

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Gambaran Umum Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian dilakukan dari bulan Oktober 2019 sampai bulan Februari 2020. Subjek penelitian yang digunakan adalah Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yang diformulasikan menjadi sediaan nanopartikel terenkapsulasi kitosan dan menggunakan metode ultrasonikasi untuk mengubahnya menjadi sediaan nanopartikel yang memiliki ukuran terkecil.

Penelitian ini dimulai dari melakukan determinasi tanaman di laboratorium Ekologi dan Biosistemik Fakultas Sains dan Matematika Biologi Universitas Diponegoro Semarang, kemudian pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, pembuatan nanopartikel terenkapsulasi kitosan yang dilakukan di laboratorium Universitas Ngudi Waluyo. Selanjutnya dilakukan dengan pemecahan nanopartikel menjadi ukuran terkecil menggunakan metode ultrasonikasi yang dilakukan di Laboratorium Fakultas Teknik Pangan Universitas Katolik Soegijapranata Semarang. Karakterisasi ukuran dan distribusi partikel (indeks polidispersitas) serta % transmitan dilakukan di Laboratorium Instrumen Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo, karakterisasi gugus fungsi spesifik (FTIR) dan morfologi (SEM) formula optimum

nanopartikel dilakukan di Laboratorium Kimia dan Fisika Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.

## **B. Hasil dan Pembahasan**

### **1. Determinasi Tanaman Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)**

Determinasi tanaman adalah proses dalam menentukan nama atau jenis tumbuhan secara spesifik. Determinasi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk membuktikan kebenaran identitas tanaman yang digunakan pada penelitian sehingga kesalahan dalam pengumpulan bahan dapat dihindari (Rustina, 2016). Pada penelitian ini dilakukan determinasi tanaman pada buah parijoto yang yang diperoleh dari 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. Hasil determinasi buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Sunkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Melastomaceae
Genus	: <i>Medinilla</i>
Species	: <i>Medinilla speciosa</i> Blume
Nama Daerah	: Parijoto
Kunci Determinasi:	

1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a- (Gol 10. Tumbuhan daun tunggal berhadapan)-109b-119b-120a-121b-124a-(Famili 95 Melastomaceae)) – (Genus *Medinilla*) – (*Medinilla speciosa*).

Parijoto atau *Medinilla speciosa* Blume merupakan tanaman semak epifit dengan ketinggian 0,45 – 1,2 meter. Merupakan tumbuhan semak *evergreen* (selalu hijau) dengan batang dan cabang berkayu berwarna hijau. Daun berwarna hijau berbentuk lonjong dengan ujung lancip dengan tulang daun melengkung. Buah tersusun dalam malai yang besar dengan masing-masing buah berbentuk bulat kecil. Saat masih muda, buah berwarna pink muda namun semakin memerah keunguan setelah masak.

*Medinilla speciosa* Blume merupakan tanaman perdu yang tumbuh dengan tinggi 1-2 meter dan memiliki batang berbentuk bulat. Daunnya merupakan daun tunggal dengan susunan bersilang berhadapan dan memiliki bunga majemuk. Buah parijoto berbentuk bulat dengan bagian ujung berbenjol bekas pelekatan kelopak, berdiameter 5-8 mm dan berwarna merah keunguan. Biji berbentuk bulat dengan jumlah banyak, kecil, dan berwarna putih. Akar serabut dan berwarna putih kotor (Steenis, 2008; Syamsuhidayat *et al.*, 1991). Pada hasil determinasi yang didapatkan menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah benar buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). Keterangan lebih lanjut dapat dilihat pada Lampiran 2.

## 2. Pembuatan Simplisia Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) segar sebanyak 6 kg dipanen pada masa panen dari Desa Colo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yang diperoleh dilakukan sortasi basah, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penyerbukan. Serbuk buah parijoto yang diperoleh pada penelitian ini seberat 677,3 gram. Hasil pembuatan serbuk buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dapat dilihat pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1. Hasil Pembuatan Serbuk Buah Parijoto**

<b>Bobot Buah Parijoto Segar (gram)</b>	<b>Serbuk Buah Parijoto (gram)</b>	<b>% Rendemen</b>
6000	677,3	11,3%

Sebanyak 6 kg buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) diperoleh dari Desa Colo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah pada bulan Maret. Buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) pada proses pematangannya membutuhkan waktu sekitar tiga bulan untuk menjadikan bunganya yang berwarna merah muda menjadi buah berwarna ungu dan siap untuk dipanen (Ameliawati, 2018). Bahan yang sudah dikumpulkan kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan buah dari tangkai buah dan membuang bagian yang tidak perlu sebelum pencucian. Buah yang sudah disortasi kemudian dicuci untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada buah dengan menggunakan air mengalir. Buah yang sudah dicuci

dilakukan perajangan untuk mempermudah proses pengeringan dan penggilingan.

Pengeringan dilakukan di bawah sinar matahari (Rivai *et al.*, 2014). Tujuan dari pengeringan adalah untuk menghentikan proses enzimatik yang mungkin masih bisa terjadi sehingga dapat mengurangi degradasi zat. Proses pengeringan juga berguna untuk mengurangi kandungan air dari simplisia, sehingga tidak dapat ditumbuhi mikroorganisme atau jamur (Kurnia, 2011). Buah yang sudah kering kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda asing dan pengotor yang masih tertinggal dalam simplisia kering (Rivai *et al.*, 2014). Simplisia kering kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus. Penggilingan ini bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga memperluas kontak permukaan simplisia pada saat dilakukan ekstraksi (Sembiring, 2007). Pada penelitian ini diperoleh rendemen simplisia sebesar 11.3%.

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

Pembuatan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara

teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Pemilihan metode maserasi untuk ekstraksi dikarenakan maserasi merupakan metode yang paling sederhana, mudah dilakukan, dan dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014). Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, selanjutnya karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel, sehingga larutan yang terpekat akan terdesak keluar hingga terjadi kesetimbangan. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk dan diharapkan dengan pengadukan akan terus terjadi perbedaan konsentrasi di dalam dan di luar sel (Damarini, 2011).

Pada penelitian ini, larutan yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol. Etanol digunakan sebagai pelarut dalam penelitian ini dikarenakan etanol merupakan pelarut universal. Etanol yang digunakan ialah etanol 96%. Penggunaan etanol 96% dikarenakan kemampuan etanol 96% dalam metabolit sekunder diketahui lebih baik dibandingkan etanol 70%, dan 80%. Rendemen yang diperoleh pada penggunaan etanol 70% adalah sebesar 22,6%, pada etanol 80% rendemen yang diperoleh sebesar 24,1%, dan pada etanol 96% rendemen yang diperoleh sebesar 37,11% (Senja *et al.*, 2014).

