

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium. Metode penelitian ini adalah buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) diekstrak dengan pelarut etanol 96% kemudian dibuat nanopartikel terenkapsulasi kitosan dengan metode gelasi ionik dan ultrasonikasi serta dilakukan karakterisasi nanopartikel meliputi ukuran, distribusi partikel (indeks polidispersitas) dan % transmitan. Formula terbaik nano kitosan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dengan metode ultrasonikasi kemudian dilihat gugus fungsi spesifik (FTIR) dan bentuk morfologinya menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Oktober 2019 – Februari 2020.

2. Tempat Penelitian

- a. Determinasi tanaman dilaksanakan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemik Fakultas Sains dan Matematika Biologi Universitas Diponegoro Semarang.
- b. Pembuatan ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dilakuka di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

- c. Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol buah pariijoto (*Medinilla speciosa* Blume) terenkapsulasi kitosan dilakukan di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
- d. Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol buah pariijoto (*Medinilla speciosa* Blume) terenkapsulasi kitosan dengan teknologi ultrasonikasi dilakukan di Laboratorium Fakultas Teknik Pangan Universitas Katolik Soegijapranata Semarang.
- e. Karakterisasi ukuran dan distribusi partikel (indeks polidispersitas) serta % transmittan dilakukan di Laboratorium Instrumen Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
- f. Karakterisasi formula optimum meliputi gugus fungsi spesifik (FTIR) dan morfologi nanopartikel (SEM) dilakukan di Laboratorium Kimia dan Fisika Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi waktu atau lama pemaparan gelombang ultrasonik dalam pembuatan nanopartikel ekstrak buah pariijoto (*Medinilla speciosa* Blume).

2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah formula terbaik dan karakterisasi nanopartikel yang meliputi ukuran dan distribusi nanopartikel (indeks polidispersitas) % transmittan, gugus fungsi spesifik, dan morfologi nanopartikel.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah jumlah ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yang diberikan variasi waktu dan frekuensi ultrasonikasi.

D. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

- a. Alat untuk pembuatan ekstrak meliputi satu set alat maserasi, kertas saring, alat-alat gelas laboratorium, *rotary evaporator* RE 100-Pro, *waterbath* Memmert, neraca analitik OHAUS.
- b. Alat untuk pembuatan nano ekstrak meliputi *magnetic stirrer* Thermo Scientific Cimarec, satu set alat sentrifugasi PLC Series, alat-alat gelas laboratorium, neraca analitik OHAUS, *ultrasonic homogenizer* UP100H.
- c. Alat untuk karakterisasi nanopartikel meliputi spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV Mini 1240, *Particle Size Analyzer* Malvern, spektrofotometer *Fourier Transform InfraRed* (FTIR) PerkinElmer *Spectrum* 100, dan *Scanning Electron Microscopy* Phenom Pro-X.

2. Bahan

a. Bahan Simplisia

Penelitian ini menggunakan simplisia buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). Buahnya didapatkan di Desa Colo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah.

b. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan antara lain etanol 96%, etanol p.a dari Merck, serbuk kitosan (derajat asetilasi 92%) dari Zhejiang Golden-Shell Pharmaceutical, serbuk NaTPP dari Brataco, asam asetat glasial p.a dari Merck, aquades, aquabidest dari Ikapharmindo Putra Mas.

E. Prosedur Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) didapatkan pada bulan Maret di Desa Colo, Kecamatan Dawen, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Sampel buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dilakukan determinasi tanaman di Laboratorium Ekologi dan Biosistemik Fakultas Sains dan Matematika Biologi Universitas Diponegoro Semarang.

