

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Polimer

Polimer merupakan suatu senyawa dengan berat molekul yang besar dan tersusun atas unit-unit kecil berulang yang disebut monomer (Stevens, 2001). Monomer-monomer ini saling terhubung satu sama lain melalui ikatan kovalen. Meskipun struktur polimer bervariasi secara luas, struktur polimer dapat dikombinasikan dengan jumlah unit-unit kecil yang berbeda; dalam banyak kasus, satu unit monomer sudah cukup untuk mewakili keseluruhan molekul polimer. Struktur polimer ini terbentuk melalui pengulangan dari satu atau beberapa monomer yang merupakan karakteristik dasar dari senyawa polimer, sehingga diistilahkan dengan “polimer” yang berarti “banyak anggota” (Flory, 1995).

1. Klasifikasi Polimer

Polimer yang terdapat di alam dapat diklasifikasikan berdasarkan kategori-kategori tertentu. Kategori-kategori tersebut adalah berdasarkan asal, bentuk struktur, sifat termal, geometri, dan fase. Berdasarkan sumbernya, polimer diklasifikasikan menjadi sebagai berikut:

a. Polimer alami (Biopolimer)

Polimer jenis ini terbentuk melalui proses alami yang terjadi di kehidupan sehari-hari, contoh yang paling banyak dijumpai adalah protein, karbohidrat dan turunannya (seperti pati, selulosa, kitin, dan kitosan), dan lain sebagainya.

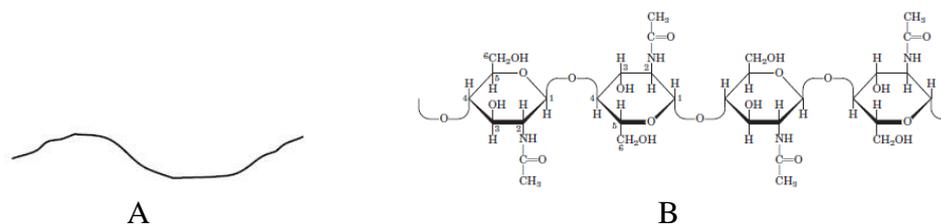
b. Polimer Sintetik

Polimer jenis ini diperoleh melalui serangkaian proses reaksi kimia. Polimer sintetik yang paling banyak ditemui adalah polipropilen, polistirena, nylon, dan lain-lain (Stevano, 2013).

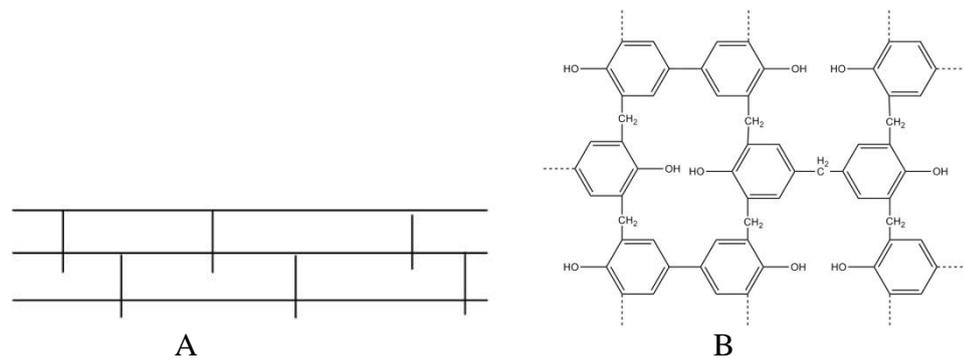
Berdasarkan struktur dari rantainya, polimer dapat dibedakan menjadi tiga jenis, yaitu:

a. Polimer Rantai Lurus

Polimer jenis ini memiliki bentuk rantai yang tersusun dari monomer-monomer yang saling berikatan membentuk suatu rantai lurus. Adapun gambar struktur dari polimer rantai lurus ditunjukkan oleh gambar 1.A. Contoh dari polimer rantai lurus adalah kitin, strukturnya ditunjukkan oleh gambar 1.B.



Gambar 1. Struktur polimer rantai lurus (A) (Stevano, 2013) dan struktur kitin (B) (Nelson *et al.*, 2004)



Gambar 3. Struktur polimer jaringan (A) (Stevano, 2013) dan struktur bakelit (B)

Berdasarkan sifat termal dari polimer tersebut, maka polimer dibedakan menjadi dua jenis, yaitu:

a. Polimer Termoplastik

Jika dipanaskan, polimer jenis ini bersifat lunak dan meleleh (*viscous*) dan saat didinginkan akan menjadi kaku (*rigid*). Contoh yang paling sering ditemui adalah polietilen, polipropilen, dan lain-lain.

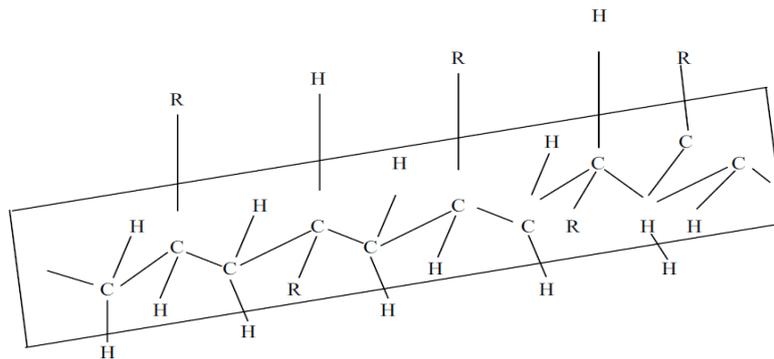
b. Polimer Termoset

Polimer termoset merupakan polimer yang akan melebur ketika dipanaskan dan ketika didinginkan akan mengeras secara permanen. Polimer ini memiliki bentuk struktur tiga dimensi (jaringan) sehingga polimer ini memiliki sifat lebih kaku (*rigid*) (Rahmat, 2008).

Berdasarkan geometrinya, polimer diklasifikasikan menjadi tiga jenis, yaitu:

a. Sindiotaktik

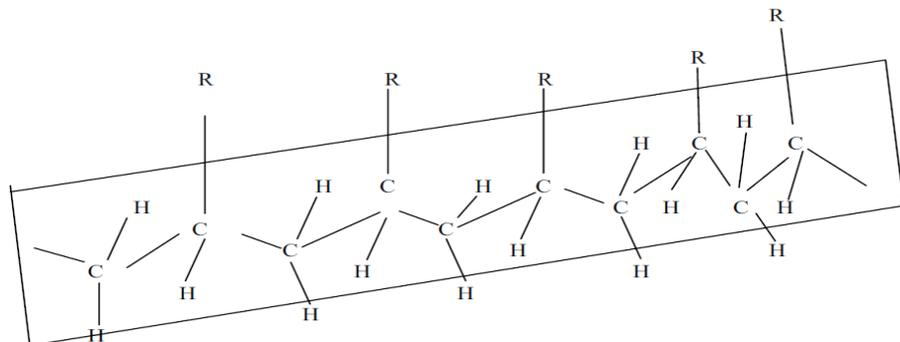
Polimer jenis ini memiliki konfigurasi yang selang-seling antara monomer satu dengan monomer lainnya. Adapun struktur dari polimer sindiotaktik ini ditunjukkan pada gambar 4. berikut ini.



Gambar 4. Polimer Sindiotaktik (Stevens, 2001)

b. Isotaktik

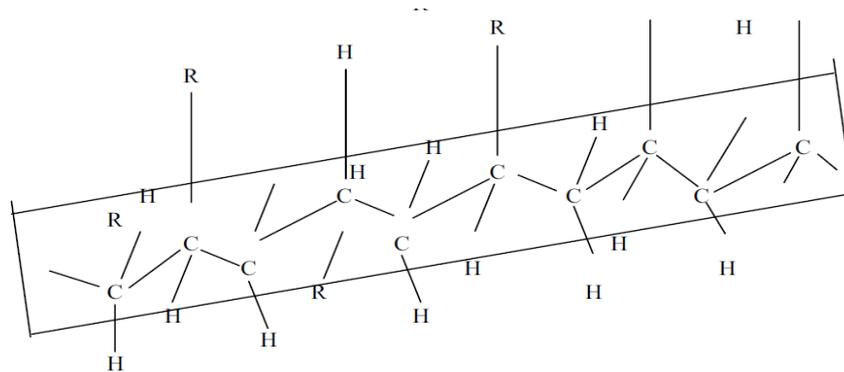
Konfigurasi pada polimer ini sejajar antara monomer satu dengan monomer lainnya. Struktur dari polimer isotaktik dapat dilihat pada gambar 5. di bawah ini.