Perbandingan serbuk dan pelarut pada ekstraksi ini adalah 1:10, 600 gram serbuk direndam dengan 6L etanol 96%. Maserasi dilakukan selama 2 hari, remaserasi 1 hari, dan diaduk 3 kali sehari. Selanjutnya untuk memperoleh ekstrak kental, ekstrak cair hasil maserasi diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C untuk menguapkan pelarut. Hasil dari *rotary evaporator* kemudian diuapkan menggunakan waterbath dengan suhu sama pada saat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil dari pembuatan ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel. 4.2. Hasil Pembuatan Ekstrak Buah Parijoto**

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (%)	Karakteristik organolaptis		
			Bentuk	Warna	Bau
600	62,88	10,48	Kental	Coklat	Bau khas

Karakteristik ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yaitu berwarna coklat tua dengan konsistensi kental dan berbau khas. Pada penelitian ini diperoleh rendemen ekstrak buah parijoto sebesar 10,48%. Hasil rendemen tersebut lebih dari 10% sehingga dapat disimpulkan bahwa pelarut yang digunakan dalam ekstraksi ini efektif untuk ekstraksi buah parijoto.

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

Nanopartikel didefinisikan sebagai partikel koloid atau padatan dengan ukuran berkisar 10-1000 nm (Nikam *et al.*, 2014). Pembuatan

nanopartikel pada penelitian ini menggunakan metode gelasi ionik dengan bahan utama pembuatannya ialah kitosan dan Natrium Tripolifosfat (NaTPP). Gelasi ionik adalah pembentukan nanopartikel kitosan berdasarkan interaksi ionik antara gugus amina positif pada kitosan dengan gugus negatif polianion tripolifosfat. Metode ini melibatkan proses sambung silang antara polielektrolit dengan adanya pasangan ion multivalennya. Gelasi ionik diikuti dengan kompleksasi polielektrolit dengan polielektrolit yang berlawanan. Pembentukan ikatan sambung silang ini memperkuat kekuatan mekanis dari partikel yang terbentuk (Park & Yeo, 2007). Kitosan yang merupakan polimer kationik dapat bereaksi dengan anion multivalen seperti tripolifosfat (Mohanraj & Chen, 2006). Penggunaan dari metode gelasi ionik ini selain karena proses yang sederhana, metode ini juga memiliki toksisitas yang rendah dan sedikit kemungkinan mengubah kimia obat yang akan dienkapsulasi (Mohammed *et al.*, 2017).

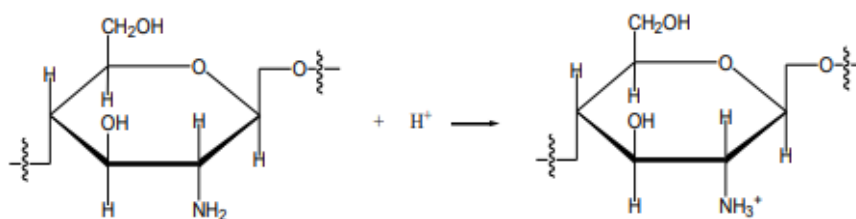
Kitosan merupakan polimer yang banyak digunakan dalam sistem nanopartikel. Hal ini disebabkan karena kitosan memiliki beberapa kemampuan diantaranya dapat membuka kait antar sel (*tight junction*) pada membran usus secara sementara, memiliki muatan positif pada gugus amonium yang dapat mengadakan interaksi ionik dengan asam sialat pada membran intestinal saluran cerna, biokompatibilitas dan biodegradable. Kitosan merupakan polimer yang diperoleh dari hidrolisis polimer kitin yang berasal dari cangkang



hewan laut dan sudah menjadi konsumsi umum, sehingga cenderung tidak menimbulkan ketoksikan pada dosis terapi (Martien *et al.*, 2012). Nanopartikel kitosan yang dibuat dengan gelasi ionik dapat meningkatkan penyerapan usus karena sifatnya yang *bioadhesive* (Agnihotri *et al.*, 2004). Berdasarkan penelitian Dube *et al* (2010) enkapsulasi catekin menggunakan kitosan-NaTPP dengan metode gelasi ionik dapat meningkatkan penyerapan usus secara *in vitro*. Kitosan berfungsi sebagai enkapsulan, dapat memperpanjang durasi aktivitas obat, meningkatkan efisiensi terapi dan mengurangi efek samping obat (Aranaz *et al.*, 2009), sedangkan STPP (*Sodium Tripolyphosphate*) berfungsi sebagai penyambung silang antara ekstrak dengan kitosan, menstabilkan sediaan nanopartikel dan dapat mengendalikan pelepasan obat.

Pengecilan ukuran polimer dengan metode gelasi ionik dapat dilakukan dengan menggunakan alat pengaduk magnetik. Penggunaan pengaduk magnetik dalam pembuatan nanopartikel didasarkan pada teori kinetik molekul yaitu molekul dapat bertumbukan satu dengan lainnya akibat putaran yang disebabkan oleh adanya hubungan antara dua magnet. Semakin besar intensitas kecepatan putaran dari pengaduk magnetik maka tumbukan akan sering terjadi dan partikel semakin kecil. Penyebaran energi juga cenderung lebih merata sehingga ukuran partikelnya cenderung homogen (Suptijah *et al.*, 2011).

Pembuatan nano ekstrak buah parijoto dilakukan dengan terlebih dahulu membuat larutan ekstrak 0.2% b/v, larutan kitosan dan larutan NaTPP. Larutan ekstrak dibuat dengan cara sebanyak 100 mg ekstrak kental dilarutkan dalam 50 ml campuran etanol (35 ml) dan aquabidest (15 ml) sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 0.2% b/v. Pembuatan larutan kitosan dilakukan dengan cara melarutkan serbuk kitosan dalam asam asetat glasial 2% v/v pada pH 4. Kitosan yang dilarutkan pada larutan dengan pH asam (<6.5) bertujuan untuk mengubah gugus amina (-NH<sub>2</sub>) menjadi terionisasi positif (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>). Proses kelarutan kitosan berlangsung melalui reaksi protonisasi. Gugus amin pada kitosan akan menerima H<sup>+</sup> yang dilepas oleh asam asetat sehingga menjadi bermuatan positif (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>). Terbentuknya ion tersebut menyebabkan kitosan menjadi terlarut (Rahayu dan Khabibi, 2016).



**Gambar 4.1. Protonisasi Kitosan (Rahayu dan Khabibi, 2016).**

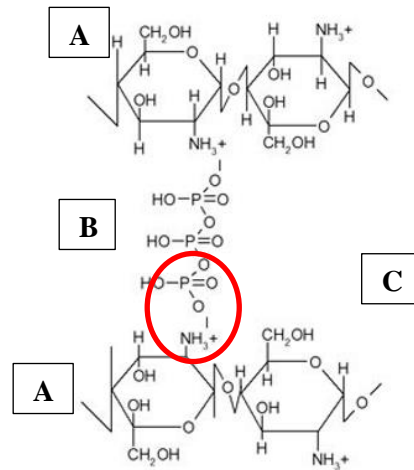
Larutan kitosan kemudian dicampur dengan ekstrak dan dilakukan pengadukan dengan *magnetic* dengan kecepatan 400 rpm selama 20 menit. Gugus pada kitosan yang telah terionisasi positif (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) selanjutnya mampu membentuk interaksi ionik dengan obat

dalam hal ini yaitu ekstrak buah parijoto yang bermuatan negatif. Secara keseluruhan, sistem yang terbentuk cenderung menyisakan gugus amonium bebas yang akan saling tolak menolak sehingga melemahkan kompleks nanopartikel yang telah terbentuk. Oleh karena itu, perlu ditambahkan adanya suatu pengikat silang (*crosslinker*) yang mampu menstabilkan muatan positif yang tersisa. Pengikat silang ini harus berupa polianion, dan salah satu yang banyak digunakan adalah anion tripolifosfat (Bhumkar dan Pokharkar, 2006; Kafshgari *et al.*, 2011).

