nilai linearitas yang dikatakan baik apabila nilai  $r$  nya  $0,9995 \leq r \leq 1$ . Nilai batas deteksi (LOD) yang didapatkan resveratrol yaitu 0,2755 µg/mL dan batas kuantifikasi (LOQ) yaitu 0,8348 µg/mL. Akurasi diukur sebagai analit yang diperoleh kembali dilakukan dengan penambahan larutan baku resveratrol, hasil nilai perolehan kembali diperoleh dengan rata-rata 100,77%, hasil tersebut menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki akurasi yang tinggi dan berada pada rentang 98-102%. Penentuan presisi dilakukan pada tingkat keterulangan dengan cara mengukur kadar larutan baku resveratrol dengan konsentrasi 5,606 µg/mL Nilai dari uji presisi didapatkan rata-rata 0,81% yang menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki presisi yang baik karena RSD lebih kecil dari 2% (Gandjar & Rohman 2012).

### 3. Hasil validasi metode analisis resveratrol dengan pelarut metanol

Hasil validasi metode analisis resveratrol dengan pelarut metanol dilakukan pada parameter iniduiji efisiensi penyerapan dan uji aktivitas antioksidan. Resveratrol memiliki kelarutan yang baik pada metanol sehingga digunakan sebagai pelarut. Hasil validasi metode analisis resveratrol dengan pelarut metanol dapat dilihat pada Tabel.

**Tabel 7. Parameter validasi metode analisis resveratrol metanol**

Parameter	Hasil
Linieritas	0,9997
Batas deteksi (LOD)	0,2126 µg/mL
Batas Kuantifikasi (LOQ)	0,6444 µg/mL
Perolehan kembali (recovery)	100,62%
Simpangan baku relatif (RSD)	0,36%

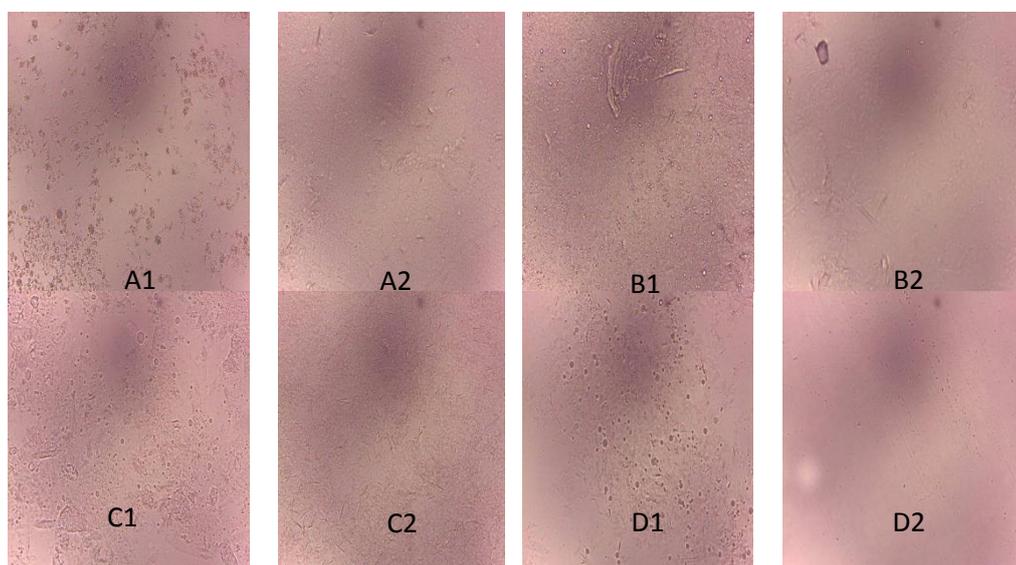
Parameter diatas menunjukkan bahwa nilai linearitas dikatakan baik apabila nilai  $r$  nya  $0,9997 \leq r \leq 1$ . Nilai batas deteksi (LOD) yang didapatkan resveratrol yaitu 0,2126 µg/mL dan batas kuantifikasi (LOQ) yaitu 0,6444 µg/mL. Akurasi diukur sebagai analit yang diperoleh kembali dilakukan dengan penambahan larutan baku resveratrol, hasil nilai perolehan kembali diperoleh dengan rata-rata 100,62% hasil tersebut menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki akurasi yang tinggi dan berada pada rentang 98-102%. Penentuan presisi dilakukan pada tingkat keterulangan dengan cara mengukur kadar larutan baku resveratrol dengan konsentrasi 3,603 µg/mL. Nilai dari uji presisi didapatkan rata-rata 0,36% yang menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki presisi yang baik karena RSD lebih kecil dari 2% (Gandjar & Rohman 2012).

