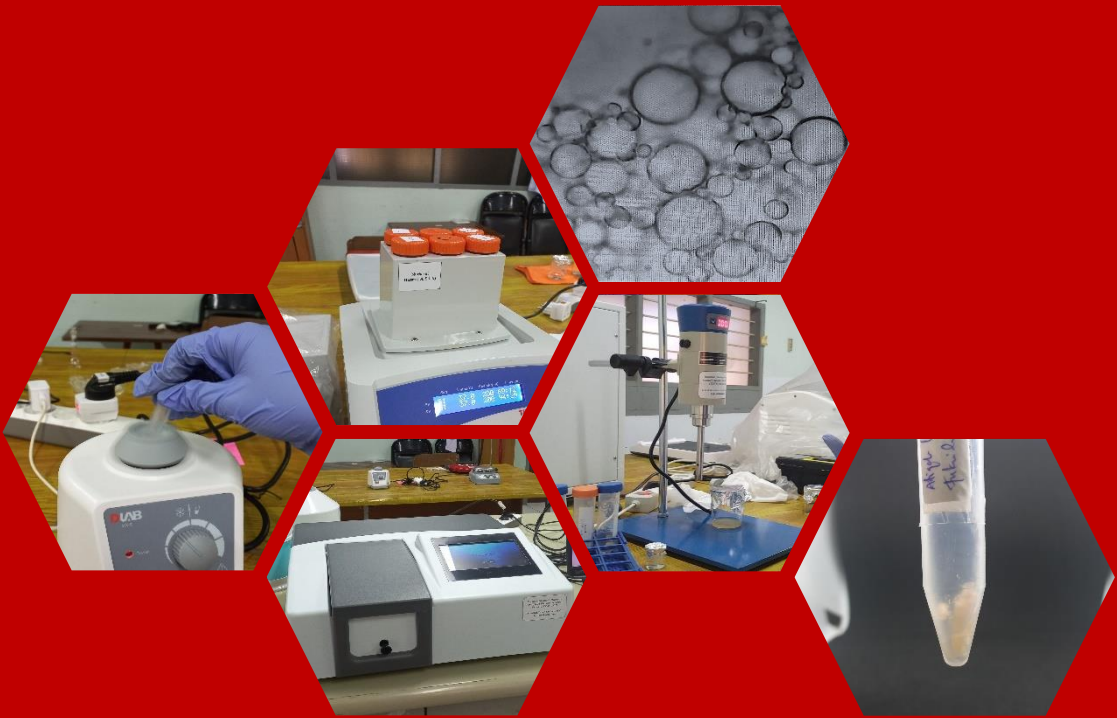


**FORMULASI DAN KARAKTERISASI *FUCOIDAN MICROGEL PARTICLES*  
MENGUNAKAN VARIASI KONSENTRASI  
*SODIUM ALGINATE***



**ATIQA LUTHFIYAH FATIHAH  
N011201026**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI *FUCOIDAN MICROGEL PARTICLES*  
MENGUNAKAN VARIASI KONSENTRASI  
*SODIUM ALGINATE***

**ATIQA LUTHFIYAH FATIHAH  
N011201026**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI *FUCOIDAN MICROGEL PARTICLES*  
MENGUNAKAN VARIASI KONSENTRASI  
*SODIUM ALGINATE***

ATIQA LUTHFIYYAH FATIHAH  
N011201026

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Farmasi

pada

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**SKRIPSI**

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI *FUCOIDAN MICROGEL PARTICLES*  
MENGUNAKAN VARIASI KONSENTRASI  
*SODIUM ALGINATE***

**ATIQAH LUTHFIYAH FATIHAH**

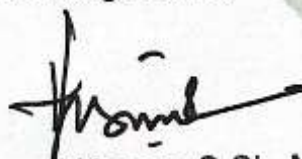
**N011201026**

Skripsi,


telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi  
pada tanggal 4 Juli 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan  
pada

Program Studi Farmasi  
Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin  
Makassar



Mengesahkan:  
Pembimbing utama,

  
Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si.,  
M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860116 201012 2 009

Mengetahui:  
Pembimbing pendamping,

  
Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt.  
NIP. 19610606 198803 2 002

Mengetahui  
Ketua Program Studi,

  
  
Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860116 201012 2 009

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Formulasi dan Karakterisasi *Fucoidan Microgel Particles* Menggunakan Variasi Konsentrasi *Sodium Alginate*" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. dan Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt.). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.



