

BAB III

TATA KERJA

3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex) yang biasa digunakan di laboratorium, *micro pipette* (Thermo scientific, Finn pipette F3), timbangan analitik (Hanherr dan Sartorius), desikator, mortar dan stamper, *magnetic stirrer* (Thermo Scientific), *orbital shaker* (IKA KS 130 basic), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1800), *Scanning Electron Microscope* (SEM) (JSM-6510A, JEOL USA Inc.), dan cawan petri (Pyrex)

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan antara lain Amoksisilin, Akuades, β -siklodekstrin (Merck), *Nutrient Agar* (Oxoid), bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli* (Koleksi Laboratorium Mikrobiologi STFI).

3.3 Metode

3.3.1 Pembuatan Kompleks Inklusi Amoksisilin- β -Siklodekstrin dengan Metode Pencampuran Kneading.

Metode ini berdasarkan penambahan bahan pengompleks dengan sejumlah kecil akuades atau larutan untuk mengubahnya menjadi pasta, sebelum dilakukan penambahan zat aktif. β -Siklodekstrin ditimbang sebanyak 700 mg dan amoksisilin sebanyak 700 mg. β -Siklodekstrin dan akuades dicampurkan kemudian digerus, ditambahkan sedikit demi sedikit amoksisilin dalam mortar hingga didapatkan konsistensi seperti pasta, kemudian diaduk sampai tercampurkan. Campuran kemudian dikeringkan dan disimpan dalam desikator selama 48 jam. (Pramudhita, 2017).

3.3.2 Pembuatan Campuran Fisik Amoksisilin- β -Siklodekstrin.

Metode ini berdasarkan penambahan bahan pengompleks dengan amoksisilin. β -Siklodekstrin ditimbang sebanyak 700 mg dan amoksisilin sebanyak 700 mg. kemudian digerus bersama di dalam mortar hingga tercampurkan dan disimpan dalam desikator selama 48 jam.

3.3.3 Pengujian Kompleks Inklusi Amoksisilin-β-siklodekstrin

A. Karakterisasi Kompleks Inklusi Amoksisilin-Siklodekstrin menggunakan *Scanning Electron Microscopy (SEM)*.

Karakterisasi menggunakan *Scanning Electron Microscopy (SEM)* dilakukan untuk mengamati morfologi pada kompleks inklusi amoksisilin-β-siklodekstrin (Susan, 2017).

B. Karakterisasi Kompleks Inklusi Amoksisilin-β-siklodekstrin menggunakan *Fourir Transform Infrared (FTIR)*

Karakterisasi menggunakan *Fourir Transform Infrared (FTIR)* (Thermo Scientific Nicolet iS5) ditunjukkan untuk mengetahui apakah terdapat gugus fungsi baru yang terbentuk dari interaksi kompleks inklusi amoksisilin-β-siklodekstrin pada panjang gelombang 500-4000 cm^{-1} (Hindrayawati, 2010).

3.3.4 Penetapan Kadar Amoksisilin

Penetapan kadar amoksisilin dalam kompleks inklusi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Serapan dihitung pada panjang gelombang 254 nm. Kadar amoksisilin dihitung dengan persamaan kurva kalibrasi (Patil & Gaikwald, 2009)

Kandungan obat dapat dihitung dengan persamaan 3.1. dan persentase *entrapment efficiency* dapat dihitung dengan persamaan 3.2.

$$\% \text{ kandungan Obat} = \frac{\text{Kadar amoksisilin yang terukur}}{\text{Bobot amoksisilin kompleks inklusi yang ditimbang}} \times 100\% \quad (3.1)$$

(Momoh, dkk., 2014)

$$\% \text{ Entrapment Efficiency} = \frac{\text{Kadar amoksisilin yang terukur}}{\text{Kadar amoksisilin teoritis}} \times 100 \% \quad (3.2)$$

(Momoh, dkk., 2014)

3.3.5 Uji Kelarutan Kompleks Inklusi Amoksisilin- β-Siklodekstrin

Hasil kompleks inklusi amoksisilin-β-siklodekstrin ditimbang sebanyak 500 mg, amoksisilin ditimbang setara dengan kompleks inklusi amoksisilin-β-siklodekstrin, kemudian dimasukkan ke dalam vial yang berisi 250 mL akuades. Larutan diaduk menggunakan *orbital shaker* selama

24 jam pada temperatur 25°C dengan kecepatan 240 rpm. Setelah 24 jam, sampel disaring melalui membran filter 0,45µm kemudian dianalisis oleh spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 254 nm. (Unal, *et al.*, 2010).

3.3.6 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diuji dengan secara *in-vitro* yaitu dengan menggunakan metode difusi agar dengan cara perforasi. Cawan petri yang sudah steril disiapkan. Sebanyak 1 ml suspensi bakteri uji dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian dituangkan dengan 20 mL media *nutrient agar*, lalu dihomogenkan dan dipadatkan. Setelah media padat, dibuat lubang dengan perforator, kemudian lubang diisi dengan 50µL hasil kompleks inklusi amoksisilin-siklodekstrin yang telah dilarutkan dengan akuades. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati aktivitasnya (Pelczar, 2008).