

## **Sintesa Nanopartikel Senyawa Bioaktif Daun Pegagan (*Centella asiatica*) dan Uji Pengaruh Pemanasan dan Tekanan Terhadap Diameter dan Indeks Polidispersitasnya**

*Nanoparticle Synthesis of Bioactive Compounds of Centella Asiatica Leaves and Effect of Heating and Pressure on the Its Diameter and Polydispersity Index*

**Horasdia Saragih\***

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Advent Indonesia, Bandung Barat, Indonesia

\* Corresponding author: [horas@unai.edu](mailto:horas@unai.edu)

**Diterima:** 14 Juni 2023; **Disetujui:** 24 Maret 2024; **Dipublikasi:** 01 April 2024

### **Abstrak**

Senyawa bioaktif daun pegagan memiliki banyak manfaat. Senyawa ini memiliki sifat antioksidan, antimikroba dan antiinflamasi. Senyawa ini telah banyak digunakan untuk menyembuhkan beragam jenis penyakit. Oleh karena itu sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan obat-obatan. Namun sifatnya sangat hidrofobik dan mudah terdegradasi. Untuk mengatasi masalah ini, pendekatan baru yaitu memperkecil ukuran partikelnya berorde nanometer, dapat dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah mensintesa partikel senyawa bioaktif daun pegagan berukuran nanometer dan menguji pengaruh pemanasan dan tekanan terhadap diameter dan indeks polidispersitasnya. Senyawa bioaktif daun pegagan diekstrak menggunakan pelarut etanol. Nanopartikelnya disintesa menggunakan surfaktan tween 80. Pengaruh pemberian pemanasan dan tekanan terhadap diameter rata-rata dan indeks polidispersitasnya, diuji. Dari hasil yang diperoleh dengan menggunakan 6 ragam massa konsentrat hasil ekstrak: 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, dan 9 mg yang masing-masing dilarutkan ke dalam 100 mL etanol, diameter rata-rata nanopartikelnya (dan indeks polidispersitas) masing-masing adalah 10,7 nm (0,266); 11,1 nm (0,240); 11,8 nm (0,395); 12,7 nm (0,086); 12,8 nm (0,299); dan 13,2 nm (0,464). Ketika nanopartikel ini dipanaskan pada temperatur 121°C dan tekanan 2 bar selama 15 menit, diameter rata-ratanya menjadi lebih besar: 11,0 nm; 11,3 nm; 12,4 nm; 12,9 nm; 13,5 nm; 14,1 nm; dan indeks polidispersitasnya menjadi lebih kecil: 0,196; 0,202; 0,242; 0,058; 0,274; dan 0,303. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin besar massa konsentrat yang digunakan, semakin besar diameter rata-rata nanopartikel yang dihasilkan. Pemberian pemanasan dan tekanan, memperbesar diameter rata-rata nanopartikel dan memperkecil indeks polidispersitasnya.

**Kata kunci:** *Centella asiatica*; Diameter rata-rata; Indeks polidispersitas; Nanopartikel; Senyawa bioaktif daun pegagan

### **Abstract**

*Pegagan leaf compounds have several benefits, such as anti-inflammatory, antibacterial, and antioxidant properties. It has vast potential as a medicinal ingredient, as it has been used to treat many ailments. However, it is pretty hydrophobic and degrades quickly, which can be resolved with a novel strategy: making the particles as small as nanometers. The study aimed*

to synthesize nanoscale-sized bioactive compound particles from pegagan leaves and investigate how pressure and heat affect the particles' diameter and polydispersity index. The bioactive compounds in pegagan leaves were extracted using ethanol solvent. The nanoparticles were synthesized using the surfactant Tween 80. The polydispersity index and average diameter were tested for pressure and heat. The average diameter of the nanoparticles (and index polydispersity) derived from the results obtained using six different masses of extract concentrate (4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, and 9 mg) dissolved in 100 mL of ethanol are 10.7 nm (0.266); 11.1 nm (0.240); 11.8 nm (0.395); 12.7 nm (0.086); 12.8 nm (0.299); and 13.2 nm (0.464). The average diameter of these nanoparticles increased after 15 minutes of heating at 121°C and 2 bar of pressure: 11.0, 11.3, 12.4, 12.9, 13.5, and 14.1 nm; moreover, the polydispersity index decreased to 0.196, 0.202, 0.242, 0.058, 0.274, and 0.303. These studies demonstrate that the amount of concentrate utilized increases the average diameter of the nanoparticles formed. The average diameter of the nanoparticles increases, and the polydispersity index decreases with pressure and heat.

**Keywords:** Average diameter; Bioactive substances of pegagan leaves; *Centella asiatica*; Nanoparticles; Polydispersity index

## 1. PENDAHULUAN

Daun pegagan mengandung material senyawa bioaktif yang memiliki banyak manfaat. Beberapa hasil penelitian menunjukkan senyawa bioaktif daun pegagan dapat digunakan sebagai obat terapi untuk menyembuhkan beragam jenis penyakit, seperti luka (Lopez *et al.*, 2022), gatal pada kulit (Park, 2021), epilepsi, kejang-kejang, sakit pada lambung, dan sakit pada paru-paru (Biswas *et al.*, 2021). Selain itu, juga ditemukan bahwa material senyawa bioaktif daun pegagan memiliki sifat seperti antioksidan (Buranasudja *et al.*, 2021), antimikroba (Wong *et al.*, 2021a), antiinflamasi dan neuroprotektif (Wong *et al.*, 2021b). Hal ini menunjukkan bahwa daun pegagan memiliki potensi yang sangat besar untuk dikembangkan dan dijadikan sebagai salah satu sumber bahan obat-obatan ke depan untuk mengatasi masalah-masalah penyakit yang berkaitan dengan hal-hal di atas. Sehingga, usaha untuk mempelajari dan mengembangkannya perlu dilakukan, terutama untuk meningkatkan kemanfaatannya sebagai bahan obat-obatan sehingga dapat memiliki efikasi yang tinggi. Senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun pegagan mudah diekstrak dengan teknik ekstraksi yang telah dikenal saat ini. Setelah diekstrak, senyawa ini dapat langsung digunakan atau dikembangkan lebih lanjut untuk tujuan yang dikehendaki. Namun, dalam proses penggunaan dan pengembangan senyawa bioaktif daun pegagan terdapat beberapa masalah yang menjadi penghambat, seperti sulitnya senyawa ini larut di dalam air (berifat hidrofobik) dan mudahnya senyawa-senyawa ini terdegradasi (teroksidasi, yang dimediasi oleh kenaikan temperatur dan atau paparan cahaya) (Bazana *et al.*, 2019). Oleh karena itu, bioavailabilitasnya menjadi sangat rendah di dalam tubuh dan penggunaannya menjadi sangat tidak efisien dan tidak efektif.

Pendekatan dengan memperkecil ukuran partikel berorde nanometer (nanopartikel) tepat dilakukan untuk meningkatkan bioavailabilitas senyawa aktif (Sahu *et al.*, 2021). Ukuran partikel senyawa bioaktif daun pegagan sangat kecil (berorde nanometer) menyebabkan karakteristik kinetisnya di dalam suatu medium air sepenuhnya hanya dikendalikan oleh gerak *Brown*-nya saja sehingga akan mudah didispersi secara homogen dalam medium air tersebut

(Yetisgin *et al.*, 2020). Partikel senyawa bioaktif yang telah terdispersi dapat diangkut dan disebar ke dalam organ-organ tubuh sehingga bioavailabilitasnya dalam tubuh akan meningkat. Hasil studi pustaka yang dilakukan, sintesa senyawa bioaktif daun pegagan berorde nanometer sampai saat ini belum dilaporkan. Surfaktan digunakan untuk membantu sekaligus mempermudah pembentukan nanopartikelnya dan untuk menjaga dispersi nanopartikel senyawa tersebut tetap stabil di dalam medium yang mengandung air (dispersi tetap homogen), serta untuk menghindari terjadinya degradasi (Shaban *et al.*, 2020).