ATIQA H LUTHFIYYAH FATIHAH  
N011201026

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana hingga selesai dan skripsi ini dapat dirampungkan atas bimbingan, diskusi, dan arahan ibu Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. sebagai pembimbing utama dan ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt. sebagai pembimbing pendamping. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada ibu atas bimbingan dan dukungan yang luar biasa dalam menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih telah memberikan ilmu dan waktu ibu yang berharga, serta diberi fasilitas yang memadai untuk pelaksanaan penelitian.

Saya juga menyampaikan terima kasih kepada Adisty, Andiny, Rin, Lisa, dan Alya yang telah menemani dan membantu selama proses penelitian saya. Terima kasih juga kepada kakak-kakak senior yang selalu membantu apabila terdapat kesulitan. Rasa terima kasih juga saya sampaikan kepada seluruh teman-teman KKN, UNO, dan angkatan 2020 atas dukungannya.

Terakhir, saya ingin berterima kasih yang sebesar-besarnya kepada ibu dan ayah, adik-adik saya, serta segenap keluarga yang selalu ada untuk memberikan dukungan moral dan material selama masa kuliah hingga tugas akhir. Terima kasih telah mempercayai saya selama berproses dan tidak menuntut apapun, membuat saya bisa bertahan dan melangkah dengan lebih ringan. Terima kasih banyak atas segala doa dan pengorbanan yang takkan pernah bisa saya gantikan. Terima kasih ibu dan ayah atas kasih sayang dan dukungan tanpa batas.

Penulis,

Atiqah Luthfiyyah Fatimah

## ABSTRAK

ATIQA LUTHFIYAH FATIHAH. **Formulasi dan Karakterisasi *Fucoidan Microgel Particles* Menggunakan Variasi Konsentrasi *Sodium Alginate*** (dibimbing oleh Nurhasni Hasan dan Ermina Pakki).

**Latar Belakang.** Fukoidan adalah polisakarida sulfat yang dapat diformulasikan dalam bentuk mikropartikel berupa *microgel*, yaitu partikel gel berukuran mikro yang bagian intramolekulnya berikatan silang. Namun, fukoidan diketahui memiliki absorpsi yang buruk sehingga perlu dilakukan kombinasi dengan polisakarida seperti natrium alginat untuk meningkatkan bioavailabilitas oral fukoidan dalam formulasi *microgel particles*. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi natrium alginat terhadap karakteristik fisikokimia dan laju pelepasan obat *microgel particles* fukoidan. **Metode.** *Microgel particles* diformulasikan dengan tiga konsentrasi natrium alginat, yaitu F1 (1%), F2 (2%), dan F3 (3%). Uji evaluasi meliputi pengamatan mikroskopik bentuk dan ukuran partikel, analisis FT-IR, uji *drug loading*, uji efisiensi penyerapan, dan uji pelepasan obat. **Hasil.** Semua *microgel particles* yang diperoleh berbentuk sferis, dengan formula F2 menghasilkan ukuran terbesar yaitu 15,20  $\mu\text{m}$ . Hasil analisis FT-IR menunjukkan adanya gugus fungsi penanda dan interaksi ikatan silang pada formula yang dihasilkan. Hasil uji *drug loading* F2 sebesar 0,21 mg fukoidan/mg *microgel particles* yang menunjukkan *drug loading* tertinggi. Hasil uji efisiensi penyerapan diperoleh nilai 92,21% untuk formula F2 yang menunjukkan enkapsulasi obat yang tinggi. Hasil uji pelepasan obat menunjukkan profil pelepasan obat yang terkontrol dan mengikuti model kinetika pelepasan obat Higuchi. **Kesimpulan.** Variasi konsentrasi natrium alginat mempengaruhi karakteristik fisikokimia dan laju pelepasan obat *microgel particles* fukoidan, dengan formula F2 menghasilkan *microgel particles* yang memiliki karakteristik fisikokimia dan laju pelepasan yang paling baik.

Kata kunci: *microgel particles*, fukoidan, natrium alginat, karakteristik fisikokimia, pelepasan obat

## ABSTRACT

ATIQAH LUTHFIYYAH FATIHAH. **Formulation and Characterization of Fucoidan Microgel Particles Using Variations in Sodium Alginate Concentrations** (supervised by Nurhasni Hasan and Ermina Pakki).

