

**PEMBUATAN NANOSUSPENSI KALSIMUM
OKSIDA (CaO) DARI CANGKANG TELUR AYAM
(*Gallus gallus domesticus*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI MENGGUNAKAN PENSTABIL
POLYVINYL ALCOHOL (PVA) DENGAN
METODE SONIKASI**

LAPORAN TUGAS AKHIR

DINI FITRIYANI

11151005



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS BHAKTI KENCANA
BANDUNG
2019**

**PEMBUATAN NANOSUSPENSI KALSIMUM OKSIDA (CAO)
DARI CANGKANG TELUR AYAM (*GALLUS GALLUS
DOMESTICUS*) SEBAGAI ANTIBAKTERI MENGGUNAKAN
PENSTABIL POLYVINYL ALCOHOL (PVA) DENGAN
METODE SONIKASI**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Ditujukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan
Program Strata Satu

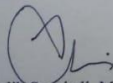
DINI FITRIYANI

11151005

Bandung, Mei 2019

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Dadiah Supriadi, M.Si.,Apt)

Pembimbing Serta,



(Garnadi Jafar, M.Si.,Apt)

ABSTRAK

PEMBUATAN NANOSUSPENSI KALSIUM OKSIDA (CaO) DARI CANGKANG TELUR AYAM (*Gallus gallus domesticus*) SEBAGAI ANTIBAKTERI MENGGUNAKAN PENSTABIL POLYVINYL ALCOHOL (PVA) DENGAN METODE SONIKASI

Oleh:
DINI FITRIYANI
11151005

Latar belakang: Cangkang telur merupakan bagian terluar dari telur yang mengandung CaCO_3 yang dapat disintesis menjadi CaO dan dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. **Tujuan:** memanfaatkan cangkang telur ayam negeri sebagai bahan pembuatan nanosuspensi CaO yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri menggunakan penstabil PVA dengan metode sonikasi dan uji aktivitas antibakteri CaO terhadap bakteri *S.epidermidis* dan *P.acnes*. **Metodologi:** pengumpulan bahan cangkang telur, pembuatan serbuk cangkang telur, sintesis CaO dengan metode kalsinasi, pembuatan nanosuspensi CaO menggunakan penstabil PVA dengan metode sonikasi, uji karakterisasi berupa Organoleptik, *PSA*, *XRD* dan *SEM* dan dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.epidermidis* dan *P.acnes*. **Hasil:** Proses kalsinasi cangkang telur dapat mengubah CaCO_3 menjadi CaO. Hasil sintesis CaO berupa serbuk halus berwarna putih dan tidak berbau. Hasil *XRD* menunjukkan bahwa CaCO_3 sudah berubah menjadi CaO. Dilihat dari hasil *PSA*, nanosuspensi CaO dapat dibuat dengan waktu sonikasi 3 jam dan kadar PVA 2% dengan ukuran $1.159 \pm 0,668$ nm (tanpa sonikasi) dan $992 \pm 0,629$ nm (dengan sonikasi) yang menandakan adanya penurunan ukuran partikel setelah proses sonikasi. Terdapat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.epidermidis* dan *P.acnes* pada konsentrasi 1%, 1,5% dan 2%. **Kesimpulan:** CaO dapat dibuat menjadi nanosuspensi yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Kata kunci : Antibakteri, Cangkang Telur Ayam Negeri , Kalsium Oksida (CaO), Nanosuspensi, Sonikasi.

ABSTRACT

MAKING NANOSUSPENSION OF CALCIUM OXIDE (CaO) FROM CHICKEN EGGSHELL (*Gallus gallus domesticus*) AS AN ANTIBACTERIAL USING POLYVINYL ALCOHOL (PVA) AS STABILIZER WITH SONICATION METHOD

By:
DINI FITRIYANI
11151005

Background: Eggshell is the outermost part of an egg containing CaCO₃ which can be synthesized into CaO and can be used as an antibacterial. **Purpose:** utilizing domestic chicken eggshells as a material for making CaO nanosuspension which has antibacterial activity using PVA stabilizers by sonication method and antibacterial activity test for CaO against *S.epidermidis* and *P.acnes* bacteria. **Methodology:** collecting eggshell material, making eggshell powders, synthesizing CaO using the calcination method, making CaO nanosuspensi using PVA stabilizers by sonication method, characterizing the *PSA*, *XRD* and *SEM* and testing the antibacterial activity against *S.epidermidis* and *P.acnes* bacteria. **Results:** The eggshell calcination process can convert CaCO₃ to CaO. The result of CaO synthesis is a fine white powder and does not smell. *XRD* results show that CaCO₃ has changed to CaO. Judging from the results of the *PSA*, CaO nanosuspension can be made with 3 hours sonication and 2% PVA levels with a size of $1,159 \pm 0.668$ nm (without sonication) and 992 ± 0.629 nm (with sonication) which indicates a decrease in particle size after the sonication process. There is antibacterial activity against *S.epidermidis* and *P.acnes* bacteria at concentrations of 1%, 1.5% and 2%. **Conclusion:** CaO can be made into nanosuspensi which has antibacterial activity.

Kata kunci : Antibacterial, Calcium Oxide (CaO), Chicken eggshell, Nanosuspension, Sonication.

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di perpustakaan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, dan terbuka untuk umum.

Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin ketua Program Studi di lingkungan Universitas Bhakti Kencana Bandung.

Dipersembahkan kepada kedua orangtua, adik tercinta dan sahabat-sahabatku.

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb

Alhamdulillah, Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas limpahan Rahmat dan Karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Pembuatan Nanosuspensi kalsium Oksida (CaO) dari cangkang telur ayam (*Gallus gallus domesticus*) sebagai antibakteri menggunakan penstabil polyvinyl alcohol (PVA) dengan metode sonikasi”**. Tujuan penulisan skripsi ini adalah untuk memenuhi sebagian syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) bagi mahasiswa Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi di Universitas Bhakti Kencana Bandung.

Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, dan banyak kekurangan baik dalam metode penulisan maupun dalam pembahasan materi. Hal tersebut dikarenakan keterbatasan kemampuan penulis. Sehingga penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun. Mudah-mudahan dikemudian hari dapat memperbaiki segala kekurangannya.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis selalu mendapatkan bimbingan, dorongan, serta semangat dari banyak pihak. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Kedua orangtua, adik dan keluarga tercinta yang telah memberikan doa, semangat, serta dukungan baik moril maupun materil.

2. Dadih Supriadi, M. Si., Apt selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatiannya untuk memberikan masukan dan bimbingan pengarahan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
3. Garnadi Jafar, M. Si., Apt selaku dosen pembimbing serta yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatiannya untuk memberikan masukan dan bimbingan pengarahan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
4. Sahabat-sahabat terdekat yang juga selalu mendukung, memberikan semangat serta doanya.
5. Teman-teman satu pembimbing, keluarga FA1, serta rekan seperjuangan di Universitas Bhakti Kencana Bandung angkatan 2015.
6. Semua pihak yang telah membantu, yang tidak dapat penulis tuliskan satu persatu.

Akhir kata penulis mengucapkan rasa terimakasih kepada semua pihak dan apabila ada yang tidak disebutkan penulis mohon maaf, dengan besar harapan semoga skripsi yang ditulis oleh penulis ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca. Bagi para pihak yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini semoga segala amal dan kebbaikanya mendapatkan balasan yang berlimpah dari Allah SWT.

Wassalamualaikum Wr. Wb

Bandung, Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
ABSTRACT.....	ii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iii
PERUNTUKAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	3
I.3 Tujuan Penelitian.....	3
I.4 Manfaat Penelitian	3
I.5 Waktu Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Cangkang telur.....	5
II.1.1 Kandungan Cangkang Telur	5

II.1.2Lapisan Cangkang Telur.....	5
II.2 Kalsium Oksida (CaO)	7
II.2.1Definisi Kalium Oksida (CaO)	7
II.2.2Fungsi Kalsium Oksida (CaO).....	7
II.2.3Sintesis Kalsium Oksida (CaO)	8
II.3 Bakteri.....	8
II.3.1Definisi Bakteri.....	8
II.3.2Uraian Bakteri Uji	9
II.4 Antibakteri.....	10
II.4.1Definisi Antibakteri.....	10
II.4.2Metode Pengujian Antibakteri	11
II.4.3Mekanisme Kerja Antibakteri.....	13
II.5 Metode Sonikasi	13
II.6 Nanosuspensi	16
II.6.1Definisi Nanosuspensi.....	16
II.6.2 Uji Karakterisasi Nanosuspensi	17
II.6.3 Stabilitas Nanosuspensi	20
II.7 Polyvynil Alcohol (PVA)	22

BAB III METODOLOGI PENELITIAN	24
BAB IV ALAT DAN BAHAN	26
BAB V PROSEDUR KERJA.....	27
V.1 Penyiapan Bahan.....	27
V.1.1Pengumpulan Bahan	27
V.1.2Pembuatan Serbuk Cangkang Telur	27
V.2 Sintesis Kalsium Oksida (CaO)	27
V.3 Uji Karakterisasi Kalsium Oksida(CaO)	27
V.3.1Karakterisasi secara organoleptis.....	28
V.3.2Karakterisasi <i>X-Ray Diffraction</i> (XRD).....	28
V.3.3Karakterisasi <i>Particle Size Analyzer</i> (PSA).....	28
V.3.4Karakterisasi <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM).....	28
V.4 Pembuatan Nanosuspensi Kalsium Oksida (CaO)	29
V.4.1Pembuatan Suspensi Kalsium Oksida (CaO).....	29
V.4.2Optimasi waktu ultrasound pada pembuatan nanosuspensi	29
V.4.3Optimasi kadar PVA pada pembuatan nanosuspensi	29
V.5 Uji Aktivitas Antibakteri	30
V.5.1Sterilisasi Alat dan Bahan	30
V.5.2Pembuatan Media <i>Mueller Hinton Agar</i> (MHA)	30

V.5.3Peremajaan Bakteri	30
V.5.4Pembuatan Suspensi Bakteri.....	30
V.5.5Pembuatan Larutan Kontrol.....	31
V.5.6Pengerjaan Uji Aktivitas Antibakteri	31
BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
VI.1 Pengumpulan bahan dan pembuatan serbuk kalsium oksida (CaO)	33
VI.2 Sintesis Kalsium Oksida (CaO)	33
VI.3 Hasil Karakterisasi Sintesis Kalsium Oksida (CaO)	35
VI.3.1Hasil Karakterisasi Organoleptis	35
VI.3.2Hasil Karakterisasi <i>X-Ray Diffraction</i> (XRD)	36
VI.3.3Hasil Karakterisasi <i>Particle Size Analyzer</i> (PSA).....	37
VI.3.4Hasil Karakterisasi <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM).....	38
VI.4 Nanosuspensi Kalsium Oksida (CaO)	39
VI.4.1 Pembuatan Nanosuspensi Kalsium Oksida (CaO).....	39
VI.4.2Hasil Optimasi waktu ultrasound pada pembuatan nanosuspensi	40
VI.4.3Hasil Optimasi kadar PVA pada pembuatan nanosuspensi	42

VI.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	49
V.1 Kesimpulan	49
V.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50

