

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian eksperimental laboratorium. Metode penelitian ini adalah buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dilakukan ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% dan dibuat nanopartikel terenkapsulasi kitosan dengan metode gelasi ionik dan dilakukan karakterisasi nanopartikel meliputi ukuran dan distribusi partikel (indeks polidispersitas) serta % transmitan. Formula terbaik nanopartikel ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) terenkapsulasi kitosan kemudian dilihat bentuk morfologinya menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Oktober 2019 – Februari 2020

2. Tempat Penelitian

- a. Pembuatan ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dilakukan di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi waluyo.

- b. Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dilakukan di Laboratoium Fitokimia Program Studi Farmasi Univeristas Ngudi Waluyo.
- c. Variasi lama pengadukan dan kecepatan pengadukan dilakukan di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
- d. Karakterisasi ukuran dan distribusi partikel (indeks polidispersitas) serta % transmitan dilakukan di Laboratorium Instrumen Program Studi Farmasi Univeristas Ngudi Waluyo.
- e. Karakterisasi formula optimum meliputi morfologi nanopartikel (SEM) dilakukan di Laboratorium Kimia dan Fisika Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.
- f. Determinasi tanaman dilakukan di Fakultas MIPA Laboratorium Biologi Universitas Diponegoro Semarang.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah penyampuran Kitosan-NaTPP dengan teknik kecepatan pengadukan dan lama pengadukan dalam pembuatan nanopartikel ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa*).

2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pengaruh kecepatan pengadukan dan lama pengadukan terhadap karakterisasi nanopartikel

yang meliputi ukuran dan distribusi nanopartikel (indeks polidispersitas) % transmittan dan morfologi nanopartikel.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah jumlah ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang ditambahkan serta kecepatan dan lama pengadukan menggunakan *magnetic stirrer*.

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.
- c. Alat untuk karakterisasi nanopartikel meliputi spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV Mini 1240, *Particle Size Analyzer* Malvern, spektrofotometer dan *Scanning Electron Microscopy* Phenom Pro-X.

2. Bahan

- a. Bahan Simplisia

Penelitian ini menggunakan bahan buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang 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. Posedur Penelitian

1. Determinasi Tanaman

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

2. Penyiapan Bahan

Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) 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*) yang sudah disortasi selanjutnya dicuci dengan air mengalir, kemudian diangin-anginkan hingga tidak ada sisa air. Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) kemudian dirajang dan dikeringkan serta ditutupi kain hitam. Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang sudah kering kemudian digiling menjadi serbuk halus dan dilakukan ekstraksi.