Kestabilan fisis dari nanopartikel yang telah dihasilkan memerlukan investigasi terkait kestabilan ukuran (diameter rata-ratanya) dan kestabilan distribusi ukuran (indeks polidispersitasnya) selama mendapatkan perlakuan pemanasan dan tekanan. Sebelum produk nanopartikel tersebut dipakai untuk terapan harus melalui proses sterilisasi yang melibatkan pemanasan dan sekaligus pemberian tekanan. Investigasi terkait kestabilan fisis nanopartikel perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemanasan dan pemberian tekanan terhadap perubahan diameter rata-rata dan indeks polidispersitas dari produk nanopartikel.

Sintesa nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan dilakukan menggunakan surfaktan tween 80 di dalam suatu ruang berbentuk tabung berdiameter 500  $\mu\text{m}$  dan panjang 50 cm. Pemanasan dan tekanan diberikan pada nanopartikel yang dihasilkan untuk melihat pengaruhnya terhadap perubahan diameter rata-ratanya dan indeks polidispersitasnya. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah mensintesa nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan dan menguji pengaruh pemanasan dan tekanan terhadap diameter dan indeks polidispersitas dari nanopartikel yang dihasilkan.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah: (1) daun pegagan segar hasil budidaya petani Desa Plumpang, Kecamatan Plumpang, Kabupaten Tuban, Provinsi Jawa Timur; (2) pelarut etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) (*absolute for analysis*); dan (3) surfaktan tween 80. Pelarut etanol dan surfaktan tween 80 masing-masing dibeli dari Merck KGaA Germany dengan kemurnian 99,9%. Kedua bahan ini langsung digunakan tanpa pemurnian tambahan.

### 2.2. Metode

#### 2.2.1. Ekstraksi senyawa bioaktif daun pegagan

Ekstraksi senyawa bioaktif daun pegagan dilakukan dengan teknik maserasi mengikuti langkah-langkah Rumanti dan Saragih (2023) dengan sedikit modifikasi. Daun pegagan segar dibersihkan menggunakan air mengalir dan digiling sampai membentuk serbuk halus. Sebanyak 300 g serbuk halus kering daun pegagan dilarutkan ke dalam 500 mL etanol, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* (laju 150 rpm pada temperatur ruang) selama 1 jam. Setelah itu didiamkan selama 4 jam. Kemudian kedua proses ini kembali dilakukan sebanyak empat kali dengan kondisi lingkungan yang sama, sehingga total waktu maserasi adalah 20 jam.

Maserat yang dihasilkan dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kertas saring (filter paper Whatman No.1). Pelarut etanol yang terdapat di dalam maserat selanjutnya diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* yang dioperasikan pada 80 rpm selama 3 jam.

Proses penguapan (evaporasi) dilakukan pada tekanan 0,5 atm dan temperatur 40°C. Hasil konsentrat dimasukkan ke dalam suatu wadah botol gelas tertutup dan dibalut dengan *aluminium foil* untuk menghindari paparan langsung cahaya dan disimpan di dalam ruang bertemperatur -10°C.

### 2.2.2. Identifikasi senyawa bioaktif daun pegagan

Konsentrat yang diperoleh merupakan kumpulan senyawa-senyawa bioaktif yang berhasil diekstrak dari daun pegagan. Selanjutnya senyawa-senyawa tersebut diidentifikasi menggunakan teknik *gas chromatography - mass spectroscopy* (GC-MS), yaitu teknik identifikasi yang menggabungkan sistem *gas chromatography* dan sistem *mass spectroscopy* secara integratif. Alat yang digunakan adalah Shimadzu GC-MS QP2010 Ultra (Japan). Identifikasi senyawa menggunakan dua besaran yang diperoleh dari hasil pengukuran oleh sistem *gas chromatography* yaitu waktu retensi (menit), dan besaran yang diperoleh dari pengukuran oleh sistem *mass spectroscopy* yaitu spektrum rasio massa terhadap muatan ( $m/z$ ) dari setiap jenis senyawa yang terukur.

Konsentrat ekstrak daun pegagan sebanyak 1 g dilarutkan ke dalam 50 mL etanol dan diinjeksikan sebanyak 1 mL ke dalam bagian tabung masukan pipa kapiler dari peralatan Shimadzu GC-MS QP2010 Ultra. Temperatur pipa kapiler dinaikkan secara bertahap, yaitu: (1) dari temperatur ruang dinaikkan ke temperatur 80°C dan ditahan selama 1 menit; (2) dari 80°C dinaikkan ke 250°C dengan laju 280°C/menit; (3) dari 250°C dinaikkan ke 300°C dengan laju 270°C/menit; dan (4) dari 300°C dinaikkan ke 320°C dengan laju 260°C/menit dan ditahan selama 24 menit.

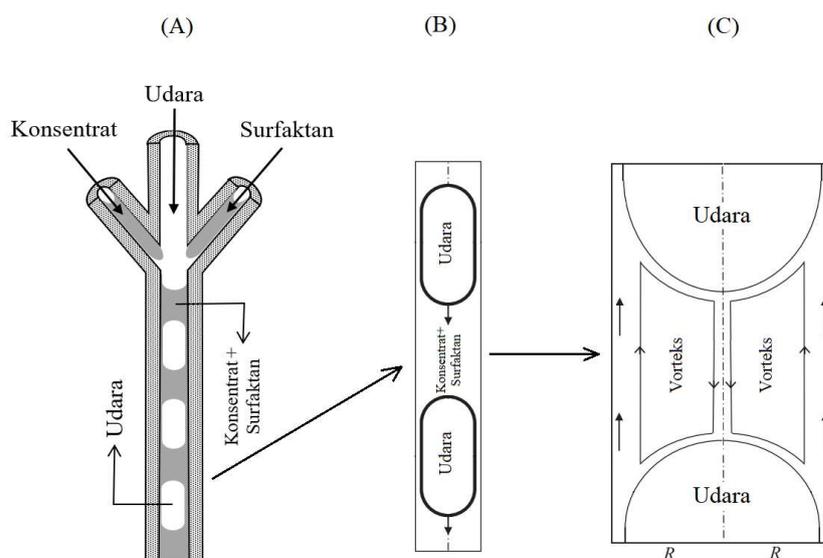
Ketika larutan konsentrat di atas diinjeksi ke dalam bagian masukan tabung pipa kapiler, pada saat yang sama gas pembawa helium dialirkan ke dalam pipa kapiler. Tekanan gas helium pada bagian masukan pipa kapiler dijaga pada 42,3 kP untuk menghasilkan aliran cairan larutan konsentrat ke dalam pipa kapiler dengan laju 0,74 mL/menit. Akibat pemanasan pipa kapiler, molekul-molekul senyawa-senyawa penyusun konsentrat akan menguap. Uap molekul-molekul ini akan mengalir di dalam tabung dibawa oleh gas pembawa. Waktu retensi (menit) dan spektrum rasio massa terhadap muatan ( $m/z$ ) dari setiap molekul yang mengalir ini akan diukur.

Waktu retensi dan spektrum rasio massa terhadap muatan dari setiap jenis senyawa penyusun konsentrat digunakan untuk mengidentifikasi jenis senyawa tersebut dengan cara mencocokkan kedua nilai besaran tersebut dengan nilai besaran yang sama pada basis data *National Institut of Standards and Technology Mass Spectral Database* (NIST-MS) yang telah terintegrasi pada perangkat lunak sistem peralatan Shimadzu GC-MS QP2010 Ultra.