Gambar 5. Polimer Isotaktik (Stevens, 2001)

c. Ataktik

Konfigurasi pada polimer ini tidak teratur atau acak antara monomer satu dengan monomer lainnya. Struktur polimer ataktik ini dapat ditunjukkan oleh gambar 6. di bawah ini.



Gambar 6. Polimer Ataktik (Stevens, 2001)

Dan yang terakhir berdasarkan fasenya, polimer dibedakan menjadi tiga jenis, yaitu:

a. Amorf

Polimer ini memiliki susunan yang tidak teratur dan memiliki suhu *transition glass* (T_g). Contoh dari fase amorf ini adalah karet dan polietena yang dapat dijumpai dalam kehidupan sehari-hari.

b. Kristalin

Polimer ini memiliki susunan rantai yang teratur dan memiliki titik leleh (*melting point*). Contohnya yang dapat ditemui dalam kehidupan sehari-hari adalah pati, selulosa, dan lain-lain (Stevano, 2013).

2. Reaksi Polimerisasi

Reaksi polimerisasi merupakan suatu reaksi pembentukan polimer dengan cara menggabungkan berbagai monomer-monomer baik yang sejenis maupun yang tidak sejenis. Adapun reaksi polimerisasi dibedakan menjadi 2 jenis adalah yakni polimerisasi adisi dan polimerisasi kondensasi.

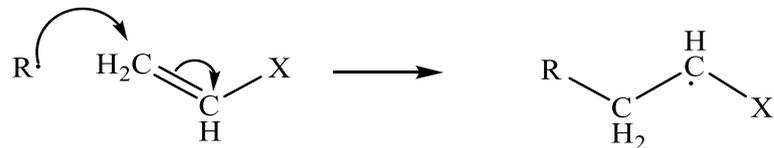
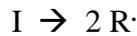
Polimerisasi Adisi

Polimerisasi adisi merupakan reaksi polimerisasi yang melibatkan pemutusan ikatan rangkap pada monomer-monomer yang akan bergabung menjadi suatu polimer. Reaksi polimerisasi ini menggabungkan monomer-monomer penyusun polimer ini sehingga menjadi suatu rantai polimer yang sangat panjang. Monomer-monomer ini biasanya merupakan suatu senyawa yang memiliki ikatan rangkap yang kemudian akan bereaksi dengan inisiator (radikal bebas) dan membentuk suatu spesi aktif. Spesi aktif ini selanjutnya akan bereaksi dengan monomer lain untuk membentuk suatu polimer adisi dengan cara memindahkan gugus aktif ke ujung rantai polimer. Gugus aktif ini juga dapat bereaksi cepat dengan atom atau molekul lain yang tidak diharapkan. Tahapan reaksi polimerisasi adalah sebagai berikut:

Inisiasi

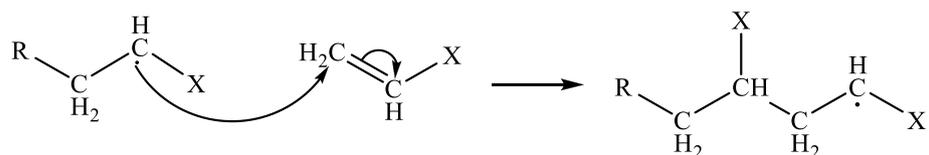
Tahap ini merupakan tahap pembentukan radikal bebas yang berasal dari pemicu (inisiator) yang terdekomposisi. Radikal bebas ini kemudian akan langsung menyerang ikatan rangkap pada monomer

menghasilkan suatu spesi aktif yang dapat menjadi pemicu terjadinya reaksi polimerisasi adisi. Reaksi dari tahap ini adalah sebagai berikut:



Propagasi

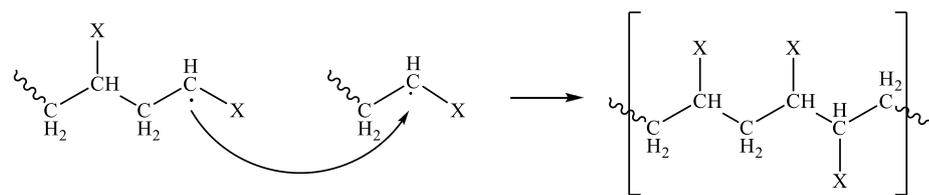
Setelah radikal bebas terbentuk pada tahap inisiasi, kemudian radikal bebas ini akan menyerang seluruh monomer yang ada dan membentuk suatu rangkaian karbon yang sangat panjang dan berlangsung terus menerus dan akan berhenti hingga tahapan penghentian reaksi terjadi. Tahapan ini disebut tahapan propagasi. Reaksi dari tahapan ini adalah sebagai berikut:



Terminasi

Pada tahapan ini, reaksi propagasi akan dihentikan. Tahapan ini terjadi hingga seluruh monomer telah habis bereaksi. Bila konsentrasi monomer sistem menurun kemungkinan reaksi antara pusat aktif dengan monomer menjadi kecil. Sebaliknya, pusat aktif akan cenderung berinteraksi satu sama lain dengan spesies lain dalam sistem

membentuk polimer yang mantap. Disamping ketiga reaksi di atas, proses polimerisasi radikal selalu diikuti proses lain yang melibatkan interaksi radikal dengan molekul di sekitar pelarut, aditif bahkan monomer. Interaksi ini dikenal dengan proses alih rantai dan membentuk radikal baru yang mantap. Reaksi dari tahapan terminasi ini adalah sebagai berikut: (Cowd, 1991).



Polimerisasi Kondensasi

Polimerisasi kondensasi merupakan suatu reaksi polimerisasi yang melibatkan gugus-gugus fungsi yang terdapat pada monomer-monomer penyusun polimer. Reaksi ini akan menghasilkan suatu polimer berantai panjang dan disertai dengan pelepasan molekul air melalui reaksi kondensasi. Reaksi kondensasi ini dapat menghasilkan suatu produk polimer yang *rigid* dan memiliki struktur 3D yang kompleks (Stevano, 2013).

B. Nanopartikel dan Nanoteknologi

Nanopartikel merupakan partikel koloid padat yang memiliki ukuran sekitar 1-100 nm. Nanopartikel ini sendiri terdiri dari makro molekul material yang direduksi secara *top down* maupun secara *bottom up*. *Top down* mengacu pada pembentukan nanopartikel dari *bulk* kemudian menjadi serbuk dan menjadi nanopartikel. Sedangkan *bottom up* mengacu pada pembentukan nanopartikel

dari partikel atom menjadi molekul lalu menjadi nanopartikel (Allemann, 1993).

Menurut Nagavarma *et al.*, (2012), nanopartikel polimer merupakan nanopartikel yang banyak dibuat dan memiliki peran penting dalam bidang elektronik, fotonik, material konduktor, sensor, obat-obatan, bioteknologi, serta teknologi penanganan polusi dan lingkungan. Nanopartikel ini sangat efektif digunakan untuk membawa obat-obatan, protein, dan DNA ke dalam sel dan organ target.