DAFTAR LAMPIRAN

DAFTAR LAMPIRAN	xii
LAMPIRAN	55
Lampiran 1. Hasil karakterisasi Partile Size Analyzer	56
Lampiran 1.1 Hasil PSA Nanosuspensi 3 jam (dengan sentrifugasi) .	56
Lampiran 1.2 Hasil PSA Nanosuspensi 3 jam (tanpa sentrifugasi) ...	57
Lampiran 1.3 Hasil PSA Nanosuspensi 1% (dengan sentrifugasi) ...	58
Lampiran 1.4 Hasil PSA Nanosuspensi 1% (tanpa sentrifugasi)	59
Lampiran 1.5 Hasil PSA Nanosuspensi 2% (dengan sentrifugasi) ...	60
Lampiran 1.6 Hasil PSA Nanosuspensi 2% (tanpa sentrifugasi)	61
Lampiran 1.7 Hasil PSA Nanosuspensi 3% (dengan sentrifugasi) ...	62
Lampiran 1.8 Hasil PSA Nanosuspensi 3% (tanpa sentrifugasi)	63
Lampiran 1.9 Hasil PSA suspensi kalsium oksida 2% (tanpa sonikasi dan tanpa sentrifugasi)	64
Lampiran 1.10 Hasil PSA suspensi kalsium oksida 2% (tanpa sonikasi dan dengan sentrifugasi)	65
Lampiran 2. Hasil uji aktivitas antibakteri	66
Lampiran 2.1 Hasil uji aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus epidermis</i> kalsium oksida (CaO)	66
Lampiran 2.2 Hasil uji aktivitas antibakteri <i>Propionibacterium acnes</i> kalsium oksida (CaO)	66

Lampiran 2.3 Hasil uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus epidermis* nanosuspensi kalsium oksida (CaO) 67

Lampiran 2.4 Hasil uji aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes* nanosuspensi kalsium oksida (CaO) 67

Lampiran 3. Hasil analisis data uji aktivitas antibakteri kalsium oksida (CaO) dan nanosuspensi kalsium oksida (CaO) terhadap bakteri uji *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* 68

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR GAMBAR.....	xiv
Gambar II.1 Cangkang telur ayam negeri	5
Gambar II.2 Lapisan kulit telur	5
Gambar II.3.2.1 Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>	9
Gambar II.3.2.2 Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	10
Gambar II.6 Alat Sonikator.....	17
Gambar II.8 Rumus bangun PVA.....	22
Gambar VI.2 Serbuk sebelum dan sesudah kalsinasi.....	35
Gambar VI.3.1 Hasil sintesis kalsium oksida (CaO)	36
Gambar VI.3.2 Hasil Karakterisasi XRD	36
Gambar VI.3.4 Foto SEM serbuk cangkang telur hasil kalsinasi ...	39
Gambar VI.4.1 Optimasi waktu sonikasi nanosuspensi kalsium oksida (CaO)	41
Gambar VI.4.2 Optimasi kadar PVA nanosuspensi kalsium oksida (CaO)	43

DAFTAR TABEL

DAFTAR TABEL	xv
Tabel VI.2 Efisiensi massa hasil kalsinasi	34
Tabel VI.3.3 Hasil analisis <i>PSA</i>	39
Tabel VI.4.2 Data ukuran partikel dengan alat <i>PSA</i> dilihat dari diameter rata-rata dan standar deviasi sampel	43
Tabel VI.5.1 Hasil uji aktivitas antibakteri kalsium oksida (CaO) ..	46
Tabel VI.5.2 Hasil uji aktivitas antibakteri nanosuspensi kalsium oksida (CaO)	47

Bab 1 Pendahuluan

1.1 Latar Belakang Penelitian

Telur ayam negeri merupakan bahan makanan yang paling banyak dikonsumsi di Indonesia. Jumlah konsumsinya meningkat dari tahun ke tahun sehingga produksi telurnya juga meningkat. Produksi telur ayam negeri yang meningkat di masyarakat ini menunjukkan bahwa limbah cangkang telur ayam negeri yang dihasilkan juga cukup tinggi. Karena banyaknya limbah cangkang telur ayam negeri di lingkungan dan kemudahan untuk mendapatkannya, cangkang telur ayam negeri tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan material anorganik (Rahmawati dkk., 2012).

Cangkang telur merupakan bagian terluar dari telur, bagian ini menyusun 9-12% dari bobot telur. Cangkang telur merupakan limbah rumah tangga yang belum dimanfaatkan secara maksimal. Cangkang telur ayam negeri tersusun dari kalsium karbonat (CaCO_3) 94%, magnesium karbonat (MgCO_3) 1%, kalsium fosfat (CaPO_4) 1% dan 4% bahan organik. Kandungan kalsium karbonat (CaCO_3) yang tinggi dapat dimanfaatkan untuk sintesis sumber kalsium oksida (CaO) yang dapat berfungsi sebagai antimikroba (Saleha dkk., 2015).

Antimikroba adalah salah satu solusi yang digunakan untuk mengatasi penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba patogen seperti bakteri, virus, jamur, dll. Penyakit infeksi merupakan penyakit yang sudah menjadi permasalahan kesehatan di masyarakat

karena dapat dengan mudah ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia (Yulianingsih., 2012).

Menurut Dizaj dkk. (2014) Kalsium oksida (CaO) adalah salah satu jenis logam oksida yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Dari hasil penelitian yang dilakukan Roy dkk. (2013) nanopartikel Kalsium Oksida (CaO) memiliki aktivitas antimikroba dengan nilai KHM 2 mM dan KBM 4 mM pada bakteri uji *Staphylococcus epidermis*.

Penggunaan Kalsium Oksida (CaO) sebagai antibakteri dapat diaplikasikan dalam suatu sediaan nanopartikel. Sediaan nanopartikel yang umum dibuat adalah dalam bentuk nanosuspensi. Nanosuspensi adalah suspensi yang mengandung nanokristal. Pembuatan nanosuspensi dimulai dari mikronisasi 0,1 μm hingga 300 μm lalu dilanjutkan ke nanonisasi.

Metode sonikasi banyak dilakukan karna pengaruh sonikasi (ultrasonik) yang dapat menghasilkan sampel kristal partikel nanomagnetik. Metode ini menggunakan frekuensi tinggi seperti 20 kHz atau 56 kHz untuk memecah ion-ion metal dalam molekul sehingga diharapkan proses pertumbuhan kristal dapat berlangsung dengan cepat dan dapat menghindari terjadinya oksidasi pada ion-ion metal yang mengakibatkan terbentuknya partikel amorf.