### 2.2.3. Sintesa nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan

Senyawa bioaktif daun pegagan yang telah diidentifikasi menggunakan GC-MS selanjutnya disintesa membentuk partikel-partikel berukuran nanometer (nanopartikel). Tween 80 digunakan sebagai surfaktan. Proses sintesa dilakukan di dalam ruang berbentuk tabung yang jari-jarinya sangat kecil ( $R = 250 \mu\text{m}$ ). Modus alir cair-gas yang terjadi di dalam tabung dimanfaatkan untuk mencampur bahan yang digunakan (Abiev, 2021). Sistem peralatan sintesa

(Gambar 1) dikembangkan sendiri oleh tim penulis. Tabung yang digunakan terbuat dari bahan gelas dengan panjang 50 cm.



**Gambar 1.** Tabung gelas berjari-jari 250  $\mu\text{m}$  dan panjang 50 cm yang digunakan untuk mensintesa nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan. Keterangan: (A) Sistem masukan prekursor (konsentrat dan surfaktan) dan udara ke dalam tabung. (B) Modus alirnya yang disusun secara berurut dan teratur oleh bagian cair (konsentrat+surfaktan) dan bagian gas (udara). (C) Pola alir molekul-molekul prekursor di bagian cair ketika mengalir di dalam tabung (sirkulatif membentuk vorteks). Pada sistem ini gaya tarik gravitasi terhadap bahan cair yang terdapat di dalam tabung dimanfaatkan sebagai pembangkit aliran.

Injeksi udara ke dalam tabung bertujuan untuk memisahkan campuran konsentrat dan surfaktan menjadi segmen-segmen kecil sehingga membentuk aliran Taylor (*Taylor flow*) (Abiev, 2020). Ketika cairan campuran tersebut berukuran sangat kecil dan membentuk modus alir aliran Taylor, maka jumlah molekul-molekul senyawa bioaktif daun pegagan yang terdapat di dalamnya menjadi sangat terbatas sehingga nanopartikel senyawa bioaktif yang akan terbentuk menjadi sangat kecil. Molekul surfaktan tween 80 akan mengenkapsulasi partikel senyawa bioaktif tersebut dalam ukuran yang sangat kecil (berorde nanometer) ketika proses pencampuran terjadi di dalam tabung.

Enam ragam massa konsentrat digunakan 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, dan 9 mg, masing-masing diencerkan ke dalam 100 mL etanol. Surfaktan tween 80 diencerkan dengan menggunakan perbandingan tween 80: etanol = 50 mL: 150 mL. Kedua jenis prekursor yang telah diencerkan ini diinjeksi ke dalam tabung menggunakan *syringe* dengan debit masing-masing 0,85 mL/menit. Posisi tabung dibuat miring dengan sudut  $60^\circ$  terhadap bidang datar agar bahan precursor yang terdapat di dalam tabung tertarik oleh gravitasi dan membangkitkan aliran cairan di dalam tabung. Udara dibiarkan masuk secara alami ke dalam tabung untuk membentuk pola alir cair-gas.

Kondisi alir cairan-gas yang terbentuk di dalam tabung ketika menggunakan parameter eksperimen seperti diterangkan di atas adalah: (1) panjang segmen gas di dalam tabung sebesar 500  $\mu\text{m}$ , (2) panjang segmen cairnya sebesar 600  $\mu\text{m}$ , dan (3) laju alir kedua segmen tersebut

sebesar 5 cm/detik. Segmen-segmen ini mengalir sepanjang 50 cm di dalam tabung. Proses pencampuran prekursor dan proses sintesa nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan terjadi di dalam aliran cair-gas tersebut. Hasil sintesa nanopartikel selanjutnya ditampung ke dalam suatu wadah gelas berisi air yang telah didestilasi (*distilled water*) sebanyak 100 mL. Penampungan dilakukan untuk tiap-tiap besar massa konsentrat yang digunakan. Penampungan dihentikan ketika volume total di dalam wadah penampungan telah mencapai 150 mL. Nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan hasil sintesa akan terdispersi di dalam medium air yang terdapat di dalam wadah penampungan.

#### 2.2.4. Pengukuran diameter nanopartikel dan indeks polidispersitasnya

Nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan hasil sintesa selanjutnya dikarakterisasi untuk mengetahui besar diameter rata-rata dan indeks polidispersitas masing-masing. Pengukuran dilakukan dengan teknik hamburan cahaya (*light scattering*) menggunakan sistem peralatan *Particle Size Analyzer* (PSA) merek HORIBA SZ-100 (Horiba Instrument, Inc. USA). Hasil pengukuran yang diperoleh adalah besaran diameter rata-rata nanopartikel, spektrum distribusi diameter-diameter tersebut, dan besar indeks polidispersitas distribusi diameter untuk masing-masing sampel di atas.

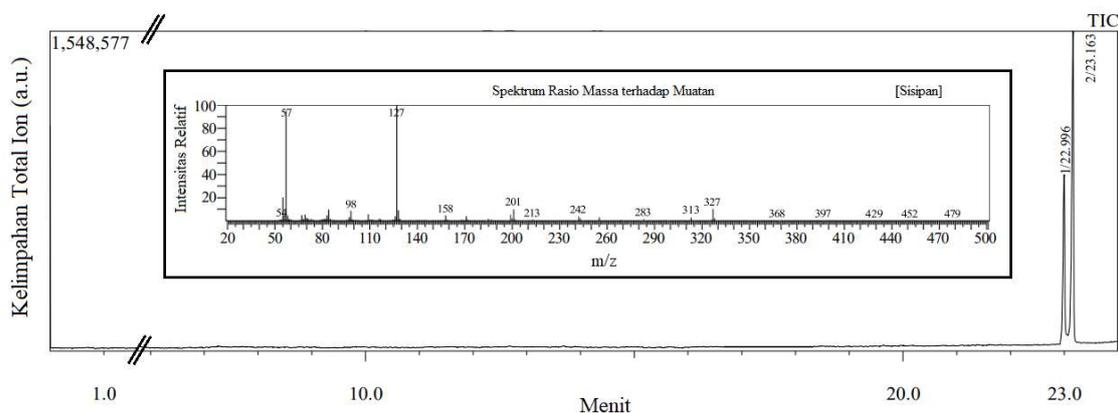
#### 2.2.5. Pemanasan dan pemberian tekanan

Enam ragam sampel hasil sintesa nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan yang telah diukur diameter rata-rata dan indeks polidispersitasnya selanjutnya dipanaskan dan sekaligus secara bersamaan diberi tekanan untuk melihat pengaruhnya terhadap perubahan diameter dan indeks polidispersitasnya. Sebanyak masing-masing 10 mL cairan yang berasal dari masing-masing keempat ragam sampel nanopartikel dipisahkan dan dimasukkan ke dalam masing-masing wadah kaca yang terbuka dan steril. Kemudian keempat wadah kaca yang telah berisi nanopartikel tersebut dimasukkan ke dalam *autoclave* untuk diberi perlakuan panas dan tekanan. Sistem peralatan *autoclave* selanjutnya dipanaskan sehingga mencapai temperatur 121°C dan tekanan 2 bar. Setelah kedua besaran parameter ini dicapai, kemudian dipertahankan selama 15 menit. Penetapan sistem tersebut mengikuti parameter standar yang direkomendasikan oleh *European Pharmacopoeia*. Keempat wadah kaca berisi nanopartikel yang telah diberi perlakuan pemanasan dan pemberian tekanan, diukur kembali diameter rata-rata dan indeks polidispersitasnya menggunakan peralatan *Particle Size Analyzer* (PSA).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran GC-MS, diperoleh suatu kromatogram total ion (*total ion chromatogram*, TIC) dan spektrum rasio massa terhadap muatan ( $m/z$ ) dari tiap-tiap senyawa bioaktif yang terukur (Gambar 2). Kromatogram total ion (*total ion chromatogram*, TIC) menunjukkan puncak-puncak kelimpahan total ion dan waktu retensi dari masing-masing puncak kelimpahan total ion tersebut. Spektrum rasio massa terhadap muatan dari senyawa bioaktif yang terukur menghasilkan puncak-puncak kelimpahan total ion. Rasio massa terhadap muatan sebesar 127 terukur secara dominan dan diikuti berikutnya oleh rasio massa terhadap muatan sebesar 57. Luas masing-masing puncak yang dihasilkan dan persentase puncak

kelimpahan total ion yang dihasilkan oleh senyawa bioaktif ekstrak etanol daun pegagan (Tabel 1).