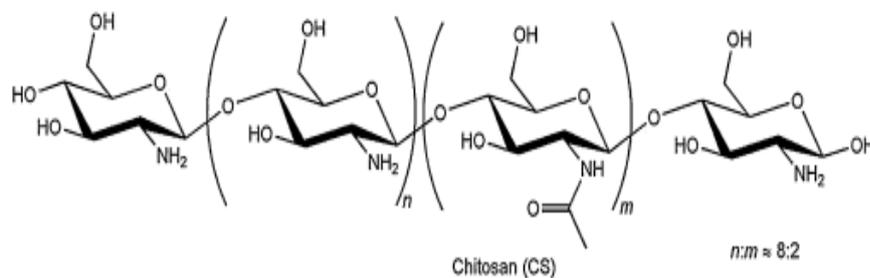
Nanoteknologi adalah ilmu yang mempelajari tentang desain, fabrikasi, dan penggunaan material, struktur, dan peralatan dengan ukuran dibawah 100 nm. Satu nm sepadan dengan 1×10^{-9} meter atau 50.000 kali lebih kecil dari diameter rambut manusia. Para peneliti mengambil acuan pada dimensi 1-100 nm sebagai *nanoscale*, dan material dalam skala ini disebut nanomaterial. *Nanoscale* ini unik karena banyak dari mekanisme biologi dan fisik bekerja pada skala 0,1-100 nm. Rentang ukuran ini memperlihatkan fungsi fisiologi yang berbeda-beda, sehingga banyak peneliti mengharapkan efek *novel* terjadi pada kisaran *nanoscale* yang akan menjadi sebuah penemuan dan terobosan baru dalam teknologi (Winarti, 2013).

Nanopartikel biasa digunakan dalam sistem penghantaran obat yang ada di dalam bidang farmasi. Hal ini disebabkan karena ukuran partikel yang sangat kecil dari nanopartikel dan sifat permukaannya yang dapat diatur dan diubah dengan mudah. Hal ini yang membuat nanopartikel dapat mengatur dan menahan pelepasan zat aktif selama obat tersebut bekerja sehingga dapat

meningkatkan efek dari obat tersebut dan juga mengurangi efek samping. Dengan nanopartikel ini, pelepasan obat dapat diatur dengan cara memilih matriks penyusun yang tepat sehingga dapat menghasilkan sistem pelepasan yang berbeda-beda (Rawat *et al.*, 2006).

C. Kitosan

Kitosan merupakan suatu biopolimer yang memiliki struktur lurus dan tersusun atas 2000-3000 monomer N-Glukosamin dalam ikatan β -(1-4). Kitosan diperoleh melalui proses deasetilasi kitin dengan basa kuat seperti NaOH atau KOH. Kitin merupakan senyawa penyusun pada kulit hewan *crustacea* (Hendri, 2013). Adapun struktur kitosan ditunjukkan oleh gambar 7. berikut ini.



Gambar 7. Struktur Kitosan (Rodrigues *et al.*, 2012)

1. Isolasi Kitosan

Kitosan diisolasi melalui kitin yang telah diperoleh dari kulit udang yang telah dibersihkan dan dihaluskan. Proses pembuatan kitin ini melibatkan 3 tahapan, yaitu:

Tahap deproteinasi

Tahapan ini merupakan proses penghilangan protein dari kitin dengan menggunakan larutan NaOH 20% dan dipanaskan pada suhu 90°C selama 60 menit. Hal ini diperlukan karena kitin memiliki kadar protein sebanyak 30-35% (Peter, 1995). Protein yang dihilangkan akan bereaksi dengan NaOH membentuk Na-proteinat dan ketika diuji dengan menggunakan CuSO₄ akan menghasilkan larutan kompleks berwarna ungu pekat.

Tahap demineralisasi

Tahapan ini bertujuan untuk menghilangkan mineral-mineral pada kitin dengan menggunakan larutan HCl 1,25 N dan dipanaskan pada suhu 90°C selama 90 menit. Mineral-mineral utama yang terkandung dalam kitin adalah kalsium fosfat, kalsium karbonat, dan magnesium karbonat. Mineral-mineral ini akan bereaksi dengan HCl menghasilkan garam CaCl₂ dan MgCl₂. Garam-garam yang terbentuk diuji dengan amonium oksalat menghasilkan endapan putih keruh (Hendri, 2013).

Tahap depigmentasi

Tahapan ini berfungsi untuk menghilangkan zat warna yang berada pada kitin dengan menggunakan aseton hingga warnanya menghilang dan dikeringkan. Setelah itu, sampel diputihkan dengan NaOCl 0,5% selama 10 menit. Menurut Hendri, dkk (2005) zat warna yang terkandung dalam kulit udang adalah astakantin dan karotenoid.

Produk yang dihasilkan dari ketiga tahapan tersebut adalah kitin. Pembuatan kitosan dapat dilakukan dengan cara penghilangan gugus asetil pada kitin menjadi gugus $-NH_2$ dengan menggunakan basa kuat. Proses deasetilasi kitosan biasanya menggunakan larutan NaOH 40-60% pada suhu yang tinggi yaitu berkisar 100-150°C. Hal ini disebabkan karena kitin memiliki struktur yang panjang dan ikatan antara ion nitrogen dan gugus asetil yang kuat (Pramudita, 2013).

2. Sifat Kimia Fisika Kitosan

Kitosan merupakan turunan kitin yang paling bermanfaat, hal ini dikarenakan kitosan memiliki sifat polielektrolit, berat molekul yang tinggi (sekitar $1,2 \times 10^6$ Dalton), keberadaan gugus fungsional, kemampuan membentuk gel, dan kemampuan mengadsorpsi. Selain itu, kitosan juga dapat dimodifikasi baik secara kimia maupun enzimatik. Terdapat 2 parameter yang dapat mempengaruhi kelarutan, sifat-sifat fisikokimia, sifat biokompatibilitas, dan aktivitas imunitas suatu kitosan, dua parameter tersebut adalah berat molekul dan tingkat deasetilasi (Utami, 2014).

Menurut Knorr (1984), banyaknya gugus asetil yang dapat dihilangkan dari rendemen kitosan dinyatakan dalam derajat deasetilasi. Kualitas dari suatu kitosan ditentukan oleh derajat deasetilasinya. Semakin besar derajat deasetilasi kitosan, maka kualitas kitosan tersebut akan semakin bagus. Besarnya derajat deasetilasi pada kitosan tergantung dari proses deasetilasi yang dijalankan (Suhardi, 1992).

Kitosan tidak larut dalam air, namun larut dengan baik dalam larutan asam organik seperti, asam asetat, asam format, dan asam sitrat (Mekawati dkk, 2000). Kitosan juga tidak larut dalam basa kuat, asam mineral, dan beberapa pelarut organik (alkohol, aseton, dimetil formamida, dan dimetil sulfoksida) (Hendri, 2013).

Kitosan akan larut dalam larutan asam organik dengan pH di bawah 6. Semakin rendah nilai pH, maka kelarutan kitosan akan meningkat. Hal ini disebabkan karena gugus amino pada kitosan akan mendapatkan donor proton (terprotonasi) yang berasal dari molekul asam sehingga menjadi polielektrolit kationik yang akan berinteraksi dengan muatan negatif. Namun, jika pH meningkat, maka gugus amino pada kitosan akan mengalami deprotonasi dan menghasilkan polimer yang tidak larut dan bermuatan netral.

Kitosan memiliki sifat *biodegradable* dan *biocompatible* yang akan mudah terdegradasi secara biologis dan tidak beracun. Kitosan dengan mudah membentuk membran atau film atau gel. Pembentukan gel ini terjadi pada medium asam yang disebabkan oleh sifat kationik kitosan. Semakin besar berat molekul kitosan dan semakin rendah pH, maka nilai viskositas (kekentalan) gel kitosan akan mengalami peningkatan (Zhang *et al.*, 2004).

Kitosan merupakan salah satu polimer alam yang paling sering digunakan dalam produksi *nanomedicines*, karena kitosan memiliki karakteristik yang baik sebagai media penghantaran obat dan efektif ketika dijadikan bentuk nanopartikel. Sifat-sifat seperti kationik dan kelarutannya dalam medium berair

menjadi faktor yang menentukan kesuksesan dari polisakarida ini (Janes *et al.*, 2001).

Adapun sifat-sifat biologi dan kimiawi dari kitosan ditunjukkan oleh Tabel 1.

Tabel 1. Sifat biologis dan kimiawi kitosan

Sifat Biologis	Sifat Kimiawi
1. Polimer alami, biokompatibel	1. Poliamina kationik dengan densitas muatan yang tinggi pada pH <6,5
2. <i>Biodegradable</i> oleh unsur tubuh normal	2. Berat molekul tinggi
3. Aman dan non toksik	3. Polielektrolit linear
4. Melekat pada mukosa	4. Kondensasi asam nukleat
5. Hemostatik	5. Khelat beberapa logam transisional
6. Antimikrobal dan antiviral	6. Mudah dimodifikasi secara kimiawi
7. Antitumoral	7. Gugus amino/hidroksi reaktif
8. Mempunyai aktivitas <i>immunoadjuvan</i>	
9. Biaya terjangkau dan serbaguna	

(Hejazi, 2003).