Natrium tripolifosfat (NaTPP) digunakan sebagai pengikat silang kitosan karena sifatnya yang multivalent dan dapat menghasilkan nanopartikel yang stabil (Yu-shin *et al.*, 2008). Selain itu, NaTPP mempunyai sifat *food grade*, lebih aman dan tidak menimbulkan efek samping (Ningsih *et al.*, 2017).

Larutan NaTPP yang telah dilarutkan dengan aquabidest diteteskan pada larutan ekstrak dan kitosan sambil di *magnetic* dengan kecepatan 400 rpm selama 20 menit. Penambahan NaTPP secara tetes demi tetes dilakukan agar tidak terjadi solidifikasi kitosan-tripolifosfat secara cepat ketika proses reaksi gelasi ionik berlangsung yang dikhawatirkan dapat membentuk butiran kitosan-tripolifosfat menjadi besar. Proses pencampuran larutan kitosan dan tripolifosfat menyebabkan gugus amin pada kitosan yang bermuatan positif ( $\text{NH}_3^+$ ) akan berinteraksi dengan gugus tripolifosfat yang bermuatan negatif

( $\text{H}_3\text{P}_3\text{O}_{10}^{2-}$ ) melalui interaksi ionik membentuk ikatan *crosslink* yang dapat dilihat pada Gambar 5.2.



**Gambar 4.2. (A) Kitosan (B) NaTPP (C) Ikatan *crosslink* (Bhumkar dan Pokharkar, 2006).**

Setelah pembuatan nanopartikel dengan gelasi ionik, kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh berupa koloid nano ekstrak buah pariijoto (*Medinilla speciosa* Blume). Hasil nano ekstrak buah pariijoto kemudian di karakterisasi dengan PSA (*Particle Size Analyser*) untuk melihat ukuran partikel dan nilai indeks polidispersitas (PdI), serta nilai persen transmittan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil karakterisasi nano ekstrak buah pariijoto terenkapsulasi kitosan dapat dilihat pada Tabel 4.3

**Tabel 4.3 Hasil Karakterisasi Nano Ekstrak Buah Pariijoto**

Ukuran Partikel(nm)	PdI	% T
265.9	0.526	99.863

Nanopartikel mempunyai ukuran partikel diantara 10-1000 nm (Nikam *et al.*, 2014). Nanopartikel menunjukkan sifat khasnya pada ukuran diameter di bawah 100 nm, namun batasan ini sulit dicapai untuk sistem nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat karena obat dengan jumlah yang cukup harus terdapat dalam matriks pada tiap butir partikel, sehingga memerlukan ukuran yang relatif besar dibandingkan nanopartikel non-farmasetik (Martien *et al.*, 2012). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian bahwa ukuran nano ekstrak buah parijoto yang terbentuk lebih dari 100 nm.

Nilai indeks polidispersi digunakan untuk memperkirakan rentang distribusi ukuran partikel yang ada dalam suatu sampel serta mengetahui ada tidaknya agregasi (Napsah dan Wahyuningsih, 2014). Semakin kecil nilai indeks polidispersitas maka ukuran partikel semakin homogen. Nilai indeks polidispersi memiliki tiga rentang, yaitu monodispersi (kurang dari 0.3), polidispersi (0.3-0.7), dan superdispersi (lebih dari 0.7). Nilai indeks polidispersi di bawah 0.3 menunjukkan bahwa ukuran partikel mempunyai distribusi yang sempit sedangkan nilai di atas 0.3 menunjukkan distribusi yang lebar (Liana, 2016). Hasil penelitian pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa nilai indeks polidispersitas berada pada rentang 0.3 sampai dengan 0.7 yaitu rata-rata 0.526. Hasil penelitian ini menunjukkan tidak ada hubungan antara besarnya ukuran partikel dengan indeks polidispersi, karena indeks polidispersi menunjukkan homogenitas ukuran partikel. Hasil tersebut sesuai penelitian Ningsih *et al* (2017) dan Mardliyati *et al*

(2012) bahwa tidak ada hubungan antara nilai indeks polidispersi dengan besarnya ukuran partikel, akan tetapi berkaitan dengan homogenitas ukuran partikel yang ditunjukkan dari jumlah puncak hasil pengukuran *particle size analyser*. Namun, ukuran partikel yang diperoleh pada pembentukan nanopartikel dengan gelasi ionik ini masih dirasa cukup besar dan masih bisa untuk dilakukan pengecilan partikel dengan tujuan meningkatkan absorbsi obat, selain itu PDI yang diperoleh juga masih cukup besar, yang menggambarkan ketidakteraturan ukuran partikel. Ukuran partikel yang tidak seragam dapat disebabkan karena kecenderungan partikel untuk beraglomerasi membentuk agregat partikel yang lebih besar. Nilai transmitansi menunjukkan fraksi daya yang dapat diteruskan oleh sampel. Persen transmitansi (%T) digunakan untuk mengukur kejernihan dari larutan atau sistem dispersi. Hasil penelitian pada Tabel. 4.3 menunjukkan bahwa nilai persen transmitansi rata-rata pada formula nano ekstrak yaitu 99.863. Nilai transmitansi yang mendekati 100% menunjukkan dispersi jernih dan transparan (Bali *et al.*, 2010). Sehingga, untuk mendapatkan ukuran partikel dan PDI yang lebih kecil, dilakukan perlakuan lain yaitu ultrasonikasi.

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

Metode sonikasi termasuk jenis top down dalam pembuatan material nano. Gelombang tersebut ditembakkan ke dalam medium cair

sehingga menghasilkan gelembung kavitasi yang dapat menyebabkan partikel memiliki diameter dalam skala nano. Pemberian gelombang ultrasonik pada suatu larutan akan menyebabkan molekul-molekul dalam larutan mengalami regangan dan rapatan. Ketika energi gelombang ultrasonik yang diberikan cukup besar, maka regangan gelombang dapat memecah ikatan molekul antar larutan, dan gas-gas yang terlarut dalam pelarut akan terperangkap akibat molekul larutan yang ikatannya terpecah ketika timbul rapatan kembali. Akibatnya timbul bola-bola berongga atau gelembung-gelembung berisi gas yang terperangkap, yang dikenal dengan efek kavitasi. Gelembung-gelembung ini bisa memiliki diameter yang membesar sehingga ukurannya maksimum, kemudian berkontraksi dan mengecil hingga volumenya berkurang (Mason & Lorimer, 2002).