**Background.** Fucoidan is a sulfated polysaccharide which can be formulated in the form of microparticles as microgels, which are micro-sized gel particles with intramolecular cross-links. However, fucoidan is known to have poor absorption, so it is necessary to combine it with polysaccharides such as sodium alginate to enhance the oral bioavailability of fucoidan in microgel particles formulations. **Aims.** This research aims to determine the effect of variations in sodium alginate concentration on the physicochemical characteristics and drug release rate of fucoidan microgel particles. **Methods.** Microgel particles were formulated with three sodium alginate concentrations, namely F1 (1%), F2 (2%), and F3 (3%). Evaluation tests included microscopic observation of particle shape and size, FT-IR analysis, drug loading test, entrapment efficiency test, and drug release test. **Results.** All obtained microgel particles were spherical in shape, with the F2 formula producing the largest size of 15,20  $\mu\text{m}$ . The results of FT-IR analysis showed the presence of marker functional groups and cross-linking interactions in the resulting formula. The drug loading test for F2 yielded 0.21 mg fucoidan/mg microgel particles, which showed the highest drug loading. The results of entrapment efficiency test obtained a value of 92.21% for the F2 formula which indicated high drug encapsulation. The drug release test demonstrated a controlled drug release profile that followed the Higuchi drug release kinetics model. **Conclusion.** Variation in sodium alginate concentration affect the physicochemical characteristics and drug release rate of fucoidan microgel particles, with the F2 formula producing microgel particles with the best physicochemical characteristics and drug release rate.

Keywords: microgel particles, fucoidan, sodium alginate, physicochemical characteristics, drug release



## DAFTAR ISI

|   | Halaman |
|---|---------|
| HALAMAN JUDUL .....                                     | i       |
| PERNYATAAN PENGAJUAN.....                               | ii      |
| HALAMAN PENGESAHAN.....                                 | iii     |
| PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....                        | iv      |
| UCAPAN TERIMA KASIH.....                                | v       |
| ABSTRAK .....   | vi      |
| <i>ABSTRACT</i> .....                                   | vii     |
| DAFTAR ISI .....  | viii    |
| DAFTAR TABEL .....                                      | ix      |
| DAFTAR GAMBAR .....                                     | x       |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                                   | xii     |
| BAB I. PENDAHULUAN.....                                 | 1       |
| 1.1 Latar Belakang .....                                | 1       |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                               | 2       |
| 1.3 Tujuan Penelitian.....                              | 2       |
| BAB II. METODE PENELITIAN .....                         | 3       |
| 2.1 Alat dan Bahan.....                                 | 3       |
| 2.2 Metode Penelitian.....                              | 3       |
| 2.2.1 Formulasi <i>Microgel Particles</i> .....         | 3       |
| 2.2.2 Bentuk dan Ukuran <i>Microgel Particles</i> ..... | 4       |
| 2.2.3 Analisis FT-IR.....                               | 4       |
| 2.2.4 Penentuan Kadar Fukoidan .....                    | 4       |
| 2.2.5 Uji <i>Drug Loading</i> .....                     | 5       |
| 2.2.6 Uji Efisiensi Penjerapan .....                    | 5       |
| 2.2.7 Uji Pelepasan Obat .....                          | 5       |
| 2.2.8 Pengumpulan dan Analisis Data .....               | 6       |
| BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN.....                      | 7       |
| 3.1 Bentuk dan Ukuran <i>Microgel Particles</i> .....   | 7       |
| 3.2 Analisis FT-IR.....                                 | 9       |
| 3.3 Uji <i>Drug Loading</i> .....                       | 11      |
| 3.4 Uji Efisiensi Penjerapan .....                      | 12      |
| 3.5 Uji Pelepasan Obat .....                            | 13      |
| BAB IV. PENUTUP .....                                   | 15      |
| 4.1 Kesimpulan .....                                    | 15      |
| 4.2 Saran.....  | 15      |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                    | 16      |
| LAMPIRAN .....  | 20      |