3. Penentuan Derajat Deasetilasi Kitosan dengan Menggunakan *Fourier Transformed Infra Red (FTIR)*

Derajat deasetilasi kitosan dapat ditentukan dengan menggunakan FTIR. FTIR merupakan suatu teknik analisis yang digunakan untuk melihat atom-atom dalam sebuah molekul melalui vibrasi-vibrasi yang ditimbulkan oleh atom tersebut. Untuk dapat melihat atom-atom tersebut diperlukan suatu spektrum IR yang diperoleh dengan cara menembakkan radiasi sinar infra merah ke sampel menentukan fraksi apa yang terjadi saat melewati radiasi yang terabsorpsi dengan energi khusus. Energi yang terdapat pada beberapa puncak dalam sebuah spektrum absorpsi menunjukkan kecocokan terhadap frekuensi pada vibrasi dari sebagian molekul sampel (Ayyad, 2011).

Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (FTIR) telah menggantikan instrumen-instrumen pendispersi lainnya pada banyak aplikasi karena sensitivitas dan kecepatannya yang tinggi. FTIR memiliki kemampuan hebat secara luas yang telah diaplikasikan dalam beberapa area yang sangat sulit dan hampir tidak mungkin untuk dianalisis oleh instrumen-instrumen pendispersi lainnya.

Prinsip dasar dari analisis spektrofotometri IR adalah penyerapan radiasi elektromagnetik oleh gugus-gugus fungsi tertentu, sehingga dari spektrum serapan yang terbaca kita mampu mengetahui gugus fungsi apa saja yang terdapat pada suatu senyawa. Bila sinar inframerah dilewatkan melalui sebuah cuplikan, maka sejumlah frekuensi diserap oleh cuplikan tersebut dan frekuensi lainnya diteruskan atau ditransmisikan tanpa adanya penyerapan. Hubungan antara persen absorbansi dengan frekuensi maka akan dihasilkan sebuah spektrum inframerah (Hardjono, 1990).

Pada analisis dengan spektrofotometer FTIR diharapkan terlihat pita serapan melebar dengan intensitas kuat pada daerah $3500\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan karakteristik vibrasi ulur OH, pita serapan di atas 3300 cm^{-1} yang menunjukkan karakteristik vibrasi ulur NH amina. Pita serapan lainnya yang menunjukkan adanya vibrasi NH amina yaitu pada daerah $1650\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan vibrasi tekuk NH_2 (amina primer), diharapkan muncul pita serapan pada daerah $1250\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan vibrasi ulur CN, pita serapan pada daerah $3000\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan karakteristik vibrasi ulur CH, pita serapan lainnya pada daerah $1470\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan

vibrasi tekuk CH, dan pita serapan pada daerah 1250-970 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi tekuk C-O (Hendri, 2007).

Adanya kehadiran analisis menggunakan Spektrofotometri Inframerah saat ini secara keseluruhan memberikan dua keuntungan utama dari metode konvensional lainnya, yaitu :

- a. Mampu digunakan pada semua frekuensi dari sumber cahaya secara bersamaan sehingga analisis dapat dilakukan lebih cepat daripada menggunakan metode sekuensial atau *scanning*.
- b. Analisis menggunakan metode spektrofotometri FTIR memiliki sensitivitas yang lebih besar daripada metode dispersi. Hal ini dikarenakan radiasi yang masuk ke sistem detektor lebih banyak karena tanpa harus melalui celah (*slitless*) terlebih dahulu (Hsu, 1994).

Derajat deasetilasi kitosan ditentukan dengan menggunakan metode garis dasar atau *baseline*. Metode garis dasar ini terdapat 2 jenis yaitu; metode *baseline A* (Domzy dan Roberts, 1985) dan metode *baseline B* (Baxter *et al.*, 1992).

Metode *baseline A* dapat digunakan untuk penentuan derajat deasetilasi kitosan dengan cara membandingkan absorbansi pada bilangan gelombang 1655 cm^{-1} dengan absorbansi pada bilangan gelombang 3455 cm^{-1} dan mengalikannya dengan suatu faktor yang bernilai 100/1,33. Maka rumus penentuan derajat deasetilasi kitosan dengan menggunakan metode *baseline A* adalah sebagai berikut:

$$\%DD = 100 - \left[\frac{A_{1655}}{A_{3455}} \times \frac{100}{1,33} \right]$$

Metode *baseline* B digunakan dengan cara membandingkan absorbansi pada bilangan gelombang 1655 cm^{-1} dengan absorbansi pada bilangan gelombang 3455 cm^{-1} dan mengalikannya dengan suatu faktor yang bernilai 115. Adapun rumus penentuan derajat deasetilasi kitosan dengan metode *baseline* B adalah sebagai berikut:

$$\%DD = 100 - \left[\frac{A_{1655}}{A_{3455}} \times 115 \right]$$

(Sabnis *and* Block, 1997).

4. Aplikasi Kitosan

Berdasarkan atas sifatnya, kitosan memiliki aplikasi yang memungkinkan dalam berbagai bidang seperti bidang kedokteran, perlakuan dalam limbah air, kosmetik, pasta gigi, makanan, pertanian, kertas, dan industri tekstil. Dalam industri tekstil kitosan ditemukan dalam pemanfaatannya pada produksi utama serat (berguna sebagai benang pembedahan, pembalut luka dan lain-lain).

Kitosan juga ditemukan bermanfaat dalam pembuatan *wool* yang akan meminimalisir permasalahan dalam kenyamanan menggunakan *wool*. Sifat *bioadhesive* dan struktur kationik dari kitosan inilah yang memampukan untuk melekat kuat pada serat dan mencegah serat menjadi kusut. Sedangkan berdasarkan atas sifat antibakterialnya, kitosan mampu mencegah pakaian dari bau busuk yang disebabkan oleh bakteri (Chattopadhyay, 2010).

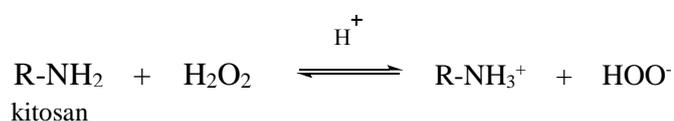
Secara khusus kitosan digunakan untuk preparasi *mucoadhesive* yang berperan untuk meningkatkan kelarutan bagi obat yang sulit untuk larut di dalam tubuh. Kelarutan dari kitosan itulah yang berpengaruh dalam penggunaannya sebagai media penghantaran obat (Muzarelli, 1996).

D. Reaksi Degradasi Kitosan dengan H₂O₂

Berat molekul dari kitosan akan sangat mempengaruhi ukuran nanopartikel kitosan yang akan dibuat. Maka dari itu, diperlukan suatu reaksi degradasi untuk membentuk kitosan dengan berat molekul rendah atau yang disebut dengan LWCS (*Low Molecular Weight Chitosan*). LWCS ini memiliki efek yang lebih baik terhadap pembuatan nanopartikel kitosan dibandingkan dengan kitosan biasa. Semakin kecil berat molekul kitosan maka ukuran nanopartikel kitosan akan semakin kecil (Yang *et al.*, 2009).

Banyak cara yang dapat dilakukan untuk membuat LWCS ini, seperti salah satunya adalah degradasi kimiawi dengan zat oksidator kuat seperti H₂O₂. Zat ini dapat memutus ikatan glikosidik pada kitosan sehingga kitosan dapat menjadi LWCS. Sejumlah kecil hidrogen peroksida saja dapat mengurangi berat molekul kitosan. Semakin besar konsentrasi hidrogen peroksida, maka semakin kecil berat molekul kitosan yang didapat. Ketika konsentrasi H₂O₂ diatas 0,5 M, maka produk utamanya adalah LWCS.