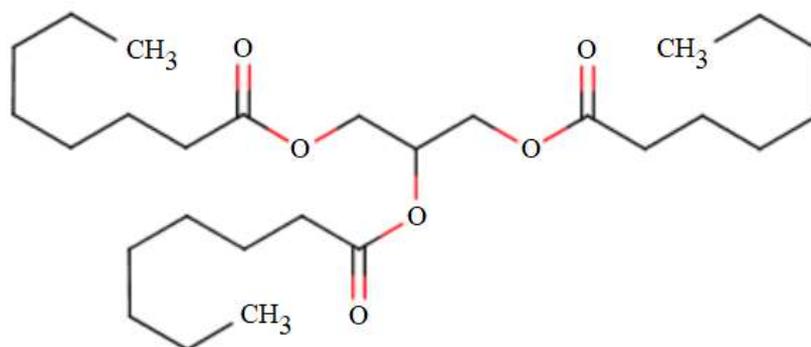
**Gambar 2.** Kromatogram total ion (*total ion chromatogram*, TIC) senyawa bioaktif ekstrak etanol daun pegagan yang diukur menggunakan sistem peralatan GC-MS QP2010 Ultra. Sisipan adalah spektrum rasio massa terhadap muatannya (m/z).

Hasil sintesa nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan didispersikan ke dalam air. Hasil sintesa terdispersi secara homogen di dalam air, hasil dispersi tersebut selanjutnya diukur menggunakan peralatan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk memperoleh data distribusi diameter, diameter rata-rata (*Z-Average*) dan indeks polidispersitas (PI) nanopartikel (Gambar 3 kolom A). Semua nanopartikel yang telah diukur kemudian disimpan selama seminggu di dalam ruang bertemperatur  $-5^{\circ}\text{C}$ . Setelah itu, nanopartikel-nanopartikel tersebut diberi tekanan dan pemanasan dengan cara *autoclaving* menggunakan parameter seperti yang telah diterangkan pada bagian eksperimen. Sebelum dimasukkan ke dalam *autoclave*, temperatur nanopartikel terlebih dahulu dinaikkan ke temperatur ruang dengan cara memarkannya di ruang terbuka tanpa cahaya. Nanopartikel yang telah mengalami proses *autoclaving* selanjutnya diukur kembali distribusi diameter, diameter rata-rata (*Z-Average*) dan indeks polidispersitas (PI) nanopartikel menggunakan peralatan *Particle Size Analyzer* (PSA) yang sama (Gambar 3 kolom B).

**Tabel 1.** Hasil pengukuran GC-MS masing-masing puncak kelimpahan total ion yang dihasilkan oleh senyawa bioaktif ekstrak etanol daun pegagan.

Puncak #	Luas Puncak	% Luas Puncak	Waktu Retensi (menit)	Nama Senyawa
1	2005218	33.87	22.996	<i>octanoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester</i>
2	3914729	66.13	23.163	<i>octanoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester</i>

Hasil kromatogram (Gambar 2) terdapat dua puncak kelimpahan total ion yang terjadi, yaitu: puncak pertama terjadi pada waktu retensi 22.996 menit dan puncak kedua terjadi pada waktu retensi 23.163 menit. Dua puncak ini sangat berdekatan. Rasio massa terhadap muatan (m/z) dari senyawa bioaktif dan fragmen-fragmennya yang menghasilkan puncak-puncak kelimpahan tersebut membentuk spektrum massa (Gambar 2). Karakteristiknya menghasilkan dua rasio massa terhadap muatan yang paling dominan, yaitu: sebesar 127 dan sebesar 57.