**DAFTAR TABEL**

| Tabel  | Halaman |
|--|---------|
| 1. Komposisi formula <i>microgel particles</i> .....                       | 3       |
| 2. Bentuk dan diameter rata-rata <i>microgel particles</i> .....           | 8       |
| 3. Gugus fungsi penanda hasil analisis FT-IR .....                         | 9       |
| 4. Model kinetika pelepasan obat <i>microgel particles</i> fukoidan .....  | 14      |
| 5. Kurva baku fukoidan.....  | 21      |
| 6. Data hasil uji <i>drug loading</i> .....                                | 27      |
| 7. Data hasil uji efisiensi penjerapan.....                                | 27      |
| 8. Data pelepasan obat sediaan <i>microgel particles</i> fukoidan F1 ..... | 28      |
| 9. Data pelepasan obat sediaan <i>microgel particles</i> fukoidan F2 ..... | 29      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar  | Halaman |
|---|---------|
| 1. Skema membran dialisis untuk uji pelepasan obat.....                 | 6       |
| 2. Bentuk <i>microgel particles</i> pada perbesaran 10x.....            | 7       |
| 3. Bentuk <i>microgel particles</i> pada perbesaran 40x .....           | 7       |
| 4. Struktur fukoidan dan natrium alginat .....                          | 9       |
| 5. Spektra FT-IR.....   | 10      |
| 6. Diagram batang uji <i>drug loading</i> .....                         | 11      |
| 7. Diagram batang uji efisiensi penjerapan .....                        | 12      |
| 8. Profil pelepasan obat F1 dan F2 .....                                | 13      |
| 9. Kurva baku fukoidan.....   | 21      |
| 10. Pengamatan mikroskopik formula F1 perbesaran 10x .....              | 22      |
| 11. Pengamatan mikroskopik formula F1B perbesaran 10x .....             | 22      |
| 12. Pengamatan mikroskopik formula F2 perbesaran 10x .....              | 22      |
| 13. Pengamatan mikroskopik formula F2B perbesaran 10x .....             | 22      |
| 14. Pengamatan mikroskopik formula F3 perbesaran 10x .....              | 23      |
| 15. Pengamatan mikroskopik formula F3B perbesaran 10x .....             | 23      |
| 16. Spektra FT-IR fukoidan .....  | 23      |
| 17. Spektra FT-IR natrium alginat .....                                 | 23      |
| 18. Spektra FT-IR F1.....   | 24      |
| 19. Spektra FT-IR F2.....   | 24      |
| 20. Spektra FT-IR blanko .....  | 24      |
| 21. Model kinetika pelepasan obat Zero-Order formula F1 .....           | 30      |
| 22. Model kinetika pelepasan obat First-Order formula F1 .....          | 30      |
| 23. Model kinetika pelepasan obat Higuchi formula F1 .....              | 30      |
| 24. Model kinetika pelepasan obat Korsmeyer-Peppas formula F1 .....     | 31      |
| 25. Model kinetika pelepasan obat Hixson-Crowell formula F1 .....       | 31      |
| 26. Model kinetika pelepasan obat Zero-Order formula F2 .....           | 32      |
| 27. Model kinetika pelepasan obat First-Order formula F2.....           | 32      |
| 28. Model kinetika pelepasan obat Higuchi formula F2 .....              | 32      |
| 29. Model kinetika pelepasan obat Korsmeyer-Peppas formula F2 .....     | 33      |
| 30. Model kinetika pelepasan obat Hixson-Crowell formula F2 .....       | 33      |
| 31. Proses orientasi <i>microgel particles</i> fukoidan.....            | 36      |
| 32. Proses formulasi <i>microgel particles</i> fukoidan.....            | 36      |
| 33. Proses pengamatan bentuk dan ukuran <i>microgel particles</i> ..... | 36      |
| 34. Proses pembuatan kurva baku.....                                    | 36      |
| 35. Proses uji <i>drug loading</i> .....                                | 36      |
| 36. Proses uji efisiensi penjerapan.....                                | 36      |
| 37. Proses uji pelepasan obat.....                                      | 37      |
| 38. Hasil formulasi setelah <i>freeze drying</i> .....                  | 37      |
| 39. Alat <i>homogenizer</i> .....                                       | 37      |
| 40. Alat <i>vacuum drying</i> .....                                     | 37      |
| 41. Spektrofotometer UV-Vis.....  | 37      |