Mekanisme dari degradasi kitosan ini dapat diamati pada reaksi di bawah ini:



Anion HOO⁻ ini sangat tidak stabil dan mudah terdekomposisi menjadi radikal hidroksil (OH[·]) yang sangat reaktif. Selama proses reaksi degradasi, kitosan bereaksi dengan ion H⁺ untuk memproduksi R-NH₃⁺ dimana akan menyebabkan kenaikan pH. Kemudian ion HOO⁻ akan terdekomposisi menjadi

radikal OH[·] yang kemudian dapat membentuk produk yang larut dalam air dengan berat molekul yang rendah (Tian *et al.*, 2004).

E. Nanopartikel Kitosan

Nanopartikel kitosan merupakan partikel kitosan yang berukuran pada kisaran 1-100 nm. Nanopartikel kitosan ini sangat baik digunakan untuk media penghantar obat. Partikel kitosan yang dibuat berukuran nano ini dapat meningkatkan kemampuan penghantaran dari kitosan, memiliki stabilitas yang tinggi, dan meningkatkan adsorpsi kitosan (Fan *et al.*, 2012).

1. Pembuatan Nanopartikel Kitosan

Nanopartikel kitosan pertama kali diperkenalkan oleh ilmuwan yang bernama Ohya dan para pekerjanya pada tahun 1994. Pada saat itu, nanopartikel kitosan dibuat dengan bertujuan untuk menghantarkan suatu zat anti kanker yang bernama 5-Fluorouacil ke dalam pembuluh darah. Sejak saat itulah, mulai berkembang metode pembuatan kitosan yang dilakukan oleh para ahli untuk mempelajari sistem penghantaran obat dengan menggunakan nanopartikel kitosan (Grenha, 2012).

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, telah banyak sekali dilakukan pembuatan nanopartikel kitosan dengan berbagai macam metode yang berbeda. Ada terdapat 3 metode yang paling sering dilakukan dalam pembuatan nanopartikel kitosan, antara lain:

a. Metode Mikroemulsi

Pada metode ini, kitosan awalnya dilarutkan dalam glutaraldehid. Hal ini akan menyebabkan gugus amino pada kitosan akan membentuk ikatan sambung-silang (*cross-linking*) dengan gugus aldehid pada glutaraldehid. Kemudian larutan kitosan-glutaraldehid ini dimasukkan ke dalam campuran surfaktan-heksana sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu kamar. Pengadukan ini dilakukan selama semalam untuk menyempurnakan proses *cross-linking* yang berlangsung, sehingga nanopartikel kitosan akan mulai terbentuk. Pelarut organik yang terdapat dalam sampel diuapkan dan surfaktan dihilangkan dengan cara pengendapan bersama CaCl_2 dan presipitan dipisahkan melalui proses sentrifugasi. Kemudian suspensi nanopartikel diliofilisasi (*freeze-drying*). Metode ini dapat menghasilkan nanopartikel kitosan dengan ukuran di bawah 100 nm dan ukurannya dapat diatur melalui glutaraldehid yang divariasikan untuk mengubah derajat *cross-linking*. Namun, metode ini memiliki kekurangan yaitu penggunaan pelarut organik, waktu preparasi yang lama, dan proses pencucian yang rumit (Kurniawan, 2012).

b. Metode Emulsifikasi Difusi Pelarut

Hal spesifik dalam preparasi nanopartikel dengan menggunakan metode ini adalah penambahan fase organik seperti campuran metilen klorida-aseton yang mengandung gugus hidrofobik ke dalam campuran kitosan dengan *stabilizer* (*poloxamer* dan lesitin) sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Ini akan membentuk emulsi minyak/air yang akan dihomogenisasi pada tekanan tinggi. Kemudian metilen klorida akan dihilangkan dengan cara

mengurangi tekanan pada suhu kamar. Pada tahap ini, aseton akan terdifusi ke fase encer yang akan mengurangi kelarutan dari kitosan, sehingga nanopartikel kitosan akan terbentuk melalui pengendapan. Untuk meningkatkan difusi aseton, biasanya dilakukan penambahan air. Kelemahan dari metode ini adalah penggunaan pelarut organik dan diperlukannya tekanan tinggi dalam proses preparasi.

c. Metode Gelasi Ionik dan Komplek Polielektrolit

Kitosan memiliki gugus amino yang memiliki derajat protonasi yang cukup tinggi dalam asam, hal ini menyebabkan kitosan memiliki kemampuan untuk membentuk hidrogel dengan adanya polianion yang spesifik. Proses ini disebabkan karena adanya ikatan sambung-silang intermolekular dan intramolekular yang dilakukan oleh molekul anion. Metode gelasi ionik dan kompleks polielektrolit menggunakan prinsip ini untuk membentuk nanopartikel kitosan. Metode gelasi ionik ini sangat lebih disukai oleh para peneliti karena proses gelasi kitosan ini dapat mengurangi ukuran partikel kitosan dengan kehadiran molekul anion kecil seperti; fosfat, sulfat, dan sitrat. Sedangkan kompleks polielektrolit dilakukan jika dalam proses pembuatan nanopartikel kitosan tersebut digunakan molekul anion yang besar. Metode gelasi ionik meliputi interaksi ionik antara muatan positif gugus amino pada kitosan dengan muatan negatif pada polianion. Polianion yang paling sering digunakan dalam metode gelasi ionik ini adalah tripolifosfat (TPP) yang juga berperan sebagai *cross-linker*. Nanopartikel akan terbentuk kira-kira setelah penambahan larutan TPP ke dalam larutan kitosan sambil diaduk dengan

kecepatan pengadukan yang ringan pada suhu kamar. Pengadukan dipertahankan selama 10 menit agar proses *cross-linking* dapat berlangsung sempurna dan juga untuk menstabilkan nanopartikel yang telah terbentuk. Suspensi nanopartikel yang telah diperoleh kemudian disentrifuse untuk memisahkan nanopartikel dari kitosan dan TPP yang tidak bereaksi. Kemudian nanopartikel dipisahkan dari filtrat dan dikeringkan (Grenha, 2012).

2. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pembuatan Nanopartikel Kitosan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fan *et al.*, (2012) bahwa terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ukuran nanopartikel kitosan dalam proses pembuatannya dengan metode gelasi ionik. Faktor-faktor tersebut antara lain:

a. Pengaruh Konsentrasi Larutan Kitosan dan TPP

Ukuran nanopartikel kitosan akan semakin mengecil apabila konsentrasi larutan kitosan dan TPP yang digunakan juga kecil. Setelah dilakukan penelitian, pembentukan nanopartikel kitosan dapat terjadi jika konsentrasi larutan kitosan yang digunakan di bawah 1,5 mg/mL dan konsentrasi larutan TPP di bawah 1,0 mg/mL. Pada rentang konsentrasi ini, konsentrasi larutan kitosan dan TPP akan memiliki pengaruh yang kecil terhadap monodispersitas dari nanopartikel kitosan. Telah diketahui pula bahwa dalam keadaan asam, molekul kitosan memiliki gaya tolakan elektrostatik yang dikarenakan oleh gugus amino yang terprotonasi pada kitosan. Disamping itu, terdapat juga interaksi hidrogen intermolekular pada kitosan tersebut. Jika larutan kitosan

yang digunakan memiliki konsentrasi di bawah 1,5 mg/mL, maka gaya tarik-menarik dari ikatan hidrogen intermolekular dan gaya tolakan elektrostatis pada kitosan ini berada dalam kesetimbangan, sehingga molekul kitosan akan mendekat satu sama lain secara terbatas yang mengakibatkan terjadinya peningkatan yang terbatas pada ikatan sambung-silang intermolekular, memang lebih besar namun dapat membentuk partikel-partikel berukuran nano.