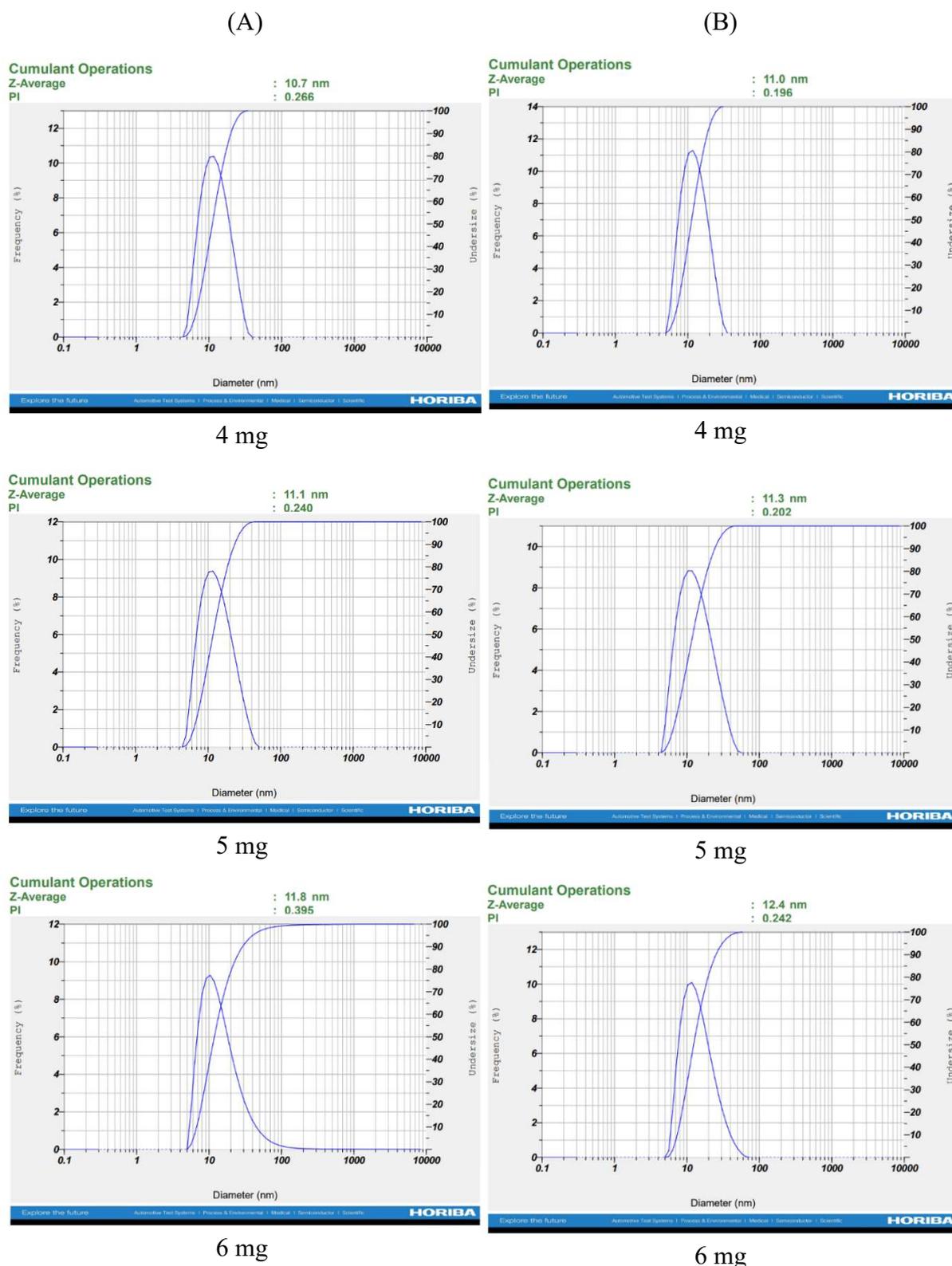


**Gambar 3.** Struktur molekul *octanoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester*.

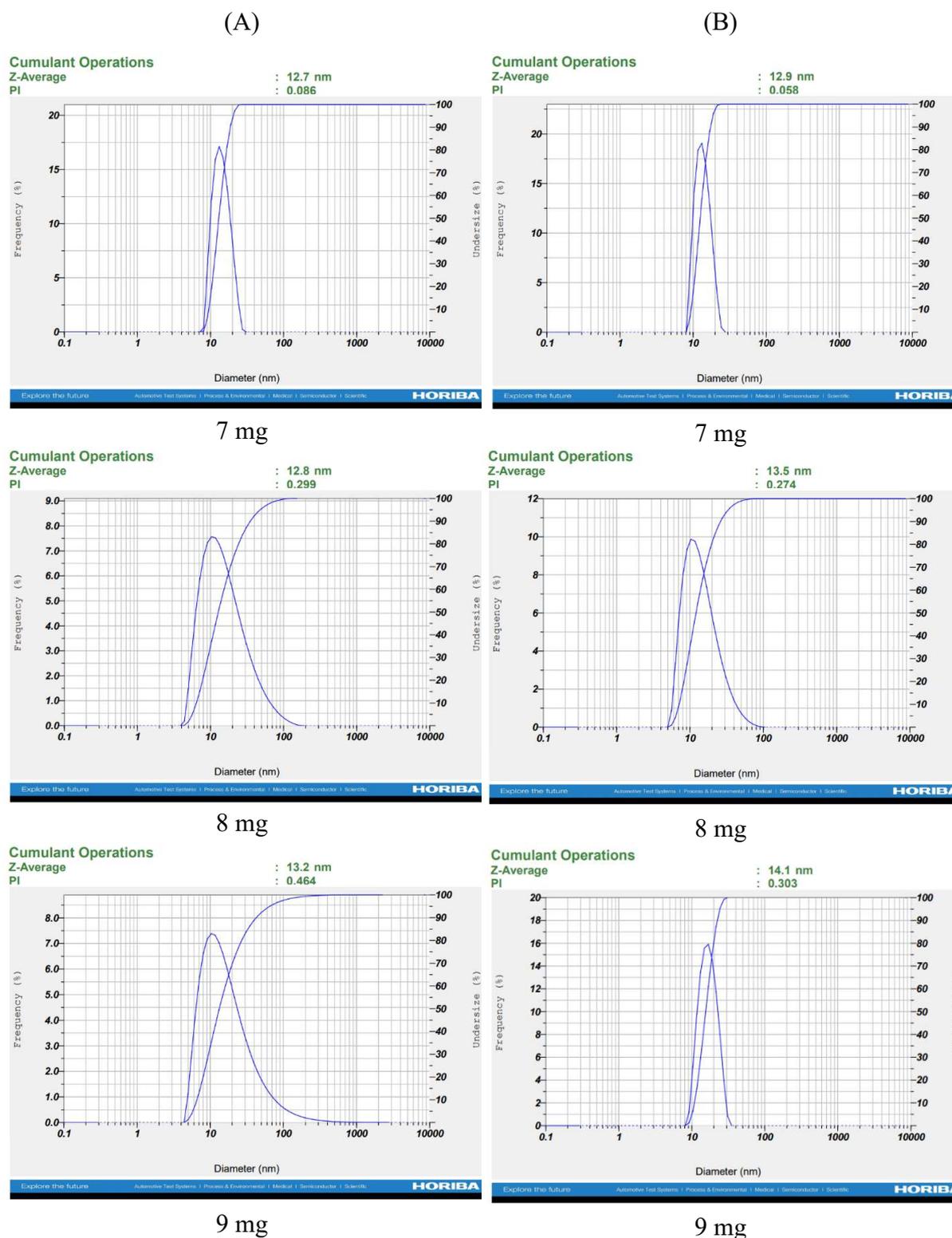
Waktu retensi dan spektrum rasio massa terhadap muatan dari setiap jenis senyawa tersebut diidentifikasi dengan cara mencocokkan kedua besaran ini dengan besaran yang sama pada basis data *National Institut of Standards and Technology Mass Spectral Database* (NIST-MS). Hasil identifikasi kedua puncak, puncak pertama yang terjadi pada waktu retensi 22.996 menit (dengan persen luas puncak = 33.87%) dan puncak kedua yang terjadi pada waktu retensi 23.163 menit (dengan persen luas puncak = 66.13%) adalah sama-sama dihasilkan oleh senyawa bioaktif *octanoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester* atau dengan nama lain *trioctanoin* dengan rumus molekul  $C_{27}H_{50}O_6$  dan berat molekul 470 g/mol (Gambar 3). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa konsentrat ekstrak etanol daun pegagan memiliki kandungan senyawa bioaktif: *octanoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester*.

Senyawa ini kemudian disintesa untuk menghasilkan partikel berukuran nanometer. Diameter rata-rata nanopartikel yang diperoleh setelah disintesa dengan menggunakan 6 ragam massa konsentrat yang berbeda, yaitu: 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, dan 9 mg, tersebar dari 10,7 nm sampai 13,2 nm (Gambar 4A). Ukuran diameter rata-rata nanopartikel yang dihasilkan relatif sangat kecil, di bawah 100 nm seperti yang diperlukan untuk berbagai ragam penggunaan (Gaumet *et al.*, 2008). Nanopartikel tersebut terdispersi secara homogen dalam medium air.

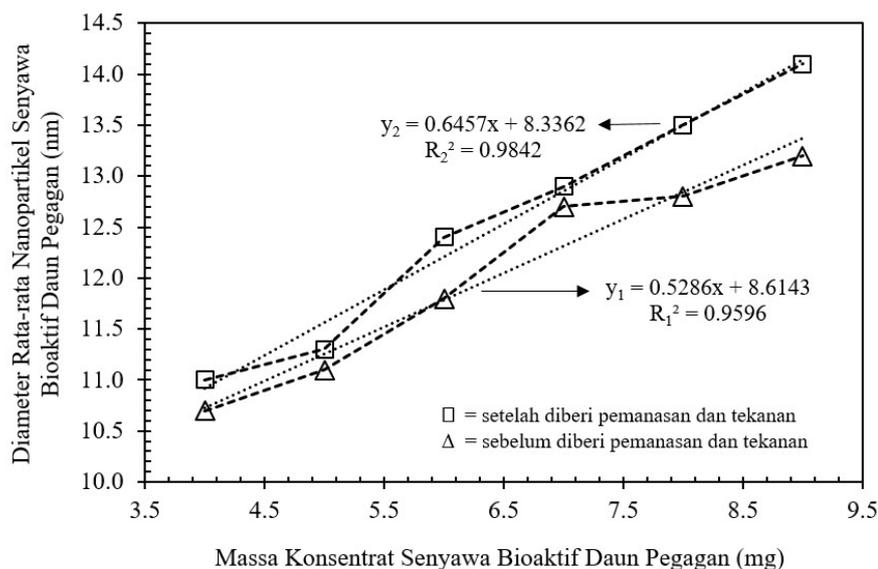
Ukuran nanopartikel yang diperoleh (Gambar 4A), dipengaruhi oleh besarnya massa konsentrat yang digunakan. Hubungan massa konsentrat senyawa bioaktif ekstrak etanol daun pegagan yang digunakan pada proses sintesa nanopartikel dengan diameter rata-rata nanopartikel yang dihasilkan (Gambar 5). Terlihat bahwa semakin besar massa konsentrat senyawa bioaktif yang digunakan, semakin besar pula diameter rata-rata nanopartikel yang dihasilkan. Hubungannya linier. Linieritasnya dapat didekati dengan persamaan  $y_1 = 0,5286x + 8,6143$ . Determinasi perubahan massa konsentrat yang digunakan ( $x$ ) terhadap perubahan besar diameter rata-rata nanopartikel yang dihasilkan ( $y_1$ ), sangat tinggi yaitu 95,96% ( $R_1^2 = 0,9596$ ). Faktor pengali (gradien) penambahan besar diameter rata-rata nanopartikel ( $y_1$ ) ketika massa konsentrat senyawa tersebut ditambah ( $x$ ), juga cukup besar yaitu: 0,5286. Ini menunjukkan bahwa penambahan massa konsentrat yang digunakan sangat mempengaruhi (menambah ukuran nanopartikel) diameter rata-rata nanopartikel yang dihasilkan.