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 transmitan (Choiri

et al., 2016). Hasil variasi waktu ultrasonikasi dan frekuensi ultrasonikasi dapat dilihat pada Tabel 4.4.

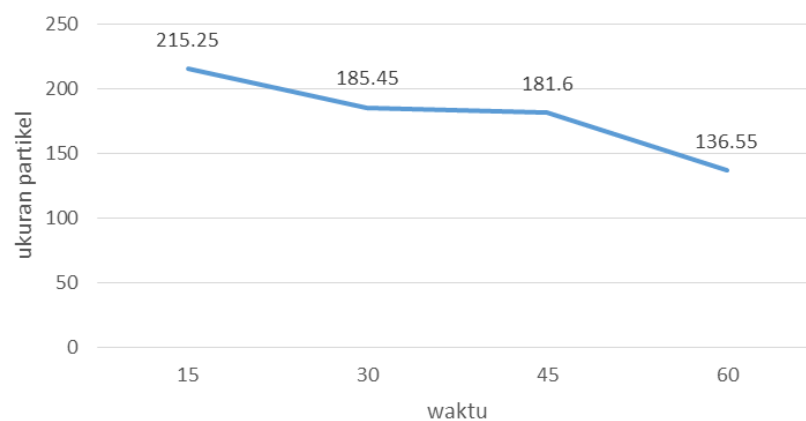
**Tabel 4.4. Hasil Variasi Waktu Pemaparan Ultrasonikasi dan Variasi Frekuensi Ultrasonikasi.**

Sampel	Frekuensi (Hz)	Waktu (Menit)	Ukuran Partikel (nm)	PdI	%Transmitan
1	45	60	135.4	0.324	99.857
2	80	30	154.8	0.356	99.825
3	45	30	201.3	0.468	99.739
4	80	45	155.8	0.443	99.944
5	45	60	137.7	0.310	99.974
6	45	45	191.1	0.251	99.823
7	45	30	169.6	0.401	99.881
8	80	60	210.5	0.537	99.983
9	45	45	172.1	0.407	99.910
10	45	15	221.1	0.472	99.960
11	80	15	176.2	0.416	99.774
12	80	30	152.5	0.303	99.931
13	80	60	253.6	0.511	99.811
14	80	15	191.9	0.402	99.919
15	45	15	209.4	0.445	99.933
16	80	45	147.3	0.378	99.950

Keterangan:

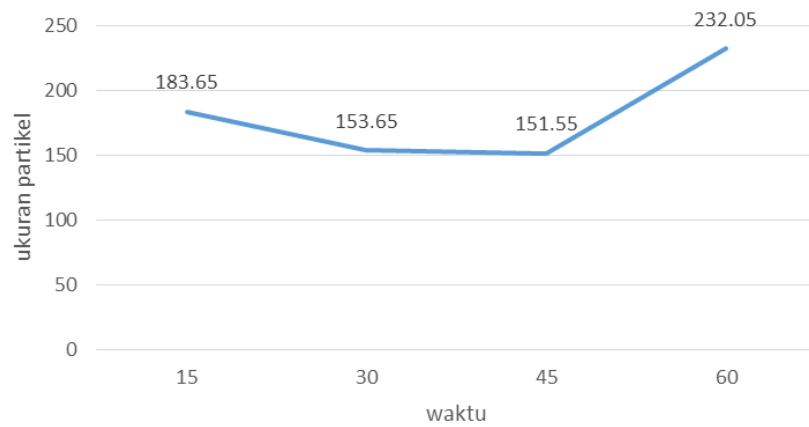
PdI : Polydispersity index

%T : Persen transmitan



**Gambar 4.3 Grafik Rata-Rata Hasil Ultrasonikasi Frekuensi 45 Hz**





**Gambar 4.4 Grafik Rata-Rata Hasil Ultrasonikasi Frekuensi 80 Hz**

Pada grafik dapat dilihat pada perlakuan ultrasonikasi selama 15 menit dengan frekuensi 45 Hz, rata-rata ukuran partikel yang diperoleh sebesar 215.25 nm dan rata-rata PdI sebesar 0.459, ukuran ini lebih kecil dibandingkan dengan nano ekstrak sebelum di ultrasonikasi yaitu ukuran partikel sebesar 265.9 dan PdI sebesar 0.526. Namun, penurunan besar ukuran partikel dan PdI tidak terlalu besar, dikarenakan waktu ultrasonikasi yang singkat. Grafik pada gambar 4.3 menunjukkan hasil ultrasonikasi pada frekuensi 45 Hz terdapat penurunan ukuran partikel pada setiap penambahan waktu ultrasonikasi. Sementara, pada grafik hasil ultrasonikasi pada frekuensi 80 Hz terdapat penurunan ukuran partikel pada waktu ultrasonikasi 15, 30, dan 45 menit, namun selanjutnya terlihat adanya peningkatan ukuran pada menit ke-60. Hal ini disebabkan karena partikel yang memiliki ukuran terlalu kecil akan cenderung mengalami aglomerasi.

Pada penelitian sintesis nanopartikel serat rami dengan metode ultrasonikasi ukuran terkecil berada pada waktu sonikasi 75 menit yaitu 294.68 nm sedangkan ukuran terbesar berada pada waktu sonikasi 150 menit yaitu 608.89 nm (Kurniawan, 2012). Pada penelitian nano ekstrak bawang putih tunggal ukuran terkecil diperoleh pada waktu sonikasi 30 menit yaitu 240.7 nm sedangkan pada waktu sonikasi 60 menit diperoleh ukuran partikel sebesar 355.9 nm (Wahyudi, 2018). Sehingga dapat dikatakan semakin besar energi dan semakin lama energi sonikasi yang diberikan tidak menjamin ukuran partikel menjadi lebih baik. Sehingga sangat diperlukan uji optimal untuk waktu sonikasi untuk mengetahui kemampuan sonikasi dalam mengecilkan ukuran partikel. Kencana (2009) melaporkan bahwa ultrasonikasi kitosan pada frekuensi 20kHz selama 60 menit dapat menghasilkan nanopartikel berukuran 300-600 nm. Ultrasonikasi ampisilin pada frekuensi 20kHz selama 20 menit dapat menghasilkan nanopartikel ampisilin berukuran 200-500 nm (Saha *et al.*, 2010). Selain itu, pada proses ultrasonikasi ketoprofen selama 60 menit diperoleh hasil nanopartikel ketoprofen berukuran di bawah 400 nm (Sugita *et al.*, 2015). Waktu sonikasi pada rentang optimal diketahui akan menghasilkan ukuran partikel yang cenderung lebih homogen dan stabil secara fisika (Delmifina *et al.*, 2013).