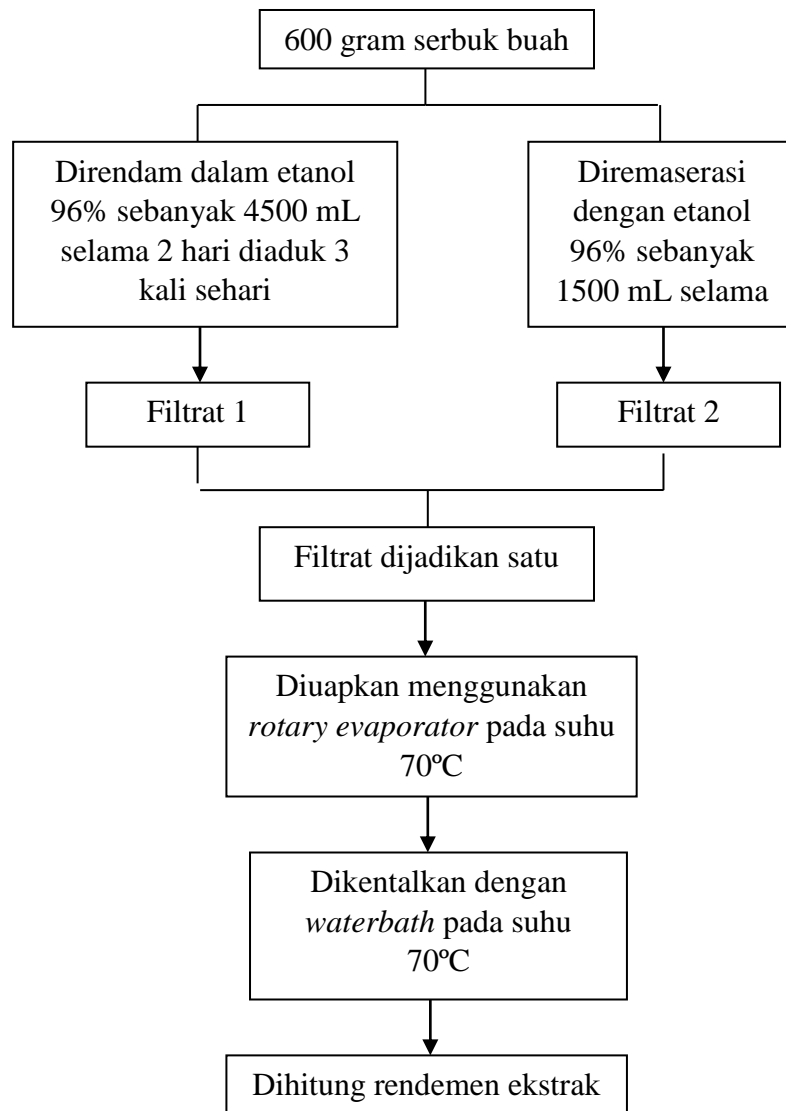
3. Pembuatan Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)

Pembuatan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia buah parijoto sebanyak 600 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% (1:10) sebanyak 6 L. Maserasi dilakukan selama 2 hari sambil diaduk 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* dengan suhu 70° C hingga diperoleh ekstrak etanol buah parijoto kental.

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 Nanopartikel Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)

a. Pembuatan Larutan Asam Asetat Glasial 2% v/v

Sebanyak 2 mL asam asetat glasial p.a dimasukkan dalam labu ukur kemudian ditambahkan aquabidest ad 100 mL. fungsi dari asam asetat yaitu sebagai pelarut.

b. Pembuatan Larutan Kitosan

Sebanyak 1 gram kitosan dilarutkan dalam 100 mL asam asetat glasial 2% v/v pH 4, kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 30 menit hingga kitosan 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% yang paling optimal.

c. Pembuatan Larutan Natrium Tripolifosfat (NaTPP)

Sebanyak 0,2 gram NaTPP dilarutkan dalam 100 mL aquabides, kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 30 menit hingga larut (Ayumi *et al.*, 2018). Larutan ini menjadi stok NaTPP 0.2% b/v. Pengenceran dilakukan dengan cara menambahkan aquabides hingga didapatkan konsentrasi NaTPP 0.1% b/v.