Berdasarkan latar belakang diatas, dilakukan penelitian yang bertujuan untuk membuat nanosuspensi Kalsium Oksida (CaO) dari cangkang telur ayam negeri yang mengandung CaCO_3 yang telah

disintesis menjadi Kalsium Oksida (CaO) yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Metode yang digunakan adalah metode sonikasi dengan menggunakan penstabil Polyvinyl Alcohol (PVA).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah kalsium oksida (CaO) dari cangkang telur ayam negeri dapat dibuat menjadi nanosuspensi dengan penstabil Polyvinyl Alcohol (PVA) menggunakan metode sonikasi?
2. Apakah nanosuspensi kalsium oksida (CaO) dari cangkang telur ayam negeri memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Membuat nanosuspensi kalsium Oksida (CaO) dari cangkang telur ayam negeri dan penstabil Polyvinyl Alcohol (PVA) dengan menggunakan metode sonikasi.
2. Uji aktivitas antibakteri dari kalsium oksida (CaO) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini untuk memberikan informasi mengenai pembuatan nanosuspensi kalsium Oksida (CaO) dari limbah cangkang telur ayam negeri dan penstabil Polyvinyl Alcohol (PVA) dengan menggunakan metode sonikasi yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

I.5 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Universitas Bhakti Kencana Bandung yang bertempat di jalan Soekarno-Hatta No. 754, Cibiru Kabupaten Bandung. Waktu pelaksanaan penelitian mulai bulan Februari sampai Mei 2019.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.I Cangkang Telur

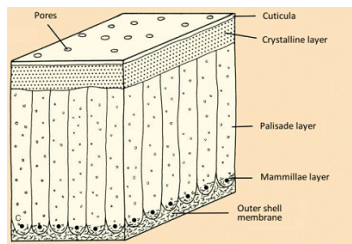
II.1.1 Kandungan Cangkang Telur

Cangkang telur merupakan bagian terluar dari telur, bagian ini mengandung 9-12% dari bobot telur. Fungsi dari cangkang telur adalah untuk melindungi semua bagian dari telur. Sebagian besar dari cangkang telur mengandung 94% kalsium karbonat (CaCO_3), 1% Magnesium karbonat (MgCO_3), 1% Kalsium Fosfat (CaPO_4) dan 4% senyawa organik. Cangkang telur dibentuk dalam pola yang berbeda dengan pori yang berguna untuk pertukaran gas (Haryono, 2018).



Gambar II.1: Cangkang telur ayam negeri

II.1.2 Lapisan Cangkang Telur



Gambar II.2: Lapisan kulit telur

Menurut Nasion (1997), Cangkang telur tersusun atas 4 lapisan utama, yaitu :

1) Lapisan kutikula (*Cuticula layer*)

Lapisan kutikula merupakan lapisan terluar dengan ketebalan berkisar antara 3-10 μm . Pada lapisan ini terdapat pori-pori yang berfungsi sebagai tempat keluarnya air dan gas CO_2 .

2) Lapisan busa (Palisade layer)

Lapisan busa merupakan bagian terbesar dari lapisan cangkang telur yang terletak dibawah lapisan kutikula. Lapisan ini terbentuk dari protein dan lapiskanapur yang terdiri dari kalsium karbonat (CaCO_3), kalsium fosfat (CaPO_4), magnesium karbonat (MgCO_3) dan senyawa organik.

3) Lapisan mamilari (*Mammilae layer*)

Lapisan mamilari merupakan lapisan sangat tipis yang tebalnya kurang lebih sepertiga dari lapisan seluruh cangkang.

4) Lapisan membrana (*Membran layer*)

Lapisan membrana merupakan bagian lapisan cangkang telur yang paling dalam dengan ketebalan kurang dari 65 μm . Lapisan ini terdiri dari dua lapisan selaput yang menyelubungi seluruh isi telur.

II.2 Kalsium Oksida (CaO)

II.2.1 Definisi Kalsium Oksida (CaO)

Kalsium oksida (CaO) adalah senyawa hasil pembakaran kalsium karbonat (CaCO₃). Senyawa ini termasuk ke dalam logam oksida. Kalsium oksida (CaO) umumnya berupa serbuk putih atau putih keabu-abuan dan tidak berbau. Kelarutan dalam air adalah 1 g/840 ml pada 25°C, 1 g/1740 ml pada 100°C. Kelarutan dalam gliserin larut, tetapi tidak larut dalam alkohol (H.Glaze., dkk 1980).

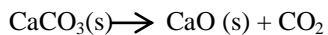
II.2.2 Fungsi Kalsium Oksida (CaO)

Menurut penelitian yang dilakukan Dijaz dkk. (2014), kalsium oksida (CaO) termasuk kedalam salah satu jenis logam oksida yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Roy dkk. (2013), nano partikel kalsium oksida (CaO) memiliki aktivitas sebagai antimikroba yang diujikan terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidiss*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida tropicalis* dengan nilai KHM secara berturut-turut 2 mM, 4 mM.

Menurut penelitian yang dilakukan Yamamotoa dkk. (2006), menyebutkan bahwa nanopartikel CaO dan MgO menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terkait dengan alkalinitas dan golongan oksigen aktif. Telah diverifikasi bahwa mekanisme antibakteri CaO dan MgO nanopartikel berdasarkan peningkatan nilai pH dengan hidrasi CaO dan MgO oleh air.