b. Pengaruh Perbandingan Massa antara Kitosan dan TPP

Telah diketahui bahwa perbandingan massa antara kitosan dan TPP juga memberikan pengaruh yang begitu signifikan. Semakin kecil perbandingan massa antara kitosan dan TPP (dari 4:1 ke 2,9:1) yang dimasukkan maka ukuran nanopartikel kitosan akan menurun. Namun, penurunan ukuran nanopartikel ini tidak mutlak terjadi, pada satu kondisi (pada perbandingan dibawah 3,03:1) ukuran nanopartikel ini meningkat secara dramatis. Pada perbandingan massa di atas 4:1, Larutan reaksi akan menjadi berwarna jernih yang menandakan bahwa volume TPP tidak memadai untuk melakukan reaksi *cross-linking* dengan kitosan sehingga pembentukan nanopartikel kitosan tidak terjadi secara sempurna. Ketika perbandingan massa diperkecil (volume TPP bertambah) ukuran nanopartikel kitosan akan berkurang dikarenakan meningkatnya densitas *cross-linking* antara kitosan dan TPP. Ketika perbandingan massanya lebih rendah dari 3,03:1, maka kitosan sudah ter-*cross-linking* seluruhnya dan kelebihan TPP dapat menyebabkan ukuran partikel lebih besar.

c. Pengaruh pH Larutan Kitosan

Ketika pH larutan kitosan berada di bawah 4,5 maka tidak mudah untuk membentuk nanopartikel kitosan dengan distribusi ukuran partikel unimodal. Namun, ketika pH larutan berada di atas 5,2 maka mikropartikel akan segera terbentuk di dalam larutan. pH larutan kitosan akan dapat mempengaruhi derajat protonasi dari kitosan tersebut. Semakin tinggi pH larutan kitosan maka akan semakin rendah derajat protonasi dari kitosan tersebut (Shu dan Zhu, 2002).

Ion TPP hanya dapat bereaksi dengan gugus amino yang terprotonasi pada kitosan melalui reaksi *cross-linking* ionik. Jika pH larutan kitosan berada di atas pH kritis, kitosan akan mengalami deprotonasi sehingga ion TPP tidak dapat bereaksi dengan kitosan untuk membentuk nanopartikel kitosan. Jika pH larutan berada pada sekitar pH kritis, ion TPP akan memberikan pengaruh pada derajat protonasi kitosan sehingga ukuran dari partikel kitosan akan berkurang. Sedangkan jika pH larutan kitosan berada di bawah pH kritis, ion TPP memiliki pengaruh yang kecil terhadap derajat protonasi kitosan sehingga kitosan masih terprotonasi sepenuhnya (Fan *et al.*, 2012).

3. Aplikasi Nanopartikel Kitosan

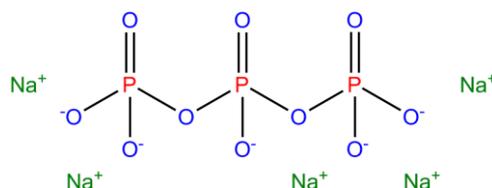
Menurut Soutter (2013), Nanopartikel kitosan memiliki kegunaan dan aplikasi sebagai berikut:

- a) Sebagai agen anti bakteri, media penghantaran gen dan pelepasan protein serta obat-obatan.

- b) Digunakan sebagai zat pembantu vaksin, seperti vaksin influenza, hepatitis B, dan tipes.
- c) Digunakan untuk mengembangkan antigen yang diambil dari jaringan limfoid mukosa dan menstimulasi kekuatan tanggap dari imun untuk melawan antigen.
- d) Digunakan untuk mencegah infeksi pada luka dan mempercepat proses penyembuhan dengan cara meningkatkan pertumbuhan sel kulit.
- e) Digunakan sebagai zat pengawet pada kemasan makan dan dapat juga digunakan untuk mengurangi karies pada gigi.

F. Natrium Tripolifosfat (TPP)

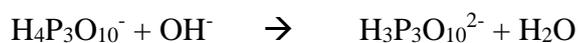
Natrium tripolifosfat merupakan suatu senyawa yang berupa serbuk atau granul berwarna putih dan memiliki sifat sedikit higroskopis. Tripolifosfat atau yang biasa disebut sebagai TPP ini memiliki kelarutan yang sangat baik dalam air. Namun, TPP tidak larut dalam etanol. TPP ini dalam nanopartikel berperan sebagai *cross-linker* yang membentuk ikatan sambung-silang dengan kitosan. TPP ini digunakan karena sifatnya sebagai anion multivalen dan hasil nanopartikel yang diperoleh menjadi lebih stabil dan memiliki karakter penembusan membran yang baik (Yu Shin *et al.*, 2008). Berikut adalah struktur dari natrium tripolifosfat:



Gambar 8. Natrium Tripolifosfat

Ikatan sambung-silang antara kitosan dengan TPP bergantung pada ketersediaan gugus kation dan anion. Ikatan sambung-silang yang terbentuk ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor penting yaitu konsentrasi kitosan, pH, dan konsentrasi TPP. Pada medium asam, ion tripolifosfat akan berikatan dengan ion NH_3^+ pada kitosan. Namun pada medium basa, dihasilkan ion OH^- dan tripolifosfat yang bersaing untuk dapat berinteraksi dengan ion NH_3^+ pada kitosan.

Adapun reaksi disosiasi TPP dalam air adalah sebagai berikut (Lee *et al.*, 2001):



G. Bahan Pendegradasi Hidrogen Peroksida

Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan peroksida yang paling sederhana (senyawa dengan ikatan oksigen-oksigen tunggal). Zat ini juga merupakan oksidator kuat yang merupakan cairan bening dan sedikit lebih kental dibandingkan dengan air. Dalam larutan encer, zat ini tampak tidak berwarna. Karena memiliki sifat sebagai oksidator, hidrogen peroksida sering digunakan sebagai pemutih atau bahan pembersih. Kapasitas oksidasi hidrogen peroksida begitu kuat sehingga dianggap sebagai jenis oksigen yang sangat reaktif.

Hidrogen peroksida mempunyai kemampuan melepaskan oksigen yang cukup kuat dan mudah larut dalam air. Keuntungan penggunaan hidrogen peroksida

antara lain tidak menghasilkan residu atau endapan, larutan hidrogen peroksida menghasilkan produk yang putih bersih dan bahan organik yang diputihkannya sedikit sekali mengalami kerusakan, bahkan tidak rusak sama sekali. Selain itu, OOH^- yang berperan dalam oksidasi bersifat ramah terhadap lingkungan.

Hidrogen peroksida dalam air akan terurai menjadi H^+ dan OOH^- . Ion OOH^- ini merupakan oksidator kuat. Hidrogen peroksida dapat memutus ikatan $\text{C}\alpha$ dan $\text{C}\beta$ dan mampu membuka cincin. Peroksida merupakan oksidan yang kuat juga mempunyai kemampuan mengoksidasi senyawa fenolik, amina, eter aromatik, dan senyawa aromatik polisiklik (Julianti, 2012).

H. *Rotational Rheometer (Viscometer)*

Rotational rheometer terdiri dari beberapa sistem sensor yang memungkinkan untuk merancang suatu *rheometer* yang baik, mutlak, dan serbaguna. Alat ini secara umum digunakan untuk mengamati parameter-parameter *rheological* suatu cairan atau senyawa semi-padat. Parameter-parameter *rheological* tersebut antara lain: viskositas, *shear stress*, dan *shear rate*. *Shear stress* merupakan suatu gaya atau tegangan yang diterapkan ke suatu sistem yang menjadi penghubung antara bagian atas wadah dengan bagian bawah larutan dan mengarah ke aliran dalam lapisan cairan. Sedangkan *shear rate* merupakan gradien kecepatan yang menyebabkan suatu fluida mengalir dalam pola yang khusus.

Pada instrumen ini terdapat tiga jenis prinsip yang berdasarkan jenis sistem sensornya yaitu: sistem sensor *coaxial cylinder*, *cone and plate*, dan *parallel-plate*. Sekilas dari bentuknya, sistem sensor *coaxial cylinder* terlihat seperti

hasil dari kedua plat datar yang membungkuk dari *parallel-plate*. Cairan sampel mengisi kesenjangan di antara dua silinder dapat terkena untuk geser (*shear*) dalam beberapa waktu. Kondisi ini mengakibatkan terjadinya aliran yang berlapis sehingga data pengukuran dapat memberikan hasil uji *shear stress*, *shear rate*, dan viskositas dalam unit fisik yang sesuai. Hal ini dapat juga terjadi pada sistem sensor *cone and plate* maupun *parallel-plate* yang memiliki area aplikasi yang khusus.

