

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini seperti aquabides, Ekstrak *Pueraria mirifica* (PT. Brataco), kalsium klorida (Merck, Jerman), natrium alginat (Sigma-Aldrich).

3.1.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini seperti aerator (Kandila KD-999), *Particle Size Analyzer* (Horiba Scientific, *Nano Particle Analyzer SZ-100*), pipet tetes, pipet volume, *Scanning Electron Microscope* (SEM Hitachi su3500), seperangkat alat gelas (Pyrex), spatula, spuit, *syringe pump* (SPLab02 Shenchen, China), timbangan analitik (Ohaus Pioneer PA214, China), *Transmission Electron Microscope* (JEM 1400 JEOL) dan *ultrasonic homogenizer probes* (Model 150VT Biologics, USA).

3.2 Cara Kerja

3.2.1 Skema Kerja penelitian

Proses kerja pada penelitian ini dimulai dari pembuatan natrium alginat 0,1%, kalsium klorida 0,02%, pembuatan nanopartikel ekstrak *Pueraria mirifica* terjerap kalsium alginat menggunakan teknik kombinasi aerasi dengan ultrasonikasi sampai karakterisasi nanopartikel menggunakan PSA, SEM, TEM, melakukan uji stabilitas dan dilakukan evaluasi distribusi partikel dan analisis statistika. Skema kerja pada penelitian ini sebagai berikut :

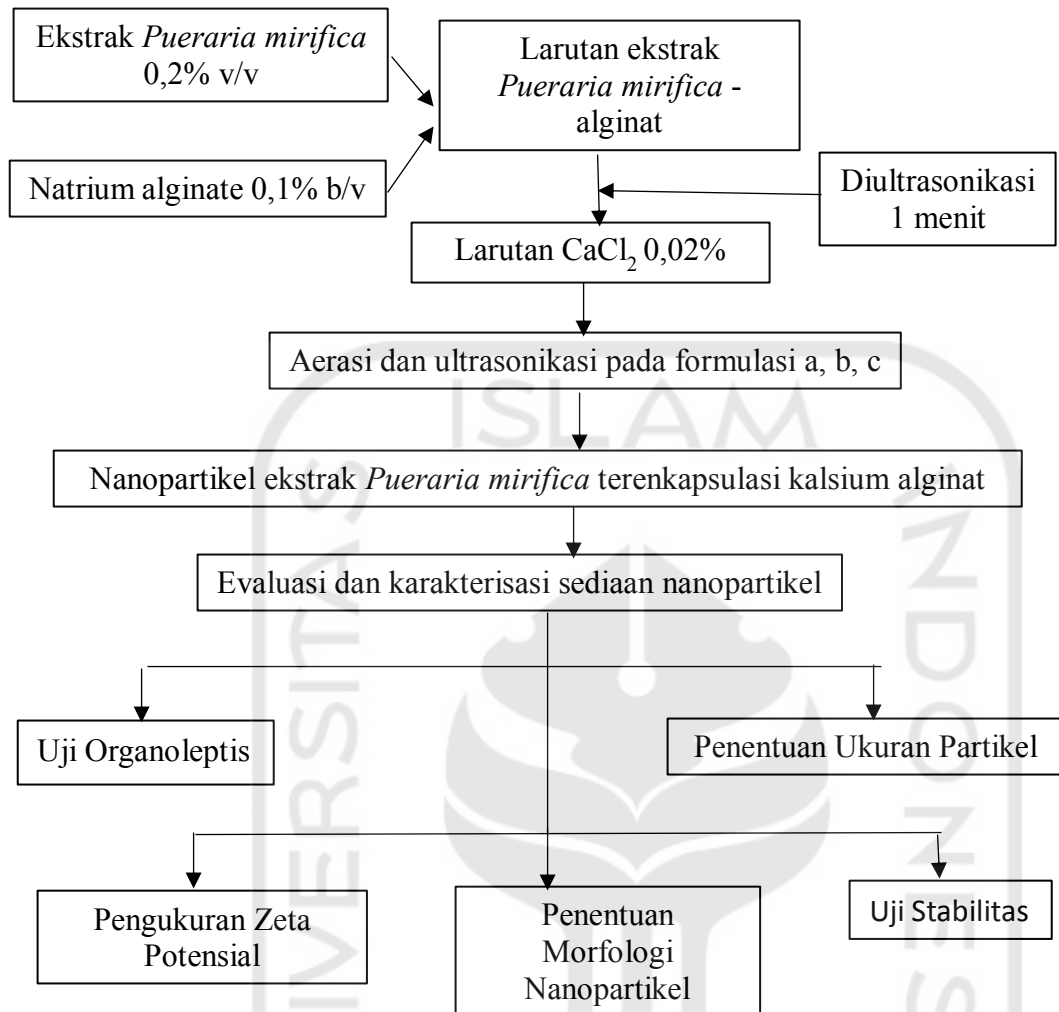
3.2.2 Prosedur Kerja

3.2.2.1 Pembuatan larutan natrium alginat 0,1% b/v

Sebanyak 0,1 g natrium alginat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam labu ukur 100 ml dengan akuades dan dihomogenkan (Rahayu, 2016)