**Gambar 4.** Distribusi diameter, diameter rata-rata (*Z-Average*) dan indeks polidispersitas (PI) nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan yang disintesa dengan menggunakan 6 ragam massa konsentrat hasil ekstraksi, yaitu: 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg dan 9 mg. Keterangan (A) sebelum dan (B) sesudah diberi pemanasan 121°C dan tekanan 2 bar selama 15 menit.



**Gambar 4.** Distribusi diameter, diameter rata-rata (*Z-Average*) dan indeks polidispersitas (PI) nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan yang disintesa dengan menggunakan 6 ragam massa konsentrat hasil ekstraksi, yaitu: 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg dan 9 mg. Keterangan (A) sebelum dan (B) sesudah diberi pemanasan 121°C dan tekanan 2 bar selama 15 menit (*Lanjutan*).



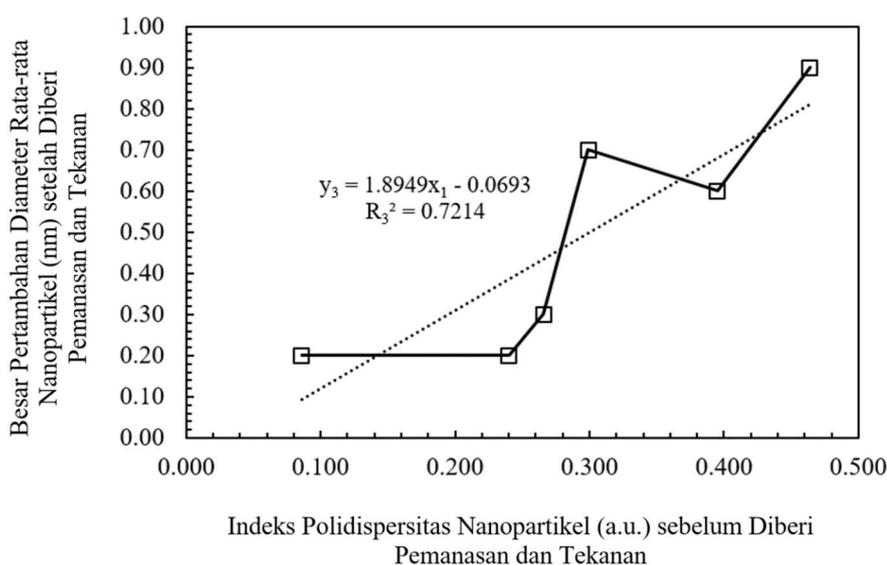
**Gambar 5.** Hubungan massa konsentrat senyawa bioaktif ekstrak etanol daun pegagan yang digunakan pada proses sintesa nanopartikel dengan diameter rata-rata nanopartikel yang dihasilkan. Keterangan □ = sebelum diberi pemanasan dan tekanan, Δ = setelah diberi pemanasan dan tekanan.

Pada saat proses sintesa nanopartikel dilakukan di dalam ruang berbentuk tabung berjari-jari sangat kecil, yaitu: 250  $\mu\text{m}$  sebagaimana digunakan pada penelitian ini, molekul-molekul senyawa bioaktif daun pegagan akan bercampur dengan molekul-molekul surfaktan dan membentuk nanopartikel di ruang yang volumenya sangat kecil dengan modus alir yang sirkulatif tersebut (Gambar 1C). Volume yang sangat kecil dan modus alir yang sirkulatif, kuantitas senyawa bioaktif yang disintesa sangat terbatas dan transport massanya sangat tinggi. Transport massa yang sangat tinggi akan menghasilkan waktu pencampuran dan pembentukan nanopartikel yang sangat cepat. Kuantitas senyawa bioaktif yang terbatas dan volumenya sangat kecil akan menghasilkan ukuran nanopartikel yang sangat kecil pula. Ukuran panjang segmen cair di dalam tabung dijaga tetap sama yaitu: 600  $\mu\text{m}$  dan kecepatan alirnya juga dijaga tetap sama yaitu: 5 cm/det, serta konsentrasi surfaktan yang digunakan pun juga dijaga tetap sama untuk setiap penggunaan massa konsentrat yang berbeda. Oleh karena itu, penambahan massa konsentrat yang digunakan akan meningkatkan ukuran nanopartikel yang dihasilkan karena kuantitas senyawa bioaktif yang disintesa meningkat.

Proses *autoclaving* dengan suhu 121°C dan tekanan 2 bar selama 15 menit menyebabkan diameter rata-rata nanopartikelnya berubah menjadi lebih besar. Perubahan ini terjadi untuk semua nanopartikel (Gambar 5). Ini menunjukkan bahwa pemberian pemanasan dan sekaligus tekanan kepada sekumpulan nanopartikel tersebut menyebabkan diameter rata-ratanya bertambah besar. Perubahan ini juga bersifat linier terhadap besarnya massa konsentrat yang digunakan pada saat nanopartikel disintesa. Kelinierannya dinyatakan oleh persamaan  $y_2 = 0,6457x + 8,3362$ , dimana determinasi perubahan massa konsentrat yang digunakan ( $x$ ) terhadap perubahan besar diameter rata-rata nanopartikelnya ( $y_2$ ), juga sangat tinggi yaitu 98,42% ( $R_2^2 = 0,9842$ ).