Dalam pengukuran viskositas, terdapat dua jenis cairan yang dikenal yaitu: *Newtonian fluid* dan *non-Newtonian fluid*. *Newtonian fluid* merupakan suatu cairan yang memiliki nilai viskositas tetap seiring dengan perubahan nilai *shear rate* serta memenuhi aturan Newton. Contohnya adalah air, minyak, aspal, dan lain-lain. Sedangkan *non-Newtonian fluid* merupakan cairan yang tidak memenuhi aturan Newton, cairan ini memiliki nilai viskositas yang berubah-ubah seiring dengan perubahan nilai *shear rate* (Schramm, 1998).

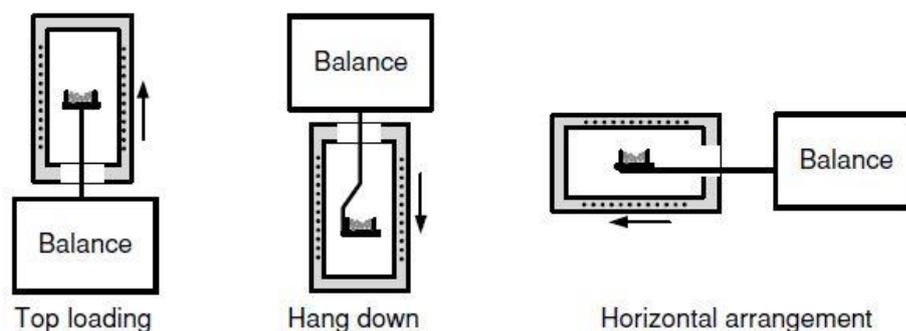
Larutan kitosan memiliki sifat *non-Newtonian fluid*. Wang and Xu (1993) membuktikan bahwa larutan kitosan memiliki nilai viskositas yang berubah-ubah pada nilai *shear rate* yang berubah-ubah pula. Mereka juga mengamati bahwa nilai *shear viscosity* (Pa. s) atau yang bisa disebut juga dengan viskositas dinamik berbanding lurus dengan viskositas intrinsik. Sehingga dapat ditarik garis hubungan antara viskositas dinamik dengan viskositas intrinsik dan berat molekul kitosan. Jika viskositas dinamik semakin besar, maka viskositas intrinsik juga semakin besar dan jika viskositas intrinsik besar, maka berat molekul juga akan semakin besar. Jadi kesimpulannya adalah jika

viskositas dinamik semakin besar, maka berat molekul juga akan semakin besar.

I. Analisis Termal dengan Menggunakan TG/DTA (*Thermo Gravimetric-Differential Thermal Analysis*)

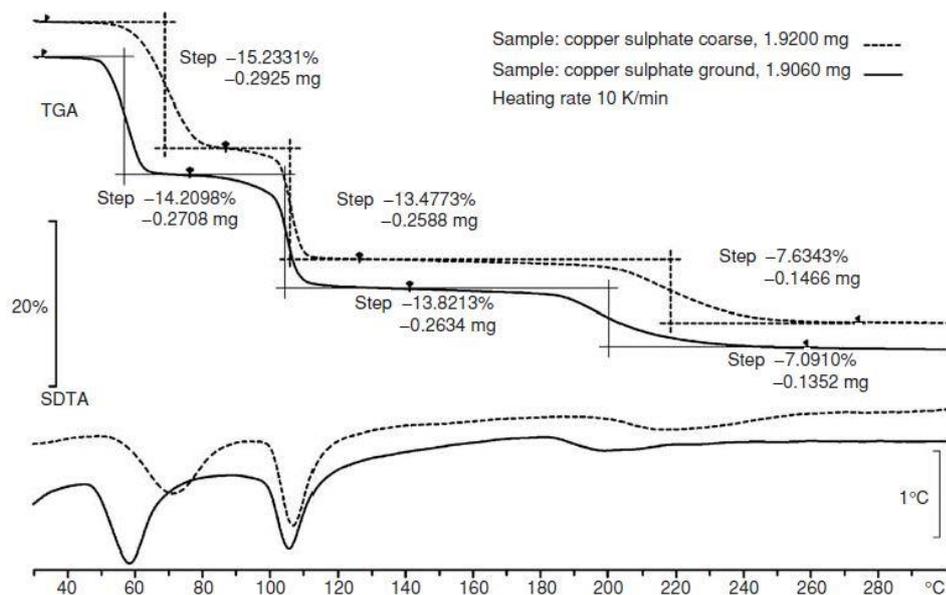
Thermo Gravimetric Analysis (TGA) merupakan suatu teknik eksperimental dimana suatu berat atau massa diukur sebagai fungsi temperatur sampel atau waktu. Sampel ini dipanaskan dengan laju alir panas (*heat flow*) yang konstan atau dapat juga terjadi pada suhu yang konstan (pengukuran isothermal). Pilihan pada temperatur program bergantung pada informasi yang dibutuhkan pada sampel tersebut. Hasil dari pengukuran TGA ini biasanya ditampilkan dalam bentuk termogram (kurva TGA) dimana persen berat pada sampel diplotkan terhadap temperatur dan/atau waktu. Selain kurva TGA diatas, dapat juga dihasilkan suatu bentuk turunan pertama dari kurva TGA yang disesuaikan terhadap temperatur dan waktu yang akan menunjukkan laju pada perubahan massa yang disebut sebagai *Differential Thermo Gravimetric* atau kurva DTG.

Terdapat 3 jenis *thermobalance* yang digunakan pada instrumen TGA saat ini, ketiga jenis *thermobalance* tersebut adalah *horizontal arrangement*, *top loading*, dan *hang down*. Ketiga jenis *thermobalance* ini dapat diamati pada gambar 9. di bawah ini.



Gambar 9. Jenis-jenis *Thermobalance* pada Instrumen TGA (Gabbott, 2008)

Pada beberapa *thermobalance*, sebuah pemanas eksternal diletakkan tidak memiliki kontak dengan atmosfer, sehingga dapat bermanfaat untuk eksperimen yang menggunakan gas hidrogen murni. *Thermobalance* modern saat ini telah diperlengkapi agar dapat merekam sinyal DTA (*Differential Thermal Analysis*) pada saat yang bersamaan ketika melakukan pengukuran *Thermo Gravimetric*. Sinyal DTA ini dapat memperlihatkan efek termal yang tidak dipengaruhi oleh perubahan berat sampel, contohnya titik leleh, kristalisasi atau transisi gelas (*glass transition*). Data evaluasi ini hanya terbatas pada temperatur awal dan temperatur puncak. Setiap proses yang menyebabkan kehilangan berat pada sampel biasanya memberikan puncak endotermik pada DTA yang disebabkan karena ekspansi kerja. Namun terdapat pengecualian untuk hal ini, ketika gas mudah terbakar terbentuk pada temperatur yang tinggi dan tersedia oksigen yang cukup, maka entalpi pembakaran lebih besar dan reaksinya eksotermis. Berikut ini contoh termogram yang dihasilkan pada instrumen TGA yang dilengkapi dengan DTA (Gabbott, 2008).



Gambar 10. Termogram TG yang Disertai dengan DTA (Gabbott, 2008).

J. Karakterisasi Nanopartikel

1. PSA (*Particle Size Analyzer*)

Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel merupakan suatu karakteristik khusus dalam sistem nanopartikel. Suatu materi dikatakan nanopartikel jika memiliki ukuran partikel di bawah 100 nm. Ada banyak cara atau metode yang digunakan untuk menentukan ukuran partikel dari nanopartikel. Cara yang paling sering digunakan untuk menentukan ukuran suatu partikel adalah dengan metode PCS (*Photon Correlation Spectroscopy*) dan DLS (*Dynamic Light Scattering*). PCS dapat digunakan untuk menentukan ukuran partikel dengan cara mendispersikan sampel dalam medium cair. Pada kondisi ini, partikel-partikel sampel akan bergerak secara acak mengikuti aturan gerak *Brown*. PCS akan mengukur ukuran partikel dengan cara menembakkan partikel-partikel yang bergerak acak dengan menggunakan laser. PCS akan

menentukan distribusi ukuran partikel rata-ratanya, sedangkan DLS digunakan untuk menentukan ukuran partikel dengan cara memasukkan partikel kecil di dalam suspensi yang bergerak dalam pola acak. Pengukuran dilakukan dengan prinsip bahwa partikel yang lebih besar akan bergerak dengan lambat dibandingkan dengan partikel yang lebih kecil (Jahanshahi *et al.*, 2008).