Ultrasonikasi digunakan untuk memecah molekul polimer menjadi berukuran lebih kecil dengan energi ultrasonik. Semakin lama waktu ultrasonikasi, proses pemecahan molekul polimer kitosan akan terus

berjalan. Bobot molekul kitosan mengalami penurunan signifikansi antara waktu ultrasonikasi 8 menit dan 60 menit. Penurunan bobot molekul ini menunjukkan polimer kitosan mengalami pemecahan molekul selama proses ultrasonikasi (Kencana, 2009). Selain memperhatikan waktu ultrasonikasi, frekuensi yang diberikan pada saat proses ultrasonikasi juga sangat mempengaruhi dalam pembentukan partikel nano, hal ini dikarenakan besarnya frekuensi akan mempengaruhi besarnya energi yang diberikan pada larutan yang di sonikasi. Besarnya frekuensi akan mempengaruhi besarnya gelembung kavitasi pembentuk partikel nano. Pemaparan yang terlalu singkat menghasilkan ukuran partikel yang masih besar. Namun, pemaparan ultrasonikasi yang terlalu lama akan menyebabkan ukuran terlalu kecil yang nantinya akan cenderung beraglomerasi satu sama lain sehingga pada saat diukur dengan PSA terjadi peningkatan ukuran partikel (Aviana *et al*, 2014). Keadaan ini juga berlaku pada frekuensi sonikasi apabila frekuensi yang diberikan terlalu kecil maupun terlalu besar.

Besar frekuensi juga mempengaruhi dalam karakterisasi nanopartikel. Frekuensi yang besar akan menghasilkan energi yang besar pula. Sehingga kemampuannya dalam memperkecil ukuran partikel akan semakin besar. Namun, keadaan ini juga dapat merugikan seperti semakin lama waktu pemaparan akan menyebabkan terjadinya peningkatan ukuran partikel. Pada penelitian ini diketahui bahwa perlakuan terbaik ialah perlakuan dengan besar frekuensi kecil yaitu 45 Hz. Pada penelitian

pengaruh frekuensi dan waktu pencucian berbantu ultrasonikasi menggunakan isopropanolol terhadap kadar glukomanan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan frekuensi 20kHz dihasilkan kadar GM lebih tinggi dibandingkan dengan frekuensi 40kHz untuk setiap waktu yang sama. Hal ini dikarenakan semakin rendah frekuensi ultrasonik semakin besar gelembung kavitas yang dihasilkan sehingga energi yang dilepaskan ketika gelembung kavitas pecah pun semakin besar (Rahayu *et al.*, 2012).

Berdasarkan hal tersebut, hasil penelitian ini sesuai dengan pustaka-pustaka serta penelitian-penelitian yang pernah dilakukan, dimana hasil terkecil ditemukan pada perlakuan ultrasonikasi selama 60 menit dan besar frekuensi 45 Hz. Ukuran partikel dan PDI yang terbesar dengan persen transmitan terkecil ditemukan pada perlakuan ultrasonikasi selama 60 menit dan besar frekuensi 80Hz. Ukuran tersebut masih lebih kecil dibandingkan nano ekstrak sebelum diultrasonikasi yaitu 265.9 nm. Sehingga, dapat dikatakan bahwa penggunaan ultrasonikasi dalam memperkecil ukuran pada penelitian ini adalah efektif.

## **6. Penentuan Formula Optimal**

### **a. Formula Optimal**

Formula optimal pada pembuatan nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) menggunakan metode ultrasonikasi diperoleh hasil dari *design expert*. Respon yang dimasukkan pada *design expert* merupakan respon yang dapat digunakan sebagai penentu

nanopartikel yang paling optimal. Respon tersebut diantaranya ialah ukuran partikel, PDI, dan persen transmitan. Pemberian nilai dan bobot pada respon tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.5

**Tabel 4.5 Pemberian Nilai dan Bobot Respon**

Respon	Goal	Importance
Ukuran Partikel	<i>Minimize</i>	+++++
PdI	<i>Minimize</i>	++++
% Transmitan	<i>Maximize</i>	+++

Dari masukan data yang dimasukkan pada *design expert*, akan diperoleh hasil formula optimal berdasarkan *design expert*. Hasil formula optimal berdasarkan *design expert* dapat dilihat pada Tabel 4.6

**Tabel 4.6 Hasil Formula Optimal Berdasarkan Design Expert**

Number	Frekuensi	Waktu	PdI	% T	Ukuran Partikel	Desirability
1	45	60	0.315	99.888	132.575	0.813

*Software Design expert* digunakan untuk optimasi formula pada berbagai jumlah komposisi bahan yang berbeda. Metode ini akan mengoptimasi sesuai data variable dan data pengukuran respon yang dimasukkan. Keluaran dari tahap optimasi adalah rekomendasi beberapa formula baru yang optimal menurut program. Optimasi dilakukan dengan menentukan batasan (*goal*) kriteria respon yang dikehendaki dengan kemungkinan *range* yang memungkinkan untuk dicapai. Formula yang paling optimal adalah formula dengan nilai

*desirability* maksimum. Nilai *desirability* merupakan nilai fungsi untuk tujuan optimasi yang menunjukkan kemampuan program untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir. Nilai *desirability* yang semakin mendekati nilai 0,1 menunjukkan kemampuan program untuk menghasilkan produk yang dikehendaki semakin sempurna. (Rhamadhani *et al.*, 2017).

Pada penelitian ini diperoleh nilai *desirability* sebesar 0.813. Hasil ini diperoleh setelah dilakukan input data, dimana pada nilai *importance* ukuran partikel diberi nilai *importance* 5, PdI diberi nilai *importance* 4, dan persen transmittan diberi nilai *importance* 4. Nilai tersebut didasarkan pada tingkat kepentingan karakteristik, dimana ukuran partikel merupakan hal yang paling penting untuk diperhatikan dalam membuat sediaan nanopartikel, selanjutnya PdI dan persen transmittan. Nilai *desirability* 0.813 yang diperoleh pada penelitian ini mendekati nilai 1, sehingga dapat disimpulkan bahwa kemampuan program untuk menghasilkan produk yang dikehendaki baik. Berdasarkan tingkat *importance* yang diberikan pada karakteristik nanopartikel, untuk menentukan formula optimal didasarkan pada besarnya ukuran partikel, selanjutnya dilihat pada besarnya indeks polidispersitas, dan pada nilai persen transmittan. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa formula terbaik yang diperoleh pada penelitian ini yaitu ultrasonikasi dengan waktu pemaparan 60 menit dan besar

frekuensi 45Hz dengan hasil ukuran partikel terkecil yaitu 135.4 nm, indeks polidispersitas 0.324 dan nilai transmittan 99.788%.

b. Uji Konfirmasi Formula Optimal

Uji konfirmasi formula optimal pada pembuatan nano ekstrak buah pari-joto (*Medinilla speciosa* Blume) menggunakan *T-test*. Uji konfirmasi ini dilakukan pada formula optimal yang diperoleh pada saat penelitian dan formula optimal berdasarkan *design expert*. Hasil uji *T-test* dapat dilihat pada Tabel 4.7

**Tabel 4.7 Hasil Uji *T-test* Formula Optimal Penelitian dan *Design Expert***

Perlakuan	<i>p-value</i>	Keterangan
Ukuran Partikel	0.054	Tidak Berbeda Signifikan
PdI	0.861	Tidak Berbeda Signifikan
% Transmittan	0.964	Tidak Berbeda Signifikan