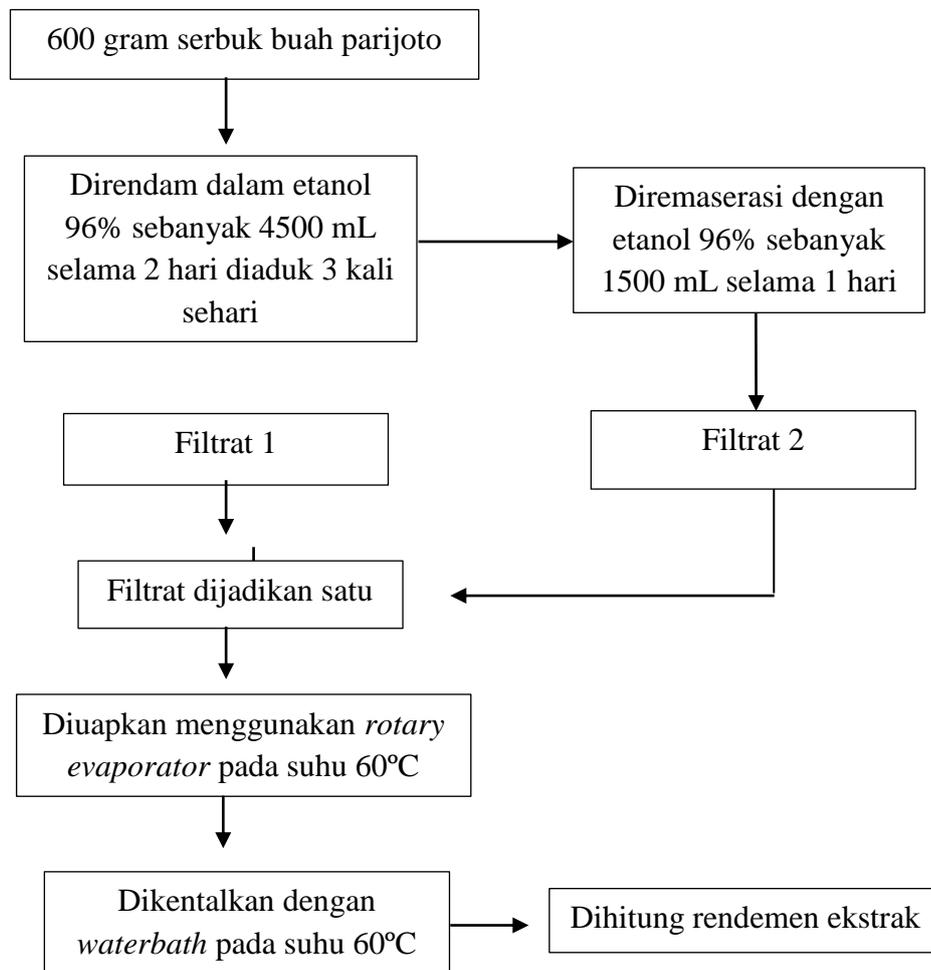
2. Penyiapan Bahan

Buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yang diperoleh selanjutnya dilakukan sortasi untuk memisahkan buah dari rantingnya dan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan uji. Buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yang sudah disortasi selanjutnya dicuci dengan air mengalir, kemudian diangin-anginkan hingga tidak ada sisa air. Buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) kemudian dirajang dan dikeringkan. Buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yang sudah kering kemudian digiling menjadi serbuk halus dan dilakukan ekstraksi.

3. Pembuatan Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

Pembuatan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia buah parijoto sebanyak 600 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% (1:10) sebanyak 6L. maserasi dilakukan selama 2 hari sambil 3 kali sehari. Maserat yang diperoleh dipisahkan menggunakan kertas saring dan dilakukan proses remaserasi dengan pelarut yang sama hingga hasil maserat berwarna bening yang menandakan pelarut yang digunakan sudah tidak bisa menarik senyawa yang terdapat dalam simplisia. Hasil maserat yang diperoleh dikumpulkan kemudian diuapkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (Vifta & Advistasari,2018). Dalam penelitian ini akan digunakan suhu *rotary evaporator* 60 °C. Ekstrak kental yang diperoleh, dihitung hasil rendemennya. Rumus perhitungan rendemen :