PSA merupakan suatu alat yang digunakan untuk menentukan ukuran partikel yang berbasis PCS (*Photon Correlation Spectroscopy*) dan menggunakan metode LAS (*Laser Diffraction*). Metode LAS ini dibagi menjadi 2 metode, yaitu:

1. Metode basah (*Wet Dispersion Unit*), metode ini menggunakan media pendispersi untuk mendispersikan material uji.
2. Metode kering (*Dry Dispersion Unit*), metode ini memanfaatkan udara atau aliran udara untuk melarutkan partikel dan membawanya ke *sensing zone*. Metode ini baik digunakan untuk ukuran yang kasar, dimana hubungan antar partikel lemah dan kemungkinan untuk beraglomerasi kecil.



Gambar 11. Alat *Particle Size Analyzer* (PSA) Fritsch Analysette 22

Pengukuran partikel dengan menggunakan PSA-DLS biasanya menggunakan metode basah. Metode ini dinilai lebih akurat jika dibandingkan dengan metode kering ataupun pengukuran partikel dengan metode ayakan dan analisa gambar. Terutama untuk sampel-sampel dalam orde nanometer dan *submicron* yang biasanya memiliki kecenderungan aglomerasi yang tinggi. Hal ini dikarenakan partikel didispersikan ke dalam media sehingga partikel tidak saling beraglomerasi (menggumpal). Dengan demikian, ukuran partikel yang terukur adalah ukuran dari *single particle*. Selain itu, hasil pengukuran dimunculkan dalam bentuk distribusi, sehingga hasil pengukuran dapat diasumsikan sudah menggambarkan keseluruhan kondisi sampel (Susanti, 2013).

Hal yang diharapkan dari analisis ini adalah, distribusi ukuran nanopartikel kitosan yang dihasilkan berada pada rentang nano (<100 nm) dan memiliki keseragaman (homogenitas) ukuran yang baik.

Keunggulan penggunaan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk mengetahui ukuran partikel adalah sebagai berikut:

- a) Lebih akurat dan mudah digunakan, pengukuran partikel dengan menggunakan PSA lebih akurat jika dibandingkan dengan pengukuran partikel dengan alat lain seperti TEM ataupun SEM. Hal ini dikarenakan partikel dari sampel yang akan diuji didispersikan ke dalam sebuah media sehingga ukuran partikel yang terukur adalah ukuran dari *single particle*.
- b) Hasil pengukuran dalam bentuk distribusi, sehingga dapat menggambarkan

keseluruhan kondisi sampel, yang berarti penyebaran ukuran rata-rata partikel dalam suatu sampel.

- c) Rentang pengukuran dari 0,6 nanometer hingga 7 mikrometer (Rusli, 2011).

2. SEM (*Scanning Electron Microscope*)

SEM merupakan alat yang sangat kuat untuk menguji, menginterpretasikan mikro-struktur dari suatu material, dan secara luas digunakan pada material-material sains. Mikroskop ini digunakan untuk mempelajari struktur permukaan obyek, yang secara umum diperbesar antara 1.000-40.000 kali. Prinsip dasar dari SEM ialah berdasarkan atas sebuah peristiwa interaksi antara sinar elektron dengan spesimen padatan.

Gambar atau foto yang dihasilkan oleh SEM memiliki penampilan tiga dimensi serta berguna dalam menentukan struktur permukaan dari sebuah sampel. Sebuah filamen (*electron gun*) pada *scanning electron microscope* digunakan untuk membangkitkan sinar elektron pada sebuah vakum yang dihasilkan dalam sebuah kamar dimana sampel disimpan untuk dianalisis. Sinar tersebut diarahkan dengan akurat oleh lensa kondensor elektromagnetik, difokuskan oleh lensa objektif, dan dipindai melewati permukaan sampel oleh gulungan pendeteksi elektromagnetik.

Metode penggambaran yang utama ialah dengan mengumpulkan elektron sekunder yang dilepaskan oleh sampel. Elektron sekunder dideteksi oleh sebuah material kilau yang menghasilkan kilat cahaya dari elektron-elektron.

Selanjutnya, kilat cahaya dideteksi dan diperkuat oleh sebuah *photomultiplier tube*. Dengan menghubungkan posisi pemindaian sampel dengan sinyal yang dihasilkan, maka dihasilkan gambar atau foto berwarna hitam putih (Ayyad, 2011).

Dalam prinsip pengukuran SEM dikenal ada dua jenis elektron, yaitu elektron primer dan elektron sekunder. Elektron primer merupakan elektron berenergi tinggi yang dipancarkan dari sebuah katoda (Pt, Ni, W) yang dipanaskan. Katoda yang biasa digunakan adalah tungsten (W) atau *lanthanum hexaboride* (LaB₆). Tungsten digunakan sebagai katoda karena memiliki titik lebur yang paling tinggi dan tekanan uap yang paling rendah dari semua meta, sehingga memungkinkannya dipanaskan pada temperatur tinggi untuk emisi elektron.

Sedangkan elektron sekunder adalah elektron berenergi rendah, yang dibebaskan oleh atom pada permukaan. Atom akan membebaskan elektron sekunder setelah ditembakkan oleh elektron primer. Elektron sekunder inilah yang akan ditangkap oleh detektor dan mengubah sinyal tersebut menjadi suatu sinyal gambar.

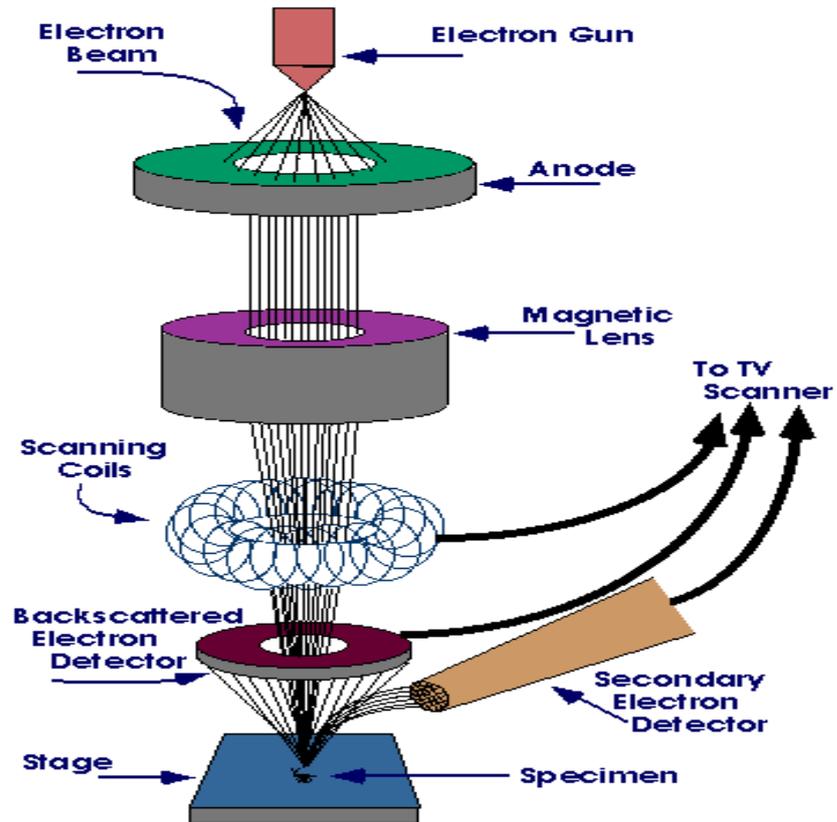
Dari analisis ini, diharapkan ukuran partikel nanokitosan berada pada rentang nano (<100 nm) dan memiliki morfologi yang cukup baik dan tidak terjadi aglomerasi (penumpukkan) pada partikel-partikelnya.

SEM memiliki beberapa keunggulan, antara lain sebagai berikut:

1. Kemampuan untuk menggambar area yang besar secara komparatif dari spesimen