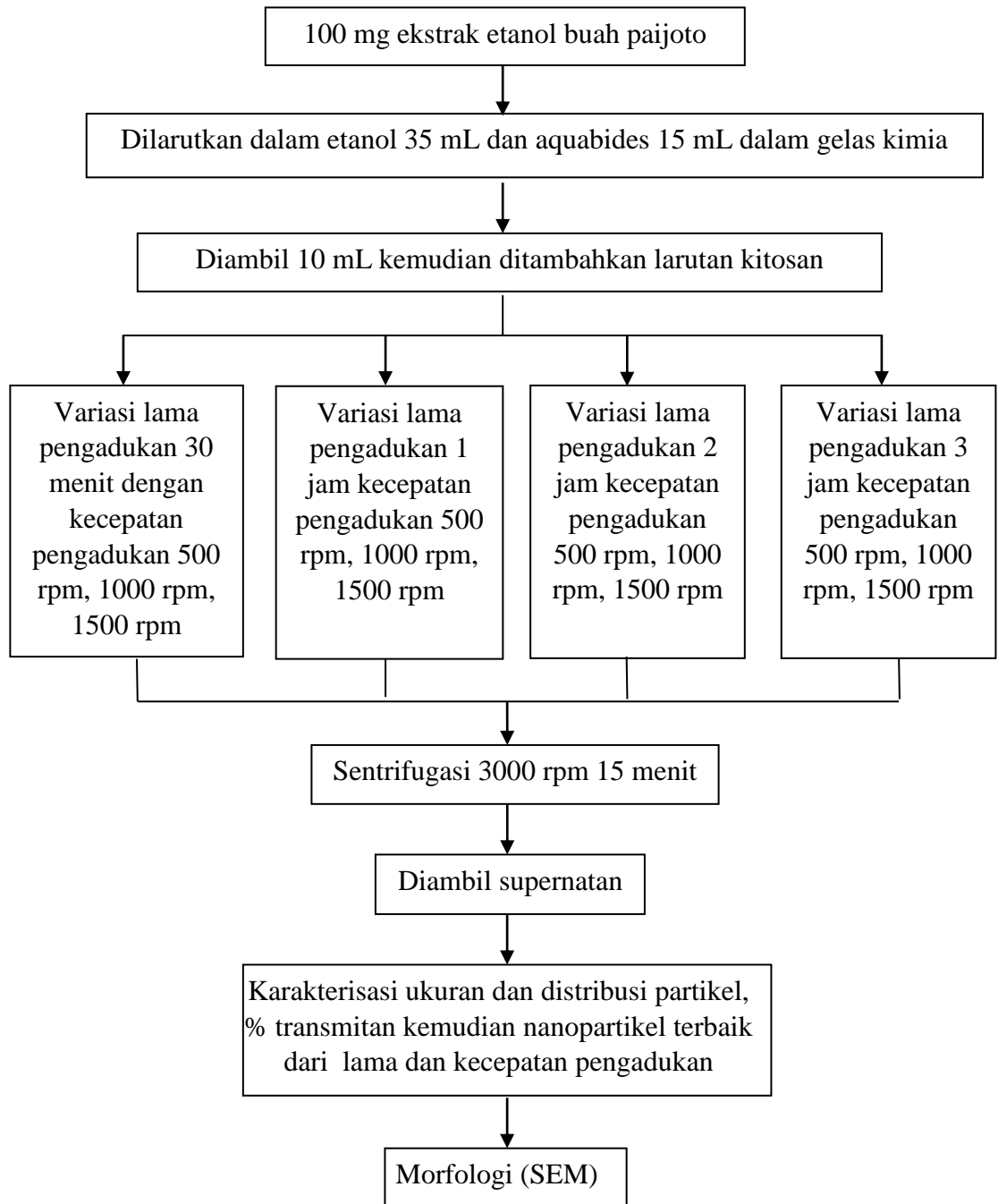
d. Pembuatan Nano Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*) dengan Variasi Kecepatan Pengadukan dan Lama Pengadukan Kitosan-NaTPP

Pembuatan nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dengan variasi kecepatan dan lama pengadukan dilakukan dengan menimbang 100 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam etanol p.a sebanyak 35 mL dicampur dengan 15 mL aquabides dalam gelas kimia. Ekstrak cair diambil 10 mL kemudian ditambahkan larutan