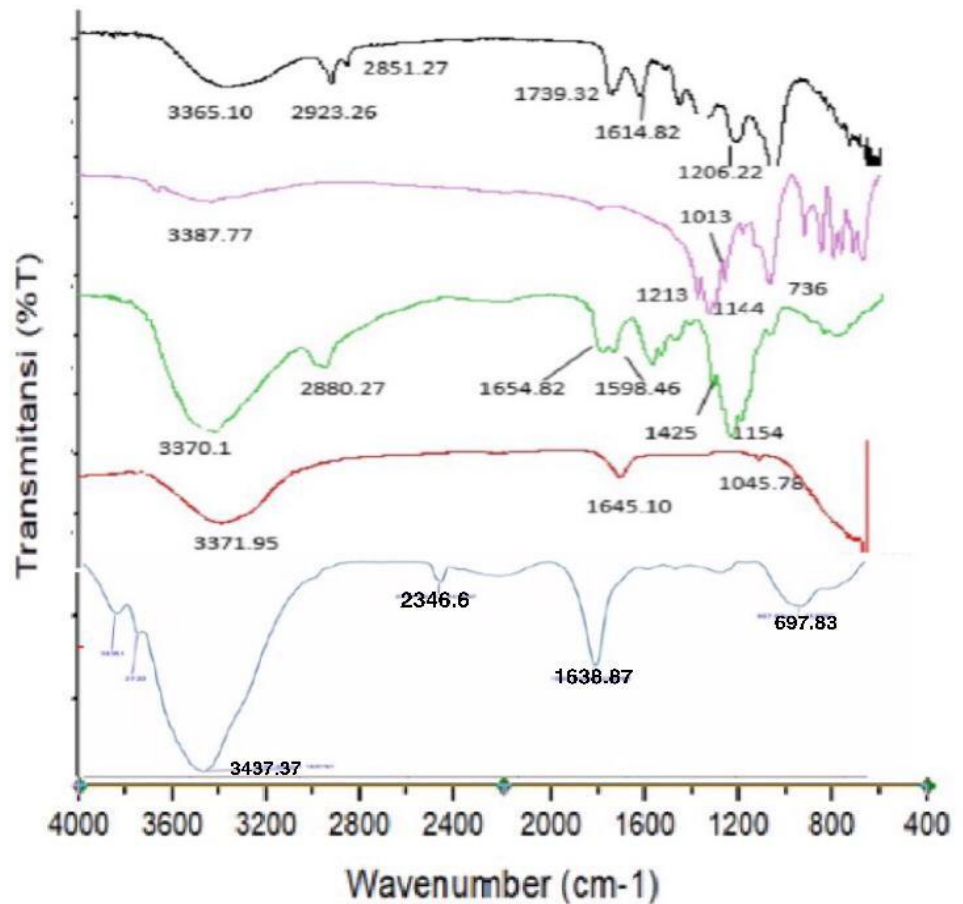
Pada Uji konfirmasi ukuran partikel menunjukkan bahwa formula optimum hasil penelitian tidak berbeda signifikan, dengan nilai *p-value* sebesar  $0.054 > (0.05)$ . Uji konfirmasi pada PdI menunjukkan bahwa formula optimum hasil penelitian tidak berbeda signifikan, dengan nilai *p-value* sebesar  $0.861 > (0.05)$ . Dan uji konfirmasi % transmittan menunjukkan bahwa formula optimum hasil penelitian tidak berbeda signifikan, dengan nilai *p-value* sebesar  $0.964 > (0.05)$ . Pada penelitian ini perlakuan ultrasonikasi dengan frekuensi 45 Hz selama 60 menit memperoleh

karakteristik yang mendekati formula terbaik yang diperoleh oleh *design expert*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa formula terbaik yaitu pada ultrasonikasi dengan waktu pemaparan 60 menit dan besar frekuensi 45Hz dengan hasil ukuran partikel 135.4 nm, indeks polidispersitas 0.324 dan nilai transmitan 99.788%.

#### **7. Karakterisasi Gugus Fungsi Nanopartikel Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)**

Penentuan keberadaan ekstrak dalam kitosan sangat diperlukan untuk mengetahui kemampuan penyalutan. Salah satu metode yang digunakan adalah *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). Prinsip kerja FTIR berdasarkan pada serapan atau transmitan sinar infra merah oleh molekul penyusun suatu senyawa pada sampel. Apabila frekuensi dari suatu vibrasi gugus fungsi sama dengan frekuensi radiasi sinar infra merah maka molekul akan menyerap sinar tersebut. Hal ini menyebabkan tidak semua sinar infra merah diserap oleh molekul, sebagian lainnya diteruskan (Kencana, 2009). Data yang diperoleh berupa grafik serapan dan transmitan dari sampel. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menentukan keberadaan ekstrak adalah *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). FTIR yang digunakan pada penelitian ini menggunakan bilangan gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  untuk sampel ekstrak, NaTPP, dan kitosan serta bilangan gelombang 4000-600  $\text{cm}^{-1}$  untuk sampel nano ekstrak buah parijoto. Hasil FTIR dapat dilihat pada Gambar 4.5





**Gambar 4.5 Grafik Hasil FTIR Ekstrak Etanol Buah Parijoto (hitam), Kitosan (hijau), NaTPP (ungu) dan Nano Ekstrak Buah Parijoto (merah) Nanopartikel Sonikasi(Biru)**

Gugus fungsi spesifik ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) menunjukkan adanya serapan-serapan pada bilangan gelombang yang merupakan karakter senyawa flavonoid yaitu adanya gugus (OH), gugus ulur C-H, gugus C=O pada cincin fenol, gugus C-O pada cincin heterosiklik (Vifta dan Advistasari, 2018). Gugus fungsi spesifik yang terdapat pada kitosan adalah gugus amida (NH<sub>2</sub>) dan hidroksil (-OH)

(Bhumkhar dan Pokharkar, 2006). Gugus Fungsi yang khas dari NaTPP adalah gugus P=O, PO<sub>2</sub>, gugus PO<sub>3</sub> dan gugus P-O-P (Thomaz *et al.*, 2018). Bilangan gelombang gugus fungsi spesifik ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume), kitosan, NaTPP, sampel nano ekstrak buah parijoto, dan sampel nanopartikel dengan perlakuan ultrasonikasi dapat dilihat pada Tabel 4.9.