|  |    |
|--|----|
| 42. Alat mikroskop .....               | 37 |
| 43. Alat sentrifus.....                | 38 |
| 44. Alat <i>thermo shaker</i> .....    | 38 |
| 45. Alat <i>magnetic stirrer</i> ..... | 38 |
| 46. Alat <i>vortex mixer</i> .....     | 38 |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran   | Halaman |
|--|---------|
| 1. Skema kerja penelitian .....  | 20      |
| 2. Komposisi formula <i>microgel particles</i> fukoidan .....            | 21      |
| 3. Kurva baku fukoidan.....  | 21      |
| 4. Hasil pengamatan mikroskopik <i>microgel particles</i> .....          | 22      |
| 5. Spektra hasil analisis FT-IR .....                                    | 23      |
| 6. Perhitungan data .....  | 25      |
| 6.1 Perhitungan data uji <i>drug loading</i> .....                       | 25      |
| 6.2 Perhitungan data uji efisiensi penyerapan .....                      | 25      |
| 6.3 Perhitungan data uji pelepasan obat.....                             | 26      |
| 7. Tabel hasil uji .....   | 27      |
| 7.1 Tabel hasil uji <i>drug loading</i> .....                            | 27      |
| 7.2 Tabel hasil uji efisiensi penyerapan .....                           | 27      |
| 7.3 Tabel hasil uji pelepasan obat.....                                  | 28      |
| 8. Model kinetika pelepasan obat <i>microgel particles</i> fukoidan..... | 30      |
| 8.1 Model kinetika pelepasan obat formula F1 .....                       | 30      |
| 8.2 Model kinetika pelepasan obat formula F2 .....                       | 32      |
| 9. Data hasil analisis statistika .....                                  | 34      |
| 9.1 Hasil analisis statistika uji <i>drug loading</i> .....              | 34      |
| 9.2 Hasil analisis statistika uji efisiensi penyerapan.....              | 34      |
| 9.3 Hasil analisis statistika uji pelepasan obat .....                   | 35      |
| 10. Dokumentasi.....   | 36      |

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit kardiovaskular adalah kategori penyakit yang berkaitan dengan sistem sirkulasi darah, mencakup aterosklerosis, hipertensi, hiperlipidemia, dan trombosis (K. Wang *et al.*, 2018). Di Indonesia, penyakit kardiovaskular masih menjadi penyebab utama 48% kematian akibat penyakit tidak menular (Nurwahyuni *et al.*, 2023). Terjadinya penumpukan plak aterosklerosis pada lumen arteri berujung pada terhambatnya aliran darah, menyebabkan iskemia jaringan dan trombosis. Aterotrombosis seperti pada infark miokardia dan stroke iskemik menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas secara global (Asada *et al.*, 2020).

Obat-obat antitrombotik seperti *unfractionated* heparin (UFH) dan turunannya yaitu *low molecular weight derivative* (LMWH) umumnya menjadi pilihan utama. Penggunaan UFH dibatasi karena membutuhkan monitoring laboratorium yang berkelanjutan dan penyesuaian dosis. Obat LMWH seperti enoxaparin dan deltaparin memiliki lebih banyak kelebihan, namun UFH dan LMWH adalah bioproduk hewani, sehingga masih terdapat risiko transmisi penyakit dan *shock* anafilaktik. Selain itu ditemukan adanya kontaminan, seperti *oversulfated* kondroitin sulfat dan *undersulfated* kondroitin sulfat (dermatan sulfat, heparan sulfat, dan kondroitin sulfat) dalam sediaan yang telah beredar dan dapat mempengaruhi aktivitas antikoagulan (Da Silva *et al.*, 2018). Oleh karena itu, diperlukan pengembangan obat antitrombotik baru dalam penanganan trombosis.

Penemuan senyawa antitrombotik dari organisme laut, dapat dimanfaatkan dalam formulasi obat. Fukoidan adalah fucan tersulfasi yang diisolasi dari matriks alga coklat, terdiri dari L-fucose tersulfasi, serta beragam jumlah xilosa, manosa, galaktosa, glukosa, dan asam uronat yang berbeda tergantung dari spesies alga coklat (Yao & Yim, 2021). Fukoidan dilaporkan memiliki aktivitas antitrombotik yang baik untuk penanganan trombosis vena dan arteri, serta menurunkan risiko hemoragik dibandingkan penggunaan heparin (Zhao *et al.*, 2016). Aktivitas antitrombotik fukoidan terjadi melalui inhibisi trombin yang dimediasi melalui jalur heparin kofaktor-II dan antitrombin-III, selain itu fukoidan juga dapat menekan polimerisasi fibrin (Yao & Yim, 2021).

Penghantaran obat melalui rute oral memiliki kelebihan seperti mudahnya pemberian, kepatuhan pasien yang meningkat, ekonomis, dan menjadi standar untuk manajemen rawat jalan bagi pasien dengan penyakit kardiovaskular (Sleder *et al.*, 2016). Namun, penghantaran fukoidan secara oral memiliki bioavailabilitas yang rendah karena fukoidan memiliki kelarutan yang rendah dalam cairan lambung dan absorpsi yang buruk di usus halus (Haggag *et al.*, 2023). Oleh karena itu fukoidan harus melalui biotransformasi oleh bakteri pada usus besar untuk dapat memberikan efek biologis (Qiu *et al.*, 2022). Penelitian untuk memaksimalkan potensi pembawa (*carrier*) obat berukuran mikro banyak dilakukan karena tempat dan laju pelepasan obat yang dapat terkontrol. Mikropartikel adalah struktur dengan diameter 1 hingga 1000  $\mu\text{m}$  yang tersusun dari zat aktif yang terinkorporasi dalam matriks polimer (Lukova & Katsarov, 2023). Mikropartikel dapat berupa *microgel*, yaitu partikel gel yang intramolekulnya berikatan silang,