II.2.3 Sintesis Kalsium Oksida (CaO)

Kalsium oksida (CaO) dapat disintesis dari kalsium karbonat (CaCO₃) yang terkandung dalam cangkang telur yang ada pada lapisan busa (*palisade layer*). Metode yang dapat digunakan untuk mensintesis kalsium oksida (CaO) dari cangkang telur adalah kalsinasi. Proses kalsinasi dapat mengubah kalsium karbonat (CaCO₃) menjadi kalsium oksida (CaO) sesuai dengan persamaan dibawah ini :



Kalsium oksida (CaO) mulai terbentuk pada suhu sekitar 700°C. Setelah suhu 700°C, peningkatan konversi kalsium karbonat (CaCO₃) menjadi kalsium oksida (CaO) akan berlangsung secara sangat signifikan dan sekitar suhu 900°C akan tercapai kondisi kesetimbangan selama 2 jam (Haryono dkk., 2018).

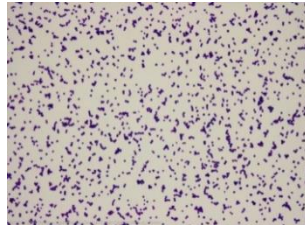
II.3 Bakteri

II.3.1 Definisi Bakteri

Bakteri merupakan suatu mikroorganisme yang termasuk kedalam sel prokariot dan uniseluler. Bentuk dari bakteri bermacam-macam diantaranya, kokus (bulat), basil (batang) dan spiral. Bakteri memiliki ukuran diameter antara 0,5 µm-1,0 µm dan panjang 1,5 µm-2,5 µm, reproduksi dilakukan dengan pembelahan secara biner. Bakteri dapat tumbuh dalam dua suhu ekstrim, pada suhu 0°C atau pada sumber air panas pada suhu 90°C atau lebih. Bakteri digolongkan menjadi dua kelompok berdasarkan perwarnaan gram yaitu gram negatif dan gram positif (Jawetz, et al., 1995).

II.3.2 Uraian Bakteri Uji

a. *Staphylococcus epidermidis*



Gambar II.3.2.1. : Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Suku	: Staphylococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Jenis	: <i>Staphylococcus epidermidis</i>

Bakteri ini merupakan bakteri gram positif yang bersifat anaerob dengan morfologisel berbentuk bola dengan diameter 1 μ m. Koloninya berwarna abu-abu hingga kuning gelap, beberapa koloni hanya dapat membentuk pigmen setelah masa inkubasi yang lama, sedangkan pigmen tidak terbentuk secara anaerob atau dalam media cair. Bakteri ini merupakan flora normal kulit yang banyak terdapat pada kulit, saluran pernafasan dan gastrointestinal manusia (Jawetz et al, 1995).

b. *Propionibacterium acnes*



Gambar II.3.2.3. : Bakteri *Propionibacterium acnes*

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Actinobacteria
Kelas	: Actinobacteridae
Bangsa	: Actinomycetales
Suku	: Propionibacteriaceae
Marga	: Pronibacterium
Jenis	: <i>Propionibacterium acnes</i>

Bakteri ini merupakan bakteri gram positif dan bersifat anaerob. Bentuk sel nya batang. Bakteri ini memiliki ukuran lebar 0,5 μm dan panjang 1,5 μm . Bakteri ini ikut serta dalam patogenesis jerawat dengan menghasilkan lipase, yang memecahkan asam lemak bebas dari lipid kulit. Asam lemak ini dapat menimbulkan radang jaringan dan ikut menyebabkan jerawat (Jawetz, et al., 1995).

II.4 Antibakteri

II.4.1 Definisi Antibakteri

Antibakteri adalah bahan atau senyawa yang dapat membasmi terutama bakteri patogen. Obat-obatan yang digunakan untuk

membasmi mikroorganisme yang menyebabkan infeksi pada manusia, hewan ataupun tumbuhan harus bersifat toksisitas selektif artinya obat atau zat tersebut harus bersifat sangat toksis terhadap mikroorganisme penyebab penyakit tetapi relatif tidak toksis terhadap jasad inang atau hospes (Djide, 2008).

Antibakteri dapat bersifat :

- a. Bakteriostatika, yaitu zat atau bahan yang dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri tetapi tidak menyebabkan kematian seluruh bakteri.
- b. Bakteriosida, yaitu zat atau bahan yang dapat membunuh mikroorganisme (bakteri) tetapi tidak menyebabkan lisis atau pecahnya sel bakteri (Djide, 2008).

II.4.2 Metode pengujian Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antibakteri.

Metode pengujian antibakteri dapat berupa :

- 1) Metode difusi (Djide, 2005)

Difusi adalah proses perpindahan molekul secara acak dari satu posisi ke posisi lain. Ada beberapa metode difusi :

- a) Metode lubang (perforasi) merupakan yang dilakukan dengan cara melubangi agar.
- b) Metode Cakram kertas merupakan metode yang dilakukan dengan cara mencampurkan zat uji dengan cakram kertas, lalu cakram kertas diletakkan diatas agar yang sudah memadat yang berisikan

suspensi mikroba dan media. Kemudian diinkubasi pada suhu kamar 25°C selama 24-72 jam untuk jamur sementara untuk bakteri dilakukan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Diameter hambatan diukur di sekitar cakram .

2) Metode tabung/Tubidimetri (Djide, 2005)

Media yang digunakan adalah media cair yang diinokulasi dengan mikroorganisme uji yang sensitive dalam tabung reaksi steril.

Metode difusi dibedakan menjadi dua :

- a) Metode pengenceran tabung merupakan metode dimana zat yang akan diuji disuspensikan dalam media yang cocok dengan menggunakan tabung steril.
- b) Metode pengenceran agar merupakan metode dimana zat yang akan diuji dicampurkan dengan agar steril yang masih mencair pada suhu 45-50°C sampai homogen dalam cawan petri steril dan dibiarkan membeku. Mikroba dioleskan pada permukaan agar dengan menggunakan ose secara merata.

3) Mikrodilusi

Merupakan metode yang menggunakan sejumlah volume kecil *broth* pada *microplate* yang memiliki *well* berbentuk bulat atau kerucut.