**Tabel 4.9 Bilangan Gelombang Gugus Fungsi Spesifik Ekstrak Etanol Buah Parijoto, Kitosan, NaTPP, Nano Ekstrak, dan Nanopartikel Sonikasi**

Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )						
Gugus Fungsi	Ekstrak Buah Parijoto	Kitosan	NaTPP	Nano Ekstrak Enkapsulasi Kitosan	Nanopartikel dengan Ultrasonikasi	Literatur
OH	3365	3370	3387	3371	3437	3700-3100
C-H <ul style="list-style-type: none">ulur</ul>	2923	2880	-	-	-	3000-2700
C=O	1739	-	-	-	-	1900-1550
C-O	1206	1154	-	-	-	1300-1000
N-H	-	1654 1598	-	1645	1638	1660-1500
C-C	-	1425	-	-	-	1500-1430
P=O	-	-	1213	-	-	1210-1140
PO <sub>2</sub>	-	-	1144	-	-	1210-1140
PO <sub>3</sub>	-	-	1013	1045	-	1088-920
P-O-P	-	-	736	-	-	845-725
C-H	684	-	-	-	697	675-870

*Sumber literatur: Coulthup et al., 1975; Pavia et al., 2008*

Spektrofotometer *Infra Red* ekstrak etanol buah parijoto

(*Medinilla speciosa* Reinw. ex Blume) menunjukkan adanya serapan-

serapan pada bilangan gelombang yang merupakan karakter senyawa flavonoid. Serapan lemah pada daerah  $3365\text{ cm}^{-1}$  merupakan vibrasi –OH dari gugus hidroksil. Adanya serapan pada daerah  $2923\text{ cm}^{-1}$  merupakan vibrasi ulur C-H, serapan pada daerah  $1739\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi C=O pada cincin fenol, serapan daerah  $1206, 1046\text{ cm}^{-1}$  merupakan serapan C-O pada cincin heterosiklik (Vifta dan Advistasari, 2018).

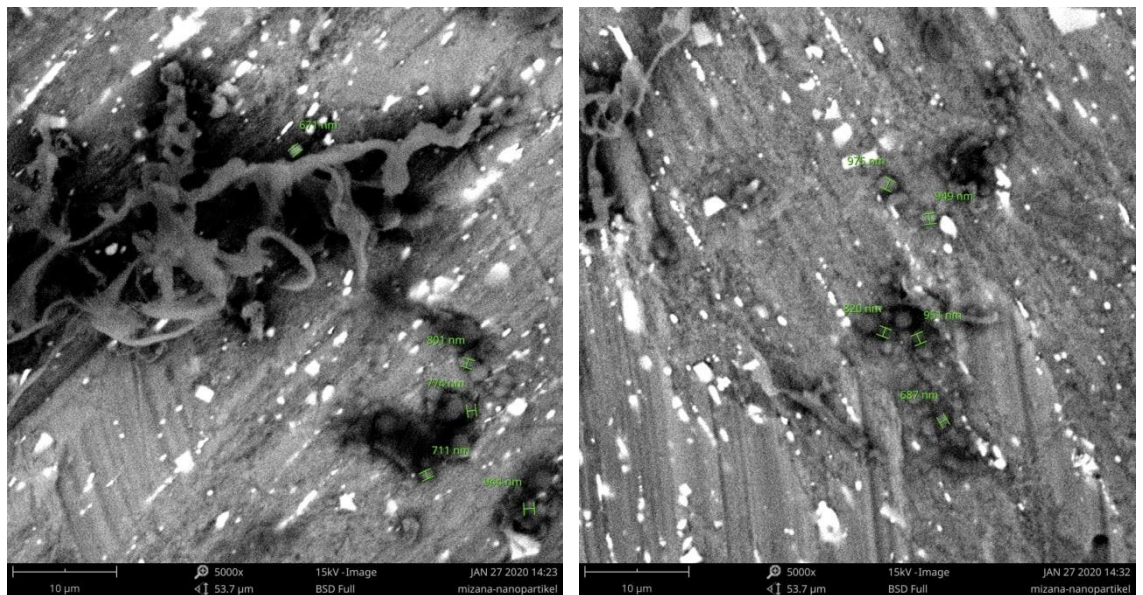
Gugus fungsi spesifik yang terdapat pada kitosan adalah gugus amina ( $\text{NH}_2$ ) dan hidroksil (-OH) (Bhumkhar dan Pokharkar, 2006). Spektrum FTIR kitosan menunjukkan adanya gugus fungsi spesifik pada bilangan gelombang  $3365\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan gugus fungsi ulur OH, pada bilangan gelombang  $2880\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus fungsi C-H, bilangan gelombang  $1654\text{ cm}^{-1}$  dan  $1598\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya serapan kembar gugus fungsi N-H. Serapan pada bilangan gelombang  $1097\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan serapan khas gugus C-O (Lusiana dan Pranotoningtyas, 2018). Gugus Fungsi yang khas dari NaTPP adalah gugus P=O pada bilangan gelombang  $1213\text{ cm}^{-1}$ , gugus  $\text{PO}_2$  pada bilangan gelombang  $1144\text{ cm}^{-1}$ , gugus  $\text{PO}_3$  pada bilangan gelombang  $1013\text{ cm}^{-1}$  dan gugus P-O-P pada bilangan gelombang  $736\text{ cm}^{-1}$  (Thomaz *et al.*, 2018). Selain itu terdapat serapan pada bilangan gelombang  $3387\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus (-OH).

Grafik transmitan hasil FTIR pada nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara

kitosan, NaTPP dan nano ekstrak buah parijoto yang ditandai dengan bergesernya bilangan gelombang pada gugus (-OH) dari 3370  $\text{cm}^{-1}$  (kitosan), 3387  $\text{cm}^{-1}$  (NaTPP) dan 3365  $\text{cm}^{-1}$  (ekstrak etanol buah parijoto) menjadi 3371 pada nano ekstrak buah parijoto dan menjadi 3437 pada nanopartikel dengan perlakuan ultrasonikasi (Putri *et al.*, 2018). Selanjutnya, pada serapan N-H juga mengalami pergeseran bilangan gelombang dari serapan kembar 1654  $\text{cm}^{-1}$  dan 1598  $\text{cm}^{-1}$  (kitosan) menjadi 1645  $\text{cm}^{-1}$  pada nano ekstrak buah parijoto dan menjadi 1638 pada nanopartikel dengan perlakuan ultrasonikasi. Pergeseran ini menunjukkan deformasi gugus N-H menjadi satu puncak karena terjadi proses taut silang (Lusiana dan Pranotoningtyas, 2018). Adanya peregangan gugus  $\text{PO}_3$  pada bilangan gelombang 1045  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan pembentukan ikatan silang antara gugus amino dari kitosan dengan gugus anionik pada NaTPP (Thomaz *et al.*, 2018). Perubahan frekuensi serapan gugus fungsi dipengaruhi akibat adanya reaksi tertentu sehingga kekuatan ikatan akan berubah (Kurniawati, 2014). Beberapa gugus yang hilang diantaranya adalah gugus C-H ulur, C-O, C=O, C-C, P=O,  $\text{PO}_2$ , P-O-P. Pada perlakuan ultrasonikasi gugus yang hilang ialah P-O-P, hal ini disebabkan karena lemahnya ikatan yang dimiliki oleh gugus P-O-P. Namun, terjadi peningkatan yang sangat besar terhadap gugus OH dan NH setelah dilakukan perlakuan ultrasonikasi.