membentuk partikel yang terpisah-pisah (*discrete*). Keunggulan *microgel* adalah dispersinya yang homogen dalam suatu media, dapat mengembang, dan bereaksi terhadap stimulus lingkungan seperti pH (Thorne *et al.*, 2011).

Penyebab buruknya absorpsi fukoidan disebabkan muatan negatif gugus ester sulfat pada strukturnya. Oleh karena itu, penambahan senyawa dengan muatan yang berbeda menjadi salah satu strategi untuk meningkatkan bioavailabilitas oral fukoidan (Haggag *et al.*, 2023). Bahan yang dapat digunakan untuk menghantarkan fukoidan adalah polisakarida seperti alginat (Y. Wang *et al.*, 2021). Natrium alginat adalah biopolimer dari rumput laut dan alga yang sifatnya *biocompatible*, *biodegradable*, dan memiliki kapasitas enkapsulasi. *Particle microgel* dapat terbentuk dengan penambahan kation divalen seperti  $\text{Ca}^{2+}$  yang akan membentuk kompleks berupa *egg-box*. Kemampuan membentuk gel ini dapat digunakan untuk enkapsulasi obat, menghasilkan pelepasan yang terkontrol, dan penghantaran obat yang spesifik. Selain itu, alginat menjadi bahan pembawa yang baik karena sifatnya responsif terhadap pH. *Microgel particles* akan mengkerut pada pH rendah, namun mengembang dan melepaskan obat pada pH yang lebih tinggi (Choukaife *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian di atas, maka telah dilakukan formulasi dan karakterisasi *microgel particles* fukoidan sebagai agen antitrombotik dengan berbagai variasi konsentrasi natrium alginat.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka masalah yang dapat dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi natrium alginat terhadap karakteristik fisikokimia *microgel particles* fukoidan?
2. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi natrium alginat terhadap profil pelepasan obat *microgel particles* fukoidan?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini meliputi:

1. Mengetahui bagaimana pengaruh variasi konsentrasi natrium alginat terhadap karakteristik fisikokimia *microgel particles* fukoidan.
2. Mengetahui pengaruh variasi konsentrasi natrium alginat terhadap profil pelepasan obat *microgel particles* fukoidan.

## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex®), *centrifugal machine* (ZENY® 800-1), *freeze dryer*, *homogenizer* (Labo-Hub® FJ200-SH), *magnetic stirrer* (Joanlab®), mikroskop (Sinher®), mikropipet (Joanlab®), spektrofotometer FT-IR (Shimadzu®), spektrofotometer UV-Vis (Jinghua® 754PC), *syringe* 1 mL (26G x ½”), timbangan analitik (Sojilab® HPSJ5001), *thermo shaker* (Allsheng®), *vacuum dryer* (Yixin®), *vortex* (DLab®) *waterbath* (Joanlab®), dan *waterbath sonicator* (DigitalPro+®).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air suling, diklorometana (DCM), fukoidan, kalsium klorida (CaCl<sub>2</sub>), natrium alginat, *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7,4, Span 80, dan Tween 80.

#### 2.2 Metode Penelitian

##### 2.2.1 Formulasi *Microgel Particles*

**Tabel 1.** Komposisi formula *microgel particles*

| Bahan                        | Fungsi                    | Komposisi |     |     |     |     |     |
|------------------------------|---------------------------|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|
|                              |                           | F1        | F1B | F2  | F2B | F3  | F3B |
| <b>Fase Air</b>              |                           |           |     |     |     |     |     |
| Fukoidan (mg)                | Zat Aktif                 | 30        | -   | 60  | -   | 90  | -   |
| Natrium alginat (mg)         | Polimer                   | 100       | 100 | 200 | 200 | 300 | 300 |
| Tween 80 (mg)                | Surfaktan                 | 20        | 20  | 20  | 20  | 20  | 20  |
| Air suling (mL)              | Pelarut                   | 10        | 10  | 10  | 10  | 10  | 10  |
| <b>Fase Organik</b>          |                           |           |     |     |     |     |     |
| Span 80 (mg)                 | Surfaktan                 | 60        | 60  | 60  | 60  | 60  | 60  |
| Diklorometana (mL)           | Pelarut                   | 3         | 3   | 3   | 3   | 3   | 3   |
| <b>Crosslinking Agent</b>    |                           |           |     |     |     |     |     |
| CaCl <sub>2</sub> 0,5 M (mL) | <i>Crosslinking Agent</i> | 3         | 3   | 3   | 3   | 3   | 3   |