II.4.3 Mekanisme kerja Antibakteri

Menurut Talaro (2005), ada 4 mekanisme kerja bakteri yaitu :

- a. Menghambat sintesis dinding sel
Antibakteri menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara menghambat kerja enzim yang berperan dalam sintesis dinding sel.
- b. Mengganggu fungsi membran plasma
Antibakteri mengganggu fungsi membran plasma dengan cara berkaitan dengan membran plasma kemudian membuka membran plasma sehingga membran plasma menjadi bocor.
- c. Mengganggu sintesis asam nukleat
Antibakteri bergabung dalam sintesis asam nukleat dengan menghentikan sintesis nukleotida, menghambat replikasi DNA dan menghentikan transkripsi.
- d. Menghentikan translasi
Antibakteri menghentikan proses translasi dengan cara mengganggu kerja ribosom-mRNA. Ribosom 30S dan 50S merupakan target spesifik dari antibakteri untuk menghambat translasi

II.5 Metode Sonikasi

Sonikasi adalah suatu teknologi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik. Sonikasi dapat digunakan untuk mempercepat pelarutan suatu materi dengan memecah reaksi intermolekuler, sehingga terbentuk partikel berukuran nano. Sonikasi berarti memberi

perlakuan ultrasonik pada suatu bahan dengan kondisi tertentu, sehingga bahan tersebut mengalami reaksi kimia akibat perlakuan tersebut. Metode ini termasuk jenis metode *top down* dalam pembuatan material nano. Kelebihan dari metode *top down* adalah prosesnya cepat dan mudah, tidak membutuhkan banyak penambahan bahan kimia dan tidak mengakibatkan perubahan yang signifikan pada struktur kimia partikel dan senyawa bahan baku yang digunakan. Prosesnya dengan cara menggunakan gelombang ultrasonik yang ditembakkan ke dalam medium cair untuk menghasilkan gelembung kavitasi yang dapat membuat partikel memiliki diameter dalam skala nano (Suslick dkk., 1999).

Gelombang adalah getaran yang merambat melalui medium yang dapat berupa zat padat, cair dan gas. Gelombang terjadi karena adanya sumber getaran yang bergerak terus menerus atau gejala dimana terjadi penjaralan suatu gangguan melalui satu medium. Besaran gangguan dapat berupa medan listrik dan magnet (gelombang elektromagnetik), dapat pula berupa simpangan (gelombang tali, ombak, dll) atau dapat pula berupa perpindahan partikel (gelombang ultrasonik). Gelombang sonik (suara) merupakan gelombang mekanik longitudinal dengan frekuensi pada ambang pendengaran manusia yaitu 20 Hz-20KHz. Untuk frekuensi dibawah ambang pendengaran atau kurang dari 20 Hz disebut gelombang infrasonik dan begitu juga sebaliknya frekuensi diatas ambang pendengaran disebut gelombang ultrasonik. Gelombang ini dapat merambat dalam medium padat, cair atau gas, hal ini disebabkan karena gelombang ultrasonik merupakan rambatan energi

dan momentum sehingga merambat sebagai interaksi dengan molekul dan sifat inersia medium yang dilaluinya. (Goberman, 1968).

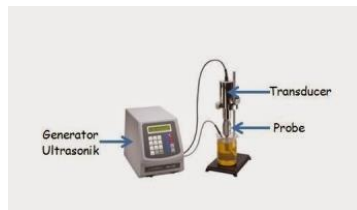
Karakteristik gelombang ultrasonik yang melalui medium mengakibatkan getaran partikel dengan medium amplitudo sejajar dengan arah rambat secara longitudinal sehingga menyebabkan partikel medium membentuk rapatan (*strain*) dan rengangan (*stress*). Proses kontinyu yang menyebabkan terjadinya rapatan dan rengangan di dalam medium disebabkan oleh getaran partikel secara periodik selama gelombang ultrasonik melaluinya (Mason dkk., 2002).

Gelombang ultrasonik bila berada di dalam medium cair akan dapat menimbulkan kavitasi akustik. Selama proses kavitasi akan terjadi *bubble collapse* (ketidakstabilan gelembung), yaitu pecahnya gelembung kecil akibat suara. Akibatnya akan terjadi peristiwa hotspot yang melibatkan energi yang sangat tinggi. Hotspot adalah pemanasan lokal yang sangat intens yaitu sekitar 5000 K dengan tekanan sekitar 1000 atm, laju pemanasan dan pendinginannya bisa sangat cepat yaitu 10^{10} K/s (Suslick dkk., 1999).

Penggunaan gelombang ultrasonik sangat efektif dalam pembuatan materi berukuran nano. Gelombang ultrasonik banyak diterapkan pada berbagai bidang seperti bidang instrumentasi, kesehatan dan sebagainya. Salah satu hal yang paling terpenting dari pengaplikasian gelombang ultrasonik adalah pemanfaatannya dalam

pembuatan bahan yang berukuran nano dengan metode emulsifikasi (Suslick dkk., 1999).

Efek ultrasonik pada polimer adalah pemutusan dan pembentukan ikatan, sehingga memungkinkan terjadi perubahan suktur. Dalam proses kavitasi terbentuk gelombang yang berasal dari salah satu fase yang didispersikan dalam fase yang lain. Pada proses sonikasi terjadi siklus perendaman gelombang dimana terjadi penurunan energi mekanik terhadap waktu dan resonansi. Hal inilah yang menyebabkan nanopartikel yang terkandung di dalamnya dapat juga terpisah satu sama lain sehingga didapatkan nanosfer dengan ukuran kecil (Nakahira dkk., 2007).