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Bobot total ekstrak}}{\text{Bobot total serbuk}} \times 100\%$$



Gambar 3.1. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Parijoto

4. Pembuatan Nano Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

a. Pembuatan Larutan Asam Asetat Glisial 2%

Sebanyak 2 mL asam asetat glisial p.a dimasukkan dalam labu ukur kemudian ditambahkan aquabidest ad 100 mL.

b. Pembuatan Larutan Kitosan

Sebanyak 1 gram kitosan dilarutkan dalam 100 mL asam asetat glisial 2% v/v pH 4, kemudian diaduk dengan *manetic stirrer* hingga konstan larut (Ayumi *et al.*, 2018). Larutan ini menjadi stok kitosan

1% b/v. Pengenceran dilakukan dengan cara menambahkan asam asetat glasial 2% v/v hingga didapatkan konsentrasi kitosan 0.2% b/v.

c. Pembuatan Larutan Natrium Tripolifosfat (NaTPP)

Sebanyak 0.2 gram NaTPP dilarutkan dalam 100 mL aquabidest, kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga larut (Ayumi *et al.*, 2018). Larutan ini menjadi stok NaTPP 0.2% b/v. Pengenceran dilakukan dengan cara menambahkan aquabidest hingga didapatkan konsentrasi NaTPP 0.1% b/v.

d. Pembuatan Nano Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Terenkapsulasi Kitosan.

Pembuatan nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) terenkapsulasi kitosan dilakukan dengan menimbang 100 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam etanol p.a sebanyak 35 mL dicampur dengan 15 mL aquabidest dalam gelas kimia. Ekstrak cair diambil 10 mL kemudian ditambahkan larutan kitosan sebanyak 50 mL dengan konsentrasi 0.2 % b/v. Langkah selanjutnya di *stirrer* dengan kecepatan 400 rpm selama 20 menit. Kemudian secara bertahap ke dalam campuran tersebut ditambahkan larutan NaTPP tetes demi tetes sebanyak 10 mL dengan konsentrasi 0.1 % b/v disertai pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 400 rpm selama 20 menit dengan perbandingan volume kitosan dan NaTPP terbaik 5:1 hingga terbentuk koloid nanopartikel. Koloid nano ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) kemudian dilakukan