*Microgel particles* fukoidan dibuat sesuai dengan formula pada tabel 1. Pada fase air, dilarutkan fukoidan, natrium alginat, dan tween 80 ke dalam 10 mL air suling di gelas piala, campuran diaduk hingga semua bahan larut. Pada fase organik, span 80 dilarutkan ke dalam 3 mL diklorometan. Fase air kemudian dihomogenisasi menggunakan *homogenizer* pada kecepatan 500 rpm selama 30 menit. Pada 10 menit pertama, campuran fase organik diteteskan menggunakan *syringe* 1 mL, kemudian dидiamkan selama 15 menit. Pada 5 menit terakhir, diteteskan 3 mL larutan CaCl<sub>2</sub> 0,5 M menggunakan *syringe*. Emulsi yang diperoleh kemudian ditambahkan 5 mL air suling, pelarut organik lalu diuapkan dengan cara diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada kecepatan 300 rpm selama 1 jam. Setelah itu, dilakukan *vacuum drying* selama 1 jam. Hasil yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam *corning tube* untuk disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, kemudian dipisahkan antara pelet dan supernatan. Pelet kemudian dicuci dengan ditambahkan air suling, lalu di aduk selama



3 menit menggunakan *vortex mixer*, dilanjutkan dengan sonikasi pada *waterbath sonicator* selama 3 menit, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian dibuang, dan proses pencucian diulangi sebanyak 3x. Hasil yang diperoleh disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ , kemudian liofilisasi. *Microgel particles* hasil liofilisasi kemudian disimpan dalam *freezer* hingga pengujian selanjutnya.

### 2.2.2 Bentuk dan Ukuran *Microgel Particles*

Bentuk dan ukuran *microgel particles* diamati menggunakan mikroskop optik dan *software Image J* untuk mengamati bentuk dan menghitung ukuran partikel dengan menggunakan suspensi *microgel particles* (Alvim & Grosso, 2010). Jumlah *microgel particles* yang dihitung pada penentuan ukuran partikel sebanyak 300-500 *microgel particles*.

### 2.2.3 Analisis FT-IR

Analisis dilakukan menggunakan alat spektrofotometer FT-IR dengan membuat pelet KBr untuk preparasi sampel solid. *Microgel particles* dan KBr dicampurkan dengan rasio 1:10. Pelet dicetak kemudian diletakkan pada *sample holder* dan diukur pada bilangan gelombang yang berkisar antara  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$  dengan resolusi  $4 \text{ cm}^{-1}$  (Nurhidayati *et al.*, 2022).

### 2.2.4 Penentuan Kadar Fukoidan

#### 1. Pembuatan larutan stok

Pembuatan larutan stok 1000 ppm dilakukan dengan cara menimbang baku fukoidan sebanyak 10 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, lalu dilarutkan dengan 10 mL PBS pH 7,4 hingga tanda batas. Larutan stok disonikasi hingga diperoleh larutan bening.

#### 2. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum fukoidan dilakukan dengan cara mengukur serapan larutan fukoidan konsentrasi 400 ppm. Pengukuran dilakukan pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

#### 3. Pembuatan kurva baku fukoidan

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan membuat variasi konsentrasi 25, 50, 100, 200, dan 400 ppm dengan larutan PBS pH 7,4. Seri konsentrasi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal. Analisis regresi lalu dilakukan untuk memperoleh kurva baku fukoidan, dimana hubungan antara absorbansi dan konsentrasi ditulis dalam bentuk persamaan garis lurus  $y = a + bx$  (J. M. Kim *et al.*, 2015).