Gambar II.6 : Alat Sonikator

II.6 Nanosuspensi

II.6.1 Definisi Nanosuspensi

Nanosuspensi adalah dispersi koloidal partikel obat ukuran nano yang distabilkan oleh surfaktan. Secara definisi, nanosuspensi adalah sebuah sistem dua fase yang terdiri dari partikel tersuspensi ukurannya lebih kecil dari 1 μm yang distabilkan oleh surfaktan. Dalam 10 tahun terakhir ini telah dikembangkan pendekatan lain untuk meningkatkan kelarutan dan kecepatan pelarutan senyawa

aktif farmasi, yaitu dengan mereduksi ukuran partikel senyawa aktif farmasi sampai ke ukuran yang ada dalam rentang nanometer atau submikron. Obat yang kurang larut dalam air dapat diformulasikan dalam bentuk nanopartikel dimana dengan meningkatnya luas permukaan akan meningkatkan laju disolusi disertai dengan berkurangnya partikel obat. Membentuk kumpulan partikel yang lebih kecil dari suatu partikel yang berukuran besar dengan bantuan kosolven. Penurunan ukuran partikel tersebut berarti peningkatan luas permukaan, peningkatan kecepatan pelarutan dan dapat pula meningkatkan kelarutan senyawa aktif farmasi tersebut dalam air. Beberapa senyawa aktif farmasi dapat ditingkatkan bioavailabilitasnya setelah mereduksi ukurannya menjadi ukuran nanometer (Mauludin dkk., 2010).

II.6.2 Uji Karakterisasi Nanosuspensi

1. Karakterisasi secara organoleptis

Mengetahui morfologi dari nanosuspensi yang mempengaruhi sifat pelepasan zat aktif dari nanosuspensi tersebut. Pengamatan ini dapat dilakukan menggunakan mikroskop optic dengan perbesaran yang disesuaikan. Pengamatan kejernihan dilakukan untuk mengetahui morfologi dan ukuran dari *nanocarrier* secara visual. Partikel yang berukuran nanometer tidak dapat terlihat secara kasat mata, suspensi akan terlihat jernih dan transparan (Perdana, 2007).

2. Karakterisasi *X-Ray Diffraction* (XRD)

Teknik powder *X-Ray Diffraction* (difraksi sinar-x serbuk) menjadi sangat penting bagi saintis farmasi karena merupakan metode yang paling mudah dan cepat untuk memperoleh informasi fundamental tentang struktur zat kristal dalam bentuknya yang bisa diperoleh. Karena mayoritas senyawa obat dijumpai sebagai serbuk kristal, maka pola serbuk senyawa ini sering skali dipakai sebagai sidik jari yang segera diperoleh untuk menentukan jenis strukturnya. Prinsip dasar teknik sinar-xyaitu berkas sinar-x monokromatis yang terkolimasi terdifraksi dalam berbagai arah bila jatuh hablur yang berotasi atau serbuk hablur yang terorientasi acak. Hablur bertindak sebagai kisi-kisi difraksi tiga dimensi terhadap radiasi ini (FI IV, 1995).

3. Karakterisasi *Particle Size Analyzer* (PSA)

Analisis ukuran partikel mengukur ukuran butir atau partikel dalam sampel. *PSA* menggunakan metode seperti hamburan cahaya, sedimentasi, difraksi laser dan lain-lain untuk menghitung ukuran partikel. Analisis ukuran partikel dapat mengukur ukuran banyak partikel dalam sampel yang sangat cepat dan dapat memberikan data distribusi ukuran partikel, dimana alat ini banyak digunakan pada industri besar. Aplikasi dari instrumen difraksi laser adalah mengukur partikel dari ukuran 0,1 sampai 3000 mikron. Kebanyakan analisi difraksi laser dapat mengukur ukuran dibawah batas limit dimana itu dapat diperoleh dengan memilih sebuah instrumen dengan range batas tang lebar,

untuk resolusi perhitungan besar biasanya menggunakan instrumen yang ukuran partikel diluar dari range alat dari serbuk yang diukur. Juga dapat digunakan analisis difraksi laser untuk menghitung dispersi partikel (dimana partikel yang sama bentuk dan ukuran) antara 0,02 dan 0,1 mikron (20 dan 100 nanometer) (Mutakim, 2010).

4. Karakterisasi *Scanning Electron Microscope* (SEM)

SEM adalah salah satu jenis *microscope electron* yang menggunakan berkas elektron untuk menggambarkan bentuk permukaan dari material yang dianalisis. Prinsip kerja dari *SEM* ini adalah dengan menggambarkan permukaan benda atau material dengan berkas elektron yang dipantulkan dengan energi tinggi. Permukaan material yang disinari atau terkena berkas elektron sekunder ke segala arah. Tetapi dari semua berkas elektron yang dipantulkan terdapat satu berkas elektron yang dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Detektor didalam SEM akan mendeteksi berkas elektron berintensitas tertinggi yang dipantulkan oleh benda atau material yang dianalisis (Hastuti, 2017).

5. Zeta Potensial

Zeta potensial adalah ukuran muatan permukaan partikel yang tersebar dalam medium pendispersi. Zeta potensial biasanya digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan nanopartikel, berkaitan dengan interaksi elektrostatik nanopartikel. Interaksi elektrostatik akan

menentukan kecenderungan agregasi dan tolak menolak. Idealnya muatan potensial zeta partikel harus lebih tinggi dari pada medium pendispersi untuk mencegah agregasi.. Nanopartikel dengan zeta potensial diatas ± 30 mV lebih stabil karena muatan pada permukaan nanopartikel mencegah terjadinya agregasi antar partikel. Zeta potensial dianalisis menggunakan zeta sizer (Horiba SZ-100) (Mannuela dkk., 2016).

6. Indeks Polidispersitas

Indeks polidispersitas merupakan jumlah yang dihitung dari dua parameter sederhana untuk data kolerasi (cumulats). Nilai partikel dengan nilai PDI adalah 1 memiliki distribusi ukura yang sangat luas dan mengandung partikel besar atau agrerat yang dapat mengalami sedimentasi (Malvern Instrumen, 2005).