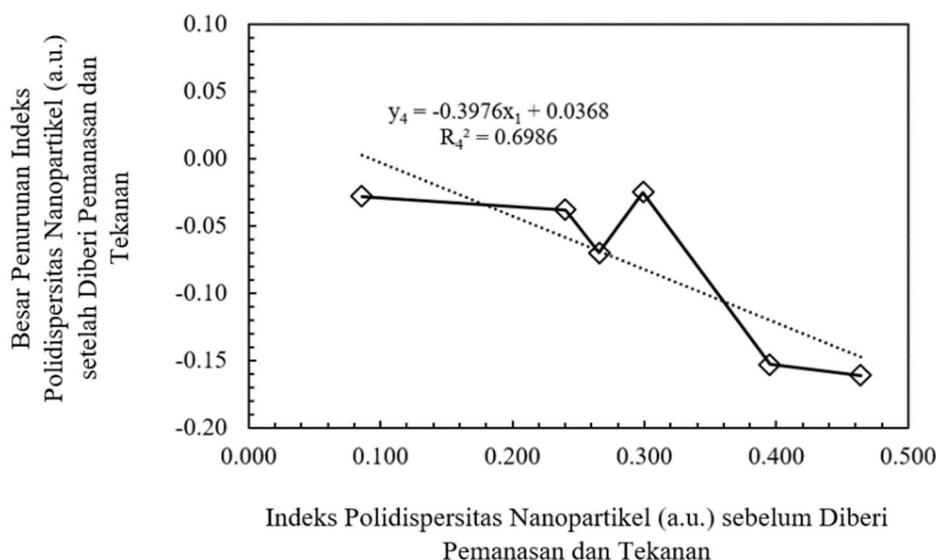
Jika diperhatikan, gradien pada persamaan  $y_1$  dan gradien pada persamaan  $y_2$  juga berbeda, masing-masing adalah 0,5286 dan 0,6457. Gradien pada persamaan  $y_2$  lebih besar dibandingkan dengan gradien pada persamaan  $y_1$ . Artinya, diameter rata-rata nanopartikel akan bertambah lebih signifikan bila nanopartikel tersebut dipanaskan dan diberi tekanan. Untuk massa konsentrat yang digunakan sebesar 9 mg saat sintesa dilakukan, perubahan diameter rata-rata nanopartikelnya sesudah dan sebelum diberi pemanasan dan tekanan, sebesar: 14,1 nm – 13,2 nm = 0,9 nm. Nilai ini lebih besar dibandingkan dengan nilai parameter yang sama pada saat menggunakan massa konsentrat yang lebih kecil.

Hubungan indeks polidispersitas nanopartikel sebelum diberi pemanasan dan tekanan dengan besarnya pertambahan diameter rata-rata nanopartikel setelah diberi pemanasan dan tekanan (Gambar 6). Dalam hal ini nilai indeks polidispersitas (pada persamaan ditunjukkan sebagai variable  $x_1$ ) yang diperoleh di atas menunjukkan lebar-sempitnya distribusi ukuran diameter dari nanopartikel-nanopartikel tersebut, dimana bila nilai indeks polidispersitasnya besar maka distribusi ukuran diameter nanopartikel-nanopartikelnya lebar, dan sebaliknya.



**Gambar 6.** Hubungan indeks polidispersitas nanopartikel (ditunjukkan oleh variable  $x_1$ ) sebelum diberi pemanasan dan tekanan dengan besar pertambahan diameter rata-rata nanopartikel setelah diberi pemanasan dan tekanan.

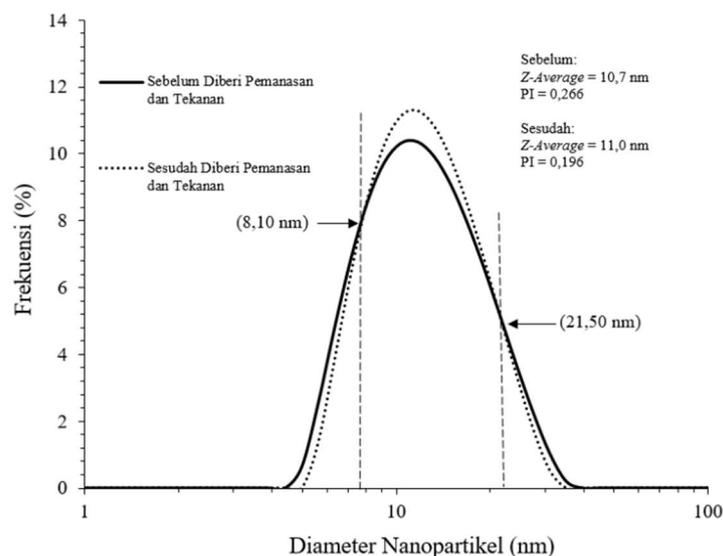
Hubungan indeks polidispersitas nanopartikel sebelum diberi pemanasan dan tekanan dengan besar pertambahan diameter rata-rata nanopartikel setelah diberi pemanasan dan tekanan didekati dengan persamaan linier:  $y_3 = 1,8949x_1 + 0,0693$ , dengan  $R_3^2 = 0,7214$ . Hasil ini menunjukkan bahwa semakin besar nilai indeks polidispersitas nanopartikel ( $x_1$ ), semakin besar pula pertambahan diameter rata-rata nanopartikel setelah diberi pemanasan dan tekanan ( $y_3$ ). Atau dengan kata lain, semakin lebar distribusi ukuran diameter nanopartikel sebelum diberi pemanasan dan tekanan, semakin besar pertambahan diameter rata-ratanya setelah diberi pemanasan dan tekanan. Ini menunjukkan bahwa distribusi ukuran diameter nanopartikel-nanopartikel tersebut (keragaman) berkontribusi membangkitkan penambahan diameter rata-ratanya ketika diberi pemanasan dan tekanan. Hal ini dipertegas dengan hasil indeks indeks polidispersitasnya setelah diberi pemanasan dan tekanan (Gambar 7).



**Gambar 7.** Hubungan indeks polidispersitas nanopartikel (ditunjukkan oleh variable  $x_1$ ) sebelum diberi pemanasan dan tekanan dengan besar penurunan indeks polidispersitas nanopartikel setelah diberi pemanasan dan tekanan.

Hubungan indeks polidispersitas nanopartikel sebelum diberi pemanasan dan tekanan dengan besar penurunan indeks polidispersitasnya setelah diberi pemanasan dan tekanan (Gambar 7). Besar penurunan indeks polidispersitas nanopartikel setelah diberi pemanasan dan tekanan semakin besar ketika indeks polidispersitas awalnya besar (indeks polidispersitas sebelum diberi pemanasan dan tekanan). Besar penurunan ini terlihat bersifat linier terhadap besarnya indeks polidispersitasnya sebelum diberi pemanasan dan tekanan dan didekati dengan persamaan  $y_4 = -0,3976x_1 + 0,0368$  ( $R_4^2 = 0,6986$ ). Ini mempertegas bahwa keragaman ukuran nanopartikel-nanopartikel tersebut sebelum diberi pemanasan dan tekanan berkontribusi pada penambahan diameter rata-ratanya ketika diberi pemanasan dan tekanan. Bila indeks polidispersitas nanopartikel semakin besar sebelum diberi pemanasan dan tekanan maka penurunan indeks polidispersitas tersebut semakin besar pula setelah diberi pemanasan dan tekanan. Koefisien pengalinya sebesar  $-0,3976$ .

Khedr dan Striolo (2019) melaporkan suatu populasi nanopartikel (nanoemulsi) yang memiliki ukuran beragam dan terdispersi di dalam suatu medium, dapat mengalami pertambahan ukuran diameter rata-ratanya yang disebabkan koalisi antar nanopartikel. Nanopartikel berukuran lebih kecil memiliki solubilitas yang lebih tinggi di dalam medium dibandingkan nanopartikel berukuran lebih besar sehingga nanopartikel dengan ukuran lebih kecil akan memiliki mobilitas lebih tinggi dalam medium dan memiliki kecenderungan berdifusi menuju nanopartikel yang lebih besar dan berkoalisi sehingga memperbesar diameter nanopartikel yang lebih besar tersebut. Peristiwa ini dipengaruhi oleh temperatur, ketika temperatur sistem (medium dan nanopartikel) naik, laju peristiwa ini semakin tinggi. Proses koalisi yang disebabkan oleh peristiwa seperti ini akan mengurangi jumlah nanopartikel yang memiliki ukuran yang lebih kecil di dalam populasi sehingga lebar distribusinya akan berkurang. Dengan kata lain, besar indeks polidispersitas nanopartikel tersebut akan berkurang.



**Gambar 8.** Distribusi ukuran nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan sebelum dan sesudah proses *autoclaving* pada temperatur 121°C dan tekanan 2 bar selama 15 menit. Nanopartikel disintesa dengan menggunakan massa konsentrat 4 mg.