### 2.2.5 Uji Drug Loading

Untuk mengetahui jumlah *drug loading*, 40 mg *microgel particles* dilarutkan dalam 100 mL PBS pH 7,4 menggunakan *magnetic stirrer* dan *waterbath sonicator* untuk memperoleh larutan bening. Larutan kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum. *Drug loading* dapat dihitung dengan membagi jumlah fukoidan yang diperoleh terhadap jumlah *microgel particles*, menggunakan rumus (Bikiaris *et al.*, 2011; Khorshidian *et al.*, 2019):

$$DL = \frac{W_f}{W_{mp}} \quad (1)$$

Keterangan:

DL = *Drug loading* (mg fukoidan/mg *microgel particles*)

$W_f$  = Jumlah aktual fukoidan (mg)

$W_{mp}$  = Jumlah *microgel particles* (mg)

### 2.2.6 Uji Efisiensi Penjerapan

Untuk mengetahui efisiensi penjerapan, 40 mg *microgel particles* dilarutkan dalam 100 mL PBS pH 7,4 menggunakan *magnetic stirrer* dan *waterbath sonicator* untuk memperoleh larutan bening. Larutan kemudian diukur pada panjang gelombang maksimal. Efisiensi penjerapan dapat diketahui dengan membagi jumlah aktual fukoidan yang diperoleh dengan jumlah fukoidan *yield*, menggunakan rumus (Bikiaris *et al.*, 2011; Khorshidian *et al.*, 2019):

$$\% EE = \frac{W_f}{W_0} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan:

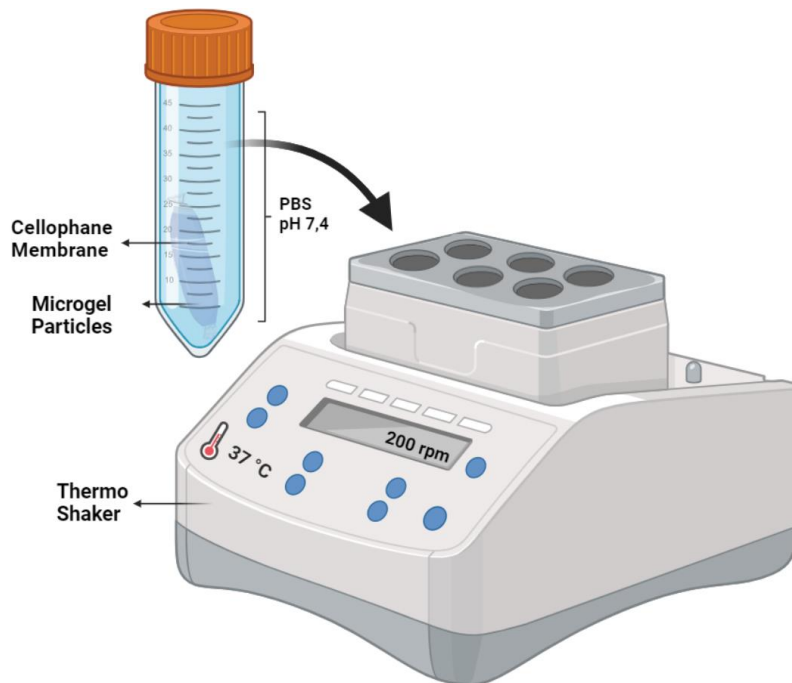
EE = Efisiensi penjerapan (%)

$W_f$  = Jumlah aktual fukoidan (mg)

$W_0$  = Jumlah fukoidan *yield* (mg)

### 2.2.7 Uji Pelepasan Obat

Sebanyak 20 mg *microgel particles* dimasukkan dalam membran *cellophane* dan ditambahkan 1 mL PBS. Membran kemudian dimasukkan ke dalam 49 mL PBS pH 7,4 pada suhu konstan 37°C ke dalam *corning tube*, pengadukan dilakukan dengan kecepatan 200 rpm menggunakan alat *thermo shaker*. Pada tiap interval waktu (0,5, 1, 2, 4, 8, dan 24 jam), dicuplik 1 mL sampel dan digantikan dengan larutan PBS baru dalam jumlah dan suhu yang sama. Kadar fukoidan kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Y. Kim *et al.*, 2021). Hasil uji kemudian dihitung persen kadarnya, lalu dilanjutkan dengan analisis model kinetika pelepasan obat menggunakan *add-ins* DDSolver.



**Gambar 1.** Skema membran dialisis untuk uji pelepasan obat (dibuat menggunakan BioRender.com)

### 2.2.8 Pengumpulan dan Analisis Data

Data hasil yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan dianalisis menggunakan aplikasi IBM SPSS Statistic®. Data yang diperoleh terdistribusi secara normal dan homogen, sehingga dilanjutkan dengan analisis *Independent Sample T-Test*. Hasil analisis data dinyatakan berbeda secara signifikan apabila nilai  $p < 0,05$ .