II.6.3 Stabilitas Nanosuspensi

a) Laju sedimentasi

Laju sedimentasi partikel bentuk bulat pada suspensi dinyatakan menurut hukum stokes.

b) Viskositas

Jika dalam suspensi proses sedimentasi tidak dapat dicegah, maka dipilih suat bahan pendispersi dengan sifat rheologis tertentu, yang tidak memungkinkan turunya setiap partikel terdispersi. Diupayakan agar proses sedimentasi atau proses lain yang dpat mempengaruhi homogenitas sediaan seperti flokulasi dapat dihambat (Voight, 1984).

c) Volume sedimentasi

Volume sedimentasi adalah suatu rasio dari volume sedimentasi akhir (V_u) terhadap volume mula-mula dari suspensi (V_0) sebelum mengendap (Voight, 1984).

d) Redispersibilitas

Redispersibilitas merupakan syarat dari suspensi, jadi sedimen yang terjadi harus lenih mudah terdispersi kembali dengan penggojokan agar diperoleh keseragaman dosis (Martin dkk, 1983).

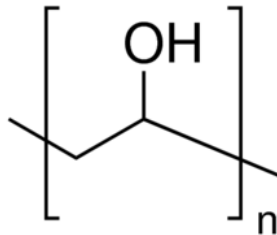
e) Mudah tidaknya dituang

Besar kecilnya kadar zat pensuspensi berpengaruh terhadap kemudahan suspensi untuk dituang. Kadar zat pensuspensi yang besar dapat menyebabkan suspensi terlalu kental dan sukar dituang (Ansel, 1989).

f) Ukuran partikel

Availabilitas fisiologis dan efek terapi dari zat aktif mungkin dipengaruhi oleh perubahan dalam ukura partikel. Ukuran partikel ditentukan secara mikroskopis. Metode ini menggunakan suspensi encer yang dihitung dengan bantuan kisi lensa okuler (Lachman dkk., 1989).

II.7 Polyvinyl Alcohol(PVA)



Gambar II.7: Rumus bangun PVA

Polivinil alkohol merupakan salah satu polimer hidrofilik berbentuk bubuk halus, bewarna putih kekuningan, tidak berbau dan memiliki densitas $1,3 \text{ gram/cm}^3$ (pada 20°C) dengan kisaran pH 3,5-7,0 (jika dilarutkan dengan konsentrasi 40 gram/liter pada 20°C). Polivinil alkohol merupakan polimer yang larut dalam air, tidak toksik, non karsinogenik, mempunyai ketercampuran hayati yang baik dan memiliki sifat fisik yang elastis, serta memiliki kemampuan yang tinggi untuk mengembang dalam air. Polivinil alkohol berbentuk padatan kering, butiran atau bubuk, memiliki bentuk film yang baik, tidak korosif, lembut dan bersifat adesif serta kekuatan tarik yang baik. Polivinil telah digunakan secara luas pada berbagai aplikasi, antara lain pelapis kertas (paper coating), pemodifikasi permukaan mengkilap (warpsizing), bahan adesif dan biomaterial, material sensitif kelembapan. polivinil alkohol diproduksi dari monomer vinil asetat (Jihar Simanjuntak., 2008).

Polivinil alkohol juga dapat menurunkan tegangan permukaan air dan berguna sebagai koloid pelindung. Tegangan permukaan larutan

polivinil alkohol bertambah seiring dengan tingkat penambahan hidrolisis, tapi hanya sedikit terpengaruh oleh tingkat polimerisasi. Larutan polivinil alkohol berubah warna menjadi kuning ketika dipasnaskan. Titik leleh polivinil alkohol untuk kelompok terhidrolisis sebagian pada kisaran 150-190°C dan untuk kelompok terhidrolisis penuh pada 210-230°C (Jihar Simanjuntak, 2008).

Bab III Metodologi Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan nanosuspensi kalsium oksida (CaO) dari limbah cangkang telur ayam negeri menggunakan penstabil Polyvinyl Alcohol (PVA) dengan menggunakan metode sonikasi yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Tahapan kerja yang dilakukan meliputi pengumpulan limbah cangkang telur ayam negeri, pembuatan serbuk cangkang telur, sintesis kalsium oksida (CaO), pembuatan nanosuspensi kalsium oksida (CaO), karakterisasi nanosuspensi kalsium oksida (CaO) dan uji aktivitas nanosuspensi kalsium oksida (CaO).

Limbah cangkang telur ayam negeri didapatkan dari pedagang nasi goreng di daerah GBI, Kota Bandung. Sebelum dilakukan pengolahan, limbah cangkang telur dibersihkan dan dicuci terlebih dahulu dengan air mengalir. Kemudian cangkang telur dikeringkan dengan oven selama 48 jam pada suhu 50°C. Cangkang telur yang sudah kering dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan menggunakan alat *grinder* dan diayak dengan ayakan mesh 100. Setelah serbuk cangkang telur diayak, serbuk di kalsinasi dengan *furnace* pada suhu 950°C selama 4 jam.

Kalsinasi dilakukan dengan tujuan untuk melepaskan seluruh senyawa organik dan pelepasan CO₂ sehingga kalsium karbonat (CaCO₃) dalam telur berubah menjadi kalsium oksida (CaO). Selanjutnya dilakukan uji karakterisasi secara organoleptis, pengujian *X-Ray diffraction* (XRD), *Particle Size Analyzer* (PSA), *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan uji aktivitas antibakteri

dengan menggunakan metode cakram kertas dengan bakteri uji yaitu *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. Uji karakterisasi dan uji aktivitas dilakukan ketika kalsium oksida (CaO) sebelum dan sudah menjadi nanosuspensi. Kemudian dilakukan analisis pengolahan data uji aktivitas kalsium oksida (CaO) dan nanosuspensi kalsium oksida (CaO) dengan menggunakan metode analisis *One Way ANOVA*.

Tahapan selanjutnya adalah pembuatan nanosuspensi Kalsium oksida (CaO) dengan pendispersi Polyvinyl alkohol (PVA) yang konsentrasinya divariasikan. Suspensi homogen Kalsium Oksida (CaO) diberi energi *ultrasound* dengan memvariasikan waktu dan kecepatan untuk membentuk nanosuspensi.