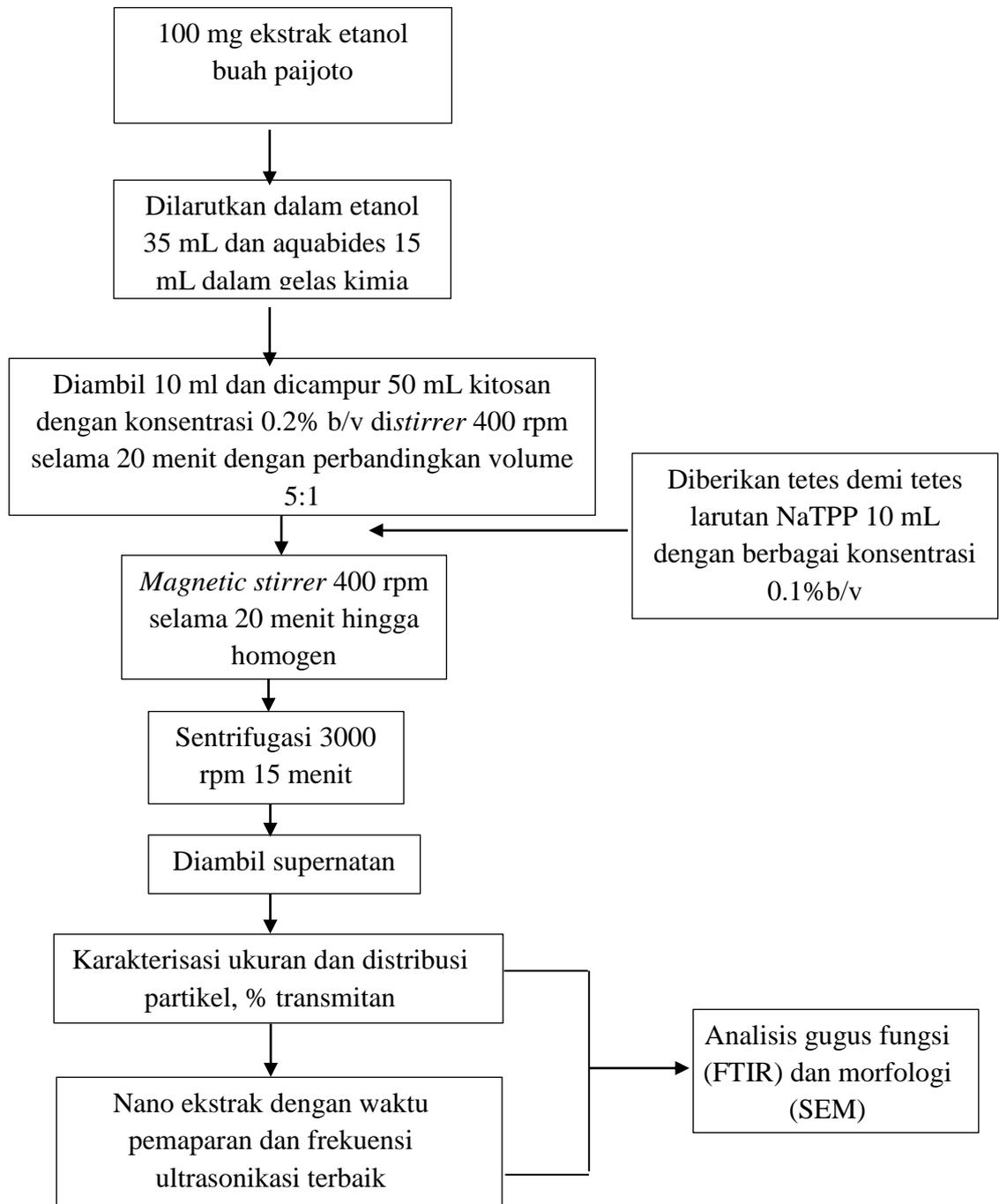
sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh berupa koloid nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume).

- e. Pemecahan Partikel Nano Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Menggunakan Teknologi Ultrasonikasi dengan Variasi Waktu Pemaparan Ultrasonikasi dan Variasi Frekuensi Ultrasonikasi.

Pemecahan partikel nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) menggunakan teknologi ultrasonikasi dengan variasi waktu pemaparan ultrasonikasi dan variasi frekuensi ultrasonikasi dilakukan dengan cara memasukkan cairan nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) terenkapsulasi kitosan ke dalam alat Ultrasonikasi. Kemudian dilakukan perlakuan ultrasonikasi dengan variasi waktu 15 menit, 30 menit, 45 menit, dan 60 menit. Serta dilakukan perlakuan ultrasonikasi dengan variasi frekuensi 45Hz, dan 80Hz. Hasil dari ultrasonikasi kemudian dilakukan karakterisasi ukuran partikel dan distribusi partikel (indeks polidispersitas) serta persen transmittan (Choiri *et al.*, 2016).

Tabel 3.1. Perlakuan Ultrasonikasi dengan Variasi Waktu Dan Variasi Frekuensi Ultrasonikasi

Frekuensi Waktu	45Hz	80Hz
15 menit	15';45Hz	15';80Hz
30 menit	30';45Hz	30';80Hz
45 menit	45';45Hz	45';80Hz
60 menit	60';45Hz	60';80Hz



Gambar 3.2. Skema Pembuatan Nano Ekstrak Buah Parijoto dengan Variasi Waktu dan Variasi Frekuensi Ultrasonikasi