3.2.2.2 Pembuatan larutan CaCl_2 0,02% b/v

Sebanyak 0,02 g CaCl_2 ditimbang, kemudian dilarutkan dalam labu ukur 100 ml dengan akuades (Mandal et al., 2010).



Gambar 3.2 Skema kerja penelitian

Tabel 3.1 Formula nanopartikel ekstrak *Pueraria mirifica* terjerap kalsium alginat dengan teknik kombinasi Aerasi dan ultrasonikasi (Multi, 2018)

Formulasi	Waktu	Konsentrasi		
		Ekstrak <i>P.mirifica</i>	Natrium alginat	CaCl ₂
a	2 menit	0,2%	0,1%	0,02%
b	4 menit	0,2%	0,1%	0,02%
c	6 menit	0,2%	0,1%	0,02%

3.2.2.3 Pembuatan sediaan ekstrak *Pueraria mirifica* terjerap kalsium alginat

Dilartukan ekstrak *Pueraria mirifica* 0,2% dengan natrium alginat 0,1% dalam labu ukur 100 mL yang kemudian di ultrasonikasi selama 1 menit. Kemudian diambil sebanyak 6 mL

dimasukkan ke dalam spuit yang telah dipasang pada *syringe pump*. Disiapkan 4 mL CaCl_2 dalam botol vial. Secara bersamaan diultrasonikasi pada amplitudo 40% dan diaerasi dengan tekanan $>0,02$ mpa selama 2, 4, dan 6 menit secara drop by drop (Mandal et al., 2010; Putri and Atun, 2017; Rahayu, 2016).

3.2.3 Evaluasi dan Karakterisasi

3.2.3.1 Uji Organoleptis

Pada penelitian ini uji organoleptis yang dilakukan oleh responden sebanyak 20 orang seperti pengamatan terhadap warna (kejernihan), bau, dan bentuk sediaan nanopartikel yang dihasilkan (Rahayu, 2016).

3.2.3.2 Penentuan Ukuran Partikel

Particle size analyzer (PSA) yang digunakan untuk menentukan ukuran partikel. Diambil 3ml larutan sediaan dimasukkan ke dalam kuvet. Kemudian dianalisis sebanyak 3 kali tiap formula (Bhatia, 2016; Rahayu, 2016).

3.2.3.3 Pengukuran Zeta Potensial

Dilarutkan 1 ml sampel kemudian dimasukkan ke dalam kuvet, selanjutnya diukur zeta potensial menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) sebanyak 3 kali tiap formula (Bhatia, 2016; Rahayu, 2016).

3.2.3.4 Penentuan Morfologi Nanopartikel

Transmission Electron Microscope (TEM) digunakan untuk melihat bentuk morfologi dari nanopartikel. Ditetaskan larutan sampel suspensi nanopartikel pada *grid* tembaga, setelah meresap dan kering selanjutnya dilapisi dengan karbon, kemudian dianalisis menggunakan dan TEM (*JEM* 1400, *JEOL*) (Mardiyati, 2012).

3.2.3.5 Uji Stabilitas

Disiapkan sediaan yang sudah berbentuk nanopartikel. Sediaan disimpan pada suhu di bawah 4°C selama 24 jam. Setelah itu sediaan disimpan di atas suhu 40°C selama 24 jam. Dilakukan uji tersebut sampai siklus ke 6. Kemudian dilakukan pengukuran partikel dan zeta potensial dengan menggunakan PSA pada siklus ke 0, 3, dan 6. Dialakukan evaluasi distribusi partikel (Restu et al., 2015).

3.3 Analisis Hasil

Hasil data yang didapatkan berupa ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial dari masing-masing formula, kemudian dianalisis menggunakan distribusi partikel dan MANOVA untuk mengetahui perbedaan bermakna dari variasi waktu nanopartikel gelas ionik ekstrak *Pueraria mirifica*.