## 8. Karakterisasi Morfologi Nanopartikel Buah Parijoto

Karakterisasi fisik partikel dilakukan dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) yang digunakan untuk mengamati morfologi dan menentukan ukuran partikel. Metode ini merupakan cara efisien untuk memperoleh gambar permukaan spesimen. Data yang diperoleh dari SEM berupa foto dua dimensi yang menampilkan permukaan spesimen dan ukuran partikel. Hasil morfologi nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) berbentuk bulat yang merupakan karakterisasi morfologi nanopartikel terenkapsulasi kitosan.



**Gambar 4.6 Hasil *Scanning Electron Microscopy* Nano Ekstrak Buah Parijoto dengan Perbesaran 5000x**

*Scanning Electron Microscopy* (SEM) digunakan untuk mengamati morfologi dan menentukan ukuran nanopartikel. Prinsip kerja SEM adalah deteksi elektron yang dihamburkan oleh suatu sampel padatan ketika ditembak oleh berkas elektron berenergi tinggi

secara kontinu yang dipercepat di dalam *electromagnetic coil* yang dihubungkan dengan *cathode ray tube* (CRT) sehingga dihasilkan suatu informasi mengenai keadaan permukaan suatu sampel senyawa (Siregar, 2009). Analisis SEM dilakukan pada perbesaran 5000 kali.

Morfologi nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) berdasarkan foto SEM memiliki bentuk bulat dan tidak seragam sesuai dengan penelitian Ningsih *et al* (2017) yang menyatakan nanopartikel ekstrak kulit buah manggis memiliki bentuk bulat, mengalami pengkerutan dan tidak seragam. Berdasarkan penelitian Rachmania (2011) menyatakan bahwa nanopartikel kitosan yang diperoleh dengan menggunakan *magnetic stirrer* menghasilkan penyebaran energi cenderung merata sehingga dalam waktu tertentu distribusi ukuran partikel dapat lebih homogen dan memiliki morfologi berbentuk bulat. Pengukuran partikel menggunakan SEM diperoleh partikel dengan ukuran berkisar antara 100-1000 nm. Hasil pengukuran SEM tersebut sesuai dengan grafik rentang ukuran partikel yang diperoleh dari pengukuran menggunakan *particle size analyser* yaitu berada pada rentang 100-1000 nm. Hasil pengukuran partikel menggunakan SEM mempunyai ukuran partikel yang lebih besar dibandingkan dengan PSA. Hal ini sesuai dengan penelitian Dahlan (2012) yang menyatakan bahwa pengukuran ukuran partikel menggunakan SEM diperoleh hasil lebih besar yaitu 0.6  $\mu\text{m}$  sedangkan pengukuran menggunakan PSA diperoleh hasil 427.90 nm.

## 9. *Cycling Test*

*Cycling test* merupakan uji stabilitas pada penelitian ini. *Cycling test* bertujuan untuk mengetahui kestabilan sediaan terhadap stress suhu yang bervariasi. Hasil uji *cycling test* yang dilakukan sebanyak 5 siklus dimana setiap siklus perlakuan yang diberikan ialah suhu 10°C selama 24 jam dan 40°C selama 24 jam. Berdasarkan uji *cycling test* pada formulasi optimal didapatkan hasil karakterisasi pada Tabel 4.10

**Tabel 4.10 Hasil Karakterisasi Sebelum dan Sesudah *Cycling Test***

Karakterisasi	Sebelum	Sesudah
Ukuran Partikel	135.4	169
PdI	0.324	0,417
% Transmitan	99.788	99.686

Untuk menentukan adanya perbedaan antara sebelum dan sesudah *cycling test*, dilakukan uji T pada data hasil karakterisasi sebelum dan sesudah *cycling test*. Hasil uji T dapat dilihat pada Tabel 4.11

**Tabel 4.11 Hasil Uji T *Cycling Test***

Perlakuan	<i>p-value</i>	Keterangan
Ukuran Partikel	0.006	Berbeda Signifikan
PdI	0.003	Berbeda Signifikan
% Transmitan	0.128	Tidak Berbeda Signifikan

Hasil uji T pada *cycling test*, menunjukkan bahwa sebelum dan sesudah dilakukan *cycling test*, ukuran partikel berbeda signifikan, dengan nilai *p-value* sebesar  $0.006 < (0.05)$ . Hasil yang berbeda signifikan ini dapat terjadi dikarenakan adanya pengaruh suhu saat perlakuan *cycling test*

yang dapat mempengaruhi ukuran partikel. Uji T pada PDI menunjukkan bahwa sebelum dan sesudah dilakukan *cycling test*, berbeda signifikan, dengan nilai *p-value* sebesar  $0.003 < (0.05)$ . Dan uji T % transmitan menunjukkan bahwa sebelum dan sesudah dilakukan *cycling test*, tidak berbeda signifikan, dengan nilai *p-value* sebesar  $0.128 > (0.05)$ .

Hasil *cycling test* pada penelitian ini menunjukkan adanya perubahan pada karakterisasi nano ekstrak buah pari-joto pada saat sebelum dan sesudah *cycling test*. Ukuran partikel menjadi lebih besar, nilai PDI meningkat, dan % transmitan mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa adanya perlakuan suhu dapat mempengaruhi ukuran partikel dan PDI. Ketidakstabilan ini juga disebabkan karena bentuk sediaan yang cair, diketahui bahwa sediaan nanopartikel dalam bentuk cair memiliki stabilitas yang rendah (Abdelwahid, 2006). Stabilitas rendah pada sediaan nanopartikel cair disebabkan karena adanya gerak brown yang dapat mempengaruhi partikel nano. Gerak brown sendiri ialah gerakan terus menerus dari suatu partikel zat cair yang menyebabkan partikel-partikel di dalam zat cair terus bergerak. Selain adanya pengaruh gravitasi menyebabkan partikel terus menerus bergerak ke bawah. Keadaan ini menyebabkan partikel dalam sediaan nanopartikel cair akan menempel satu sama lain karena partikel yang sejenis cenderung akan tarik menarik, sehingga akan mempengaruhi ukuran partikel pada sediaan nanopartikel. Hal inilah yang menyebabkan adanya perubahan ukuran partikel dan PDI menjadi lebih besar dibandingkan sebelum dilakukan *cycling test*. Keadaan



rendahnya stabilitas tersebut dapat diatasi dengan mengubah bentuk sediaan nanopartikel yang cair menjadi bentuk serbuk yang dapat dilakukan dengan teknologi *freeze dry*. Peningkatan ukuran partikel setelah dilakukan *cycling test* menunjukkan bahwa ukuran partikel tersebut masih di dalam rentang yang baik yaitu 169 nm, dengan nilai PDI yang masuk dalam rentang polidispersi, dan nilai persen transmitan masih mendekati nilai 100%.

### **C. Keterbatasan Penelitian**

Keterbatasan dari penelitian ini ialah sulitnya menemukan ukuran partikel yang konstan pada formulasi yang sama. Hal ini dibuktikan dengan banyaknya variasi ukuran dan PDI yang didapatkan dari PSA. Selain itu, sulitnya mempertahankan suhu optimal pada alat ultrasonikasi menyebabkan alat akan otomatis berhenti beroperasi pada saat suhu meningkat, sehingga suhu alat perlu diturunkan sebelum alat dioperasikan kembali.