kitosan sebanyak 50 mL. Langkah selanjutnya *distirrer* dengan kecepatan 500 rpm dengan lama pengadukan 30 menit, 1 jam, 2 jam, 3 jam. Kecepatan kedua dengan kecepatan variasi kecepatan 1000 rpm dengan lama pengadukannya 30 menit, 1 jam, 2 jam, 3 jam. Kecepatan ketiga dengan kecepatan variasi kecepatan 1500 rpm dengan lama pengadukannya 30 menit, 1 jam, 2 jam, 3 jam. Kemudian secara bertahap ke dalam campuran tersebut ditambahkan larutan NaTPP tetes demi tetes sebanyak 10 mL disertai pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 500 rpm selama 1 jam, 2 jam, 3 jam. Kecepatan yang kedua 1000 rpm selama 30 menit, 1 jam, 2 jam, 3 jam. Kecepatan ketiga 1500 rpm selama 30 menit, 1 jam, 2 jam, 3 jam hingga terbentuk koloid nanopartikel. Koloid nano ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa*) kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh berupa koloid nano ekstrak etanol buah parijoto (*Medinilla speciosa*) kemudian dilakukan karakterisasi ukuran partikel dan distribusi partikel (indeks polidispersitas) serta persen transmitan (Choiri *et al.*, 2016). Selanjutnya analisis morfologi (SEM).

Tabel 3.1. Rancangan Optimasi Lama dan Kecepatan Pengadukan

Lama Pengadukan	Kecepatan Pengadukan		
	500 rpm	1000 rpm	1500 rpm
30 menit	30 : 500 (F1)	30 : 1000 (F2)	30 : 1500 (F3)
1 jam	1 : 500 (F4)	1 : 1000 (F5)	1 : 1500 (F6)
2 jam	2 : 500 (F7)	2 : 100 (F8)	2 : 1500 (F9)
3 jam	3 : 500 (F10)	3 : 1000 (F11)	3 : 1500 (F12)



Gambar 3.2. Skema Alur penelitian

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

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). Dengan cara cairan hasil variasi dimasukkan kedalam kuvet sampai garis kuvet, selanjutnya dimasukkan ke dalam alat dan disambungkan kekomputer.

b. % Transmitan

Sebanyak 100 μL nanopartikel ekstrak buah parijoto ditambahkan aquabides hingga volume akhir 10 mL (Priani dan Darusman, 2017). Homogenisasi dilakukan dengan bantuan *magnetic stirrer* selama 1 menit. Nanopartikel ekstrak buah parijoto kemudian diukur transmitannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 650 nm (Huda dan Wahyuningsih, 2016). Persen transmitan diukur tiap 5 menit selama 30 menit.

c. *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Scanning Electron Microscopy dilakukan di Laboratorium Fisika, Universitas Negeri Semarang pada formula terbaik nano ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) 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 4000 kali.

F. Cycling test

Uji *cycling test* bertujuan untuk simulasi adanya perubahan suhu setiap tahun bahkan setiap harinya. Pengujian *cycling test* bertujuan untuk mengetahui kestabilan sediaan terhadap suhu yang bervariasi. Hasil uji *cycling test* yang dilakukan sebanyak 5 siklus, formula tetap stabil ditandai dengan tidak adanya perubahan warna, pengendapan dan pengkristalan. Hal ini menunjukkan bahwa formula yang dibuat memiliki kestabilan fisik yang baik saat disimpan di suhu yang berbeda sangat jauh yaitu 10°C dan 40°C masing-masing selama 24jam (Ananda *et al.* 2014)

G. Analisa Data

Data ukuran dan distribusi nanopartikel dianalisis dengan *Particle Size Analyzer* untuk mengetahui ukuran nano ekstrak dan distribusi partikel atau indeks polidispersitas. Nilai persen transmittan dianalisis menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Nilai persen transmittan digunakan untuk mengukur kejernihan dari suatu larutan atau sistem dispers. Analisis data optimasi pada penelitian ini menggunakan *software Design Expert Dx 11*. Analisis datanya dilakukan dengan uji *t-test*. Uji *t-test* merupakan uji yang digunakan untuk mengkaji kebenaran atau kepaluan hipotesis nihil yang menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara dua buah sampel. *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

untuk menganalisis morfologi permukaan dan perkiraan ukuran serbuk nano ekstrak buah pajioto (*Medinilla speciosa*).