#### **B. Pembuatan *Nanostructured lipid carriers resveratrol* (NLC-RSV)**

Pembuatan *nanostructured lipid carriers resveratrol* (NLC-RSV) telah berhasil diformulasikan dengan menggunakan metode emulsifikasi-sonikasi. Prinsip penggunaan metode ini adalah mencampurkan fase lipid dan surfaktan dengan cara melebur campuran lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan lipid cair (asam oleat) lalu melebur campuran surfaktan (tween 80) dan air diatas *water bath*. Formula yang dibuat dalam penelitian ini ada 4 formula dengan variasi konsentrasi berbeda pada surfaktan dalam lipid padat, yaitu dengan

mencampurkan fase lipid (lipid padat dan lipid cair) dan surfaktan (tween 80 dan air) dengan menggunakan alat *overheat stirer* pada kecepatan 1000 rpm, campuran lipid dimasukan dengan menambahkan resveratrol kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit campuran surfaktan lalu diatur suhunya antara 70-80°C sampai membentuk masa emulsi selama 10 menit. Masa emulsi yang terbentuk lalu disonikator untuk memecah partikel emulsi menjadi partikel nano dengan *amplitudo* 35% selama 5 menit dengan *pulse on* 1 menit *off* 1 menit (Sriarumtias dkk 2017).

Skrining proses pembuatan NLC resveratrol merupakan penelitian pendahuluan bertujuan untuk memastikan pembentukan nanosistem yang diamati dengan mikroskop polarisasi. Pembuatan sistem NLC resveratrol dibuat dengan mencampurkan lipid padat dan lipid cair dengan sistem emulsifikasi. Metode emulsifikasi merupakan metode dengan cara lipid padat dan cair dipanaskan dan dicampur, kemudian obat-obatan ditambahkan untuk membentuk fase lipid. Fase lipid ditambahkan ke fase air yang mengandung surfaktan dan diaduk untuk membentuk emulsi kasar (Li *et al.* 2017). Hasil pengamatan pendahuluan pembuatan NLC resveratrol nanosistem dapat dilihat pada Gambar 12.

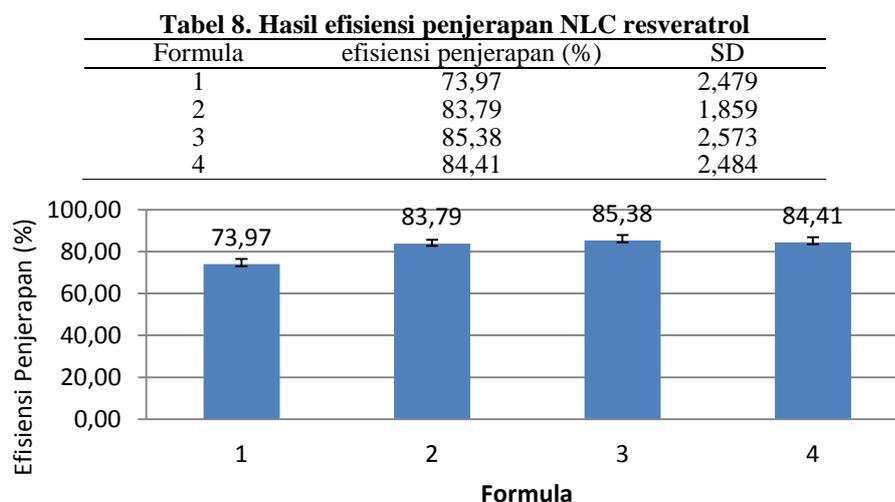


**Gambar 11.** Gambar mikroskop NLC-RSV dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 40x (A1: Formula 1 sebelum disonikasi, A2: Formula 1 sesudah disonikasi, B1: Formula 2 sebelum disonikasi, B2: Formula 2 sesudah disonikasi, C1: Formula 3 sebelum disonikasi, C2: Formula 3 sesudah disonikasi, D1: Formula 4 sebelum disonikasi dan D2: Formula 4 sesudah disonikasi)

Gambar A1, B1, C1, dan D1 pada gambar diatas menunjukkan bahwa setelah dilakukan teknik emulsifikasi atau sebelum disonikasi masih berbentuk globul kasar pada mikroskop diperbesaran 40x, kemudian pada gambar A2, B2, C2 dan D2 menunjukkan bahwa bentuk NLC resveratrol lebih halus pada perbesaran 40x, karena dilakukan proses sonikasi. Sonikasi merupakan aplikasi penggunaan energi suara untuk proses pengadukan partikel pada suatu sampel. Sonikasi menggunakan energi suara untuk menggerakkan partikel yang berada dalam suatu sampel. Sonikasi dapat digunakan untuk mempercepat proses pelarutan suatu materi dengan prinsip pemecahan reaksi intermolekuler, sehingga terbentuk suatu partikel yang berukuran nano. Prosesnya dengan menggunakan gelombang ultrasonik pada amplitudo 35% selama 10 menit dengan *pulse on* 59 detik dan *off* 59 detik rentang frekuensi 20 KHz-10 MHz.

### C. Efisiensi penjerapan dan *Drug loading* NLC resveratrol

Pengujian dalam formula yang telah dilakukan yaitu efisiensi penjerapan merupakan suatu karakterisasi yang memberikan data berapa persen zat aktif yang berhasil dijerap dalam ukuran nanopartikel. *Drug Loading* dalam pengujian ini yaitu membantu untuk mengetahui jumlah obat yang berada didalam suatu nanopartikel (Sriarumtias *et al.* 2017). Efisiensi penjerapan merupakan langkah yang digunakan untuk mengetahui seberapa besar presentase zat aktif yang terjebak didalam sistem NLC. Hasil perhitungan pada efisiensi penjerapan dapat dilihat pada Gambar 13.



**Gambar 12. Hasil efisiensi penjerapan (%) NLC resveratrol**