5. Karakterisasi Nano Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

a. Ukuran dan Distribusi Partikel

Penentuan ukuran partikel dan distribusi partikel (indeks polidispersitas) dilakukan menggunakan alat Particle Size Analyzer (PSA) merk Malvern (Choiri *et al.*, 2016). Pada penentuan ukuran partikel, ukuran partikel dinyatakan dalam satuan nm (nanometer) dan indeks polidispersitas menunjukkan distribusi ukuran partikel dimana rentang indeks polidispersitas berada diantara 0 sampai dengan 1. Nilai indeks polidispersitas yang mendekati nol menunjukkan distribusi partikel yang homogen dan seragam sedangkan nilai indeks polidispersitas yang melebihi 0,5 menunjukkan partikel memiliki tingkat heterogenitas yang tinggi.

b. % Transmittan

Sebanyak 100 mL nanopartikel ekstrak buah parijoto ditambahkan aquabidest hingga volume akhir 10 mL (Priani dan Darusman, 2017). Homogenisasi dilakukan dengan bantuan *magnetic stirrer* selama 1 menit. Nanopartikel ekstrak buah parijoto kemudian diukur transmittannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 650 nm (Huda dan Wahyuningsih, 2016). Persen transmittan diukur tiap 5 menit selama 30 menit. % transmittan dinyatakan dalam bentuk persentase.

c. *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Uji *Fourier Transform Infra Red* dilakukan di Laboratorium Kimia dan Fisika, Universitas Negeri Semarang. Sampel ekstrak, NaTPP, dan kitosan sebanyak 2 mg dicampur dengan 100 mg KBr untuk dibuat pelet dengan pencetak vakum. Pelet yang terbentuk dikenai sinar infra merah pada jangkauan bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} (Purwakusumah *et al.*, 2014). Sampel nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yang berbentuk cair diletakkan dalam kuvet yang dilapisi dengan zink selenium dengan jangkauan bilangan gelombang 4000-600 cm^{-1} . Karakterisasi sampel nano ekstrak menggunakan FTIR bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan gugus-gugus yang terdapat pada sampel nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dibandingkan dengan hasil FTIR dari masing-masing bahan (Kitosan, NaTPP, ekstrak etanol). Satuan yang digunakan dalam *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) adalah satuan frekuensi (cm^{-1}).

d. *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Scanning Electron Microscopy dilakukan di Laboratorium Fisika, Universitas Negeri Semarang pada formula terbaik nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) untuk melihat morfologi permukaan dan perkiraan ukuran nano ekstrak dengan perbesaran tertentu. Sampel nano ekstrak buah parijoto dalam bentuk cair diletakkan pada alat pembeku *thermal conducting system holder*

hingga menjadi bentuk kristal kemudian dilakukan *scanning* pada tegangan 15 kv dengan perbesaran 5000 kali. Satuan yang digunakan dalam *Scanning Electron Microscopy* (SEM) ialah μm .

6. Uji Stabilitas *Cycling Test*

Uji stabilitas dilakukan di Laboratorium Teknologi Universitas Ngudi Waluyo pada nanopartikel ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) untuk melihat kestabilannya pada penyimpanan. Uji stabilitas pada penelitian ini menggunakan metode *cycling test*, dilakukan dengan menyimpan sediaan nanopartikel pada suhu $\pm 10^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam kemudian dipindahkan pada suhu $\pm 40^{\circ}$ selama 24 jam (satu siklus).

F. Analisis Data

Penentuan ukuran dan distribusi nanopartikel diamati dengan *Particle Size Analyzer* untuk mengetahui ukuran nano ekstrak dan distribusi partikel atau indeks polidispersitas. Nilai persen transmitan diamati menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Nilai persen transmitan digunakan untuk mengukur kejernihan dari suatu larutan atau sistem dispers. Spektroskopi Infra Merah (FTIR) digunakan untuk mengidentifikasi gugus kompleks dalam sediaan nano ekstrak. *Scanning Electron Microscopy* (SEM) untuk melihat morfologi permukaan dan perkiraan ukuran serbuk nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). Uji stabilitas untuk melihat kestabilan sediaan nanopartikel dalam penyimpanan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.