Diameter nanopartikel akan cenderung mengecil karena molekul- molekul penyusunnya mengalami pemadatan (terkompresi) akibat tekanan hidrostatis di dalam *autoclave*. Nanopartikel yang memiliki jumlah molekul yang paling besar (ukuran yang paling besar) akan mengalami pengecilan yang paling besar. Sehingga, ketika tekanan telah diberikan, jumlah nanopartikel yang memiliki ukuran yang besar akan berkurang. Pada proses *autoclaving* (pemberian pemanasan dan tekanan), kenaikan temperatur lebih dahulu terjadi, lalu kenaikan temperatur ini membangkitkan kenaikan tekanan di dalam *autoclave*. Kenaikan temperatur menyebabkan peristiwa koalisi antar nanopartikel lebih dahulu terjadi, lalu diikuti oleh proses kompresi. Kedua peristiwa tersebut menyebabkan jumlah nanopartikel yang berukuran sangat kecil dan jumlah nanopartikel yang berukuran sangat besar akan berkurang setelah proses *autoclaving*. Hal ini membuat diameter rata-rata nanopartikel menjadi bertambah dan indeks polidispersitasnya berkurang.

Distribusi ukuran hasil sintesa nanopartikel menggunakan konsentrat sebesar 4 mg sebelum dan sesudah diberi pemanasan dan tekanan (Gambar 8). Setelah mengalami pemanasan dan pemberian tekanan, diameter rata-rata (*Z-average*) nanopartikel bertambah menjadi 11,0 nm dari sebelumnya 10,7 nm dan indeks polidispersitas nanopartikel berkurang menjadi 0,196 dari sebelumnya 0,266. Jumlah (frekuensi) nanopartikel yang berukuran lebih kecil (kurang dari 8,10 nm) dan jumlah nanopartikel yang berukuran lebih besar (lebih dari 21,50 nm) terlihat berkurang setelah diberi pemanasan dan tekanan. Pengurangan jumlah nanopartikel yang berukuran lebih kecil terjadi karena adanya peristiwa koalisi. Hasil koalisi tersebut memperbesar diameter rata-rata nanopartikel. Sementara jumlah nanopartikel yang berukuran paling besar berkurang karena terkompresi oleh adanya tekanan. Kedua hal ini menjadikan indeks polidispersitas nanopartikel berkurang dan diameter rata-ratanya bertambah.

#### 4. KESIMPULAN

Nanopartikel senyawa bioaktif daun pegagan telah berhasil disintesa dengan diameter rata-rata terentang dari 10,7 nm sampai 13,2 nm. Besar diameter rata-rata nanopartikel yang diperoleh bergantung pada jumlah massa konsentrat senyawa bioaktif yang digunakan. Semakin tinggi massa konsentrat yang digunakan, semakin besar pula diameter rata-rata nanopartikel yang dihasilkan. Pemberian pemanasan dan tekanan pada nanopartikel melalui *autoclaving* pada temperatur 121°C dan tekanan 2 bar selama 15 menit, menambah besar diameter rata-ratanya dan mengurangi besar indeks polidispersitasnya. Nanopartikel yang memiliki indeks polidispersitas awal yang lebih besar memiliki pertambahan diameter rata-rata yang lebih besar. Pertambahan diameter rata-rata nanopartikel ini disebabkan oleh terjadinya koalisi nanopartikel-nanopartikel yang berukuran lebih kecil dengan nanopartikel yang berukuran lebih besar. Proses koalisi ini membuat populasi nanopartikel yang berukuran lebih kecil menjadi berkurang sehingga menurunkan nilai indeks polidispersitasnya.

#### DEKLARASI KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan pada penulisan dan publikasi artikel ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abiev, R.S. (2020). Gas-liquid and gas-liquid-solid mass transfer model for Taylor flow in micro (milli) channels: A theoretical approach and experimental proof. *Chemical Engineering Journal Advances*, 4(100065). <https://doi.org/10.1016/j.ceja.2020.100065>
- Abiev, R.S. (2021). Mathematical model of two-phase Taylor flow hydrodynamics for four combinations of non-Newtonian and Newtonian fluids in microchannels. *Chemical Engineering Science*, 247(116930). <https://doi.org/10.1016/j.ces.2021.116930>
- Bazana, M.T., Codevilla, C.F., Menezes, C.R. (2019). Nanoencapsulation of bioactive compounds: challenges and perspectives. *Current Opinion in Food Science*, 26:47–56. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.03.005>
- Biswas, D., Mandal, S., Saha, S.C., Tudu, C.K., Nandy, S., Batiha, G.E.S., Shekhawat, M.S., Pandey, D.K. dan Dey, A. (2021). Ethnobotany, phytochemistry, pharmacology, and toxicity of *Centella asiatica* (L.) Urban: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*, 2021(1–31). <https://doi.org/10.1002/ptr.7248>
- Buranasudja, V., Rani, D., Malla, A., Kobtrakul, K. dan Vimolmangkang, S. (2021). Insights into antioxidant activities and anti-skin-aging potential of callus extract from *Centella asiatica* (L.). *Scientific Reports Nature Portfolio*, 11(13459). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92958-7>
- Gaumet, M., Vargas, A., Gurny, R. dan Delie, F. (2008). Nanoparticles for drug delivery: The need for precision in reporting particle size parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69(1-9). doi:10.1016/j.ejpb.2007.08.001
- Khedr, A. dan Striolo, A. (2019). Quantification of Ostwald Ripening in Emulsions via Coarse-Grained Simulations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 15, 5058-5068. DOI: 10.1021/acs.jctc.9b00296
- Lopez, E.A., Zand, N., Ojo, O., Snowden, M.J. dan Kochhar, T. (2022). A systematic review of the effect of *Centella asiatica* on wound healing. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(3266). <https://doi.org/10.3390/ijerph19063266>

- Park, K.S. (2021). Pharmacological Effects of *Centella asiatica* on Skin Diseases: Evidence and Possible Mechanisms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* (Hindawi), 2021(5462633). <https://doi.org/10.1155/2021/5462633>
- Rumanti, A.T. dan Saragih, H. (2023). Ekstraksi dan Identifikasi Kandungan Senyawa Bioaktif Daun Saga Rambat (*Abrus precatorius*). *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 8(2): 59-68. DOI:10.24002/biota.v8i2.6417
- Sahu, T., Ratre, Y.K., Chauhan, S., Bhaskar, L.V.K.S., Nair, M.P. dan Verma, H.K. (2021). Nanotechnology based drug delivery system: Current strategies and emerging therapeutic potential for medical science. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 63(102487). <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102487>
- Shaban, S.M., Kang, J. dan Kim, D.H. (2020). Surfactants: Recent advances and their applications. *Composites Communications*, 22(100537). <https://doi.org/10.1016/j.coco.2020.100537>
- Wong, J.H., Barron, A.M. dan Abdullah, J.M. (2021b). Mitoprotective Effects of *Centella asiatica* (L.) Urb.: Anti-Inflammatory and Neuroprotective Opportunities in Neurodegenerative Disease. *Frontier in Pharmacology*, 12(687935). doi: 10.3389/fphar.2021.687935
- Wong, J.X., Ramli, S., Desa, S. dan Chen, S.N. (2021a). Use of *Centella asiatica* extract in reducing microbial contamination and browning effect in fresh cut fruits and vegetables during storage: A potential alternative of synthetic preservatives. *LWT - Food Science and Technology*, 151 (112229). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112229>
- Yetisgin, A.A., Cetinel, S., Zuvun, M., Kosar, A. dan Kutlu, O. (2020). Therapeutic Nanoparticles and Their Targeted Delivery Applications. *Molecules*, 25(2193). doi:10.3390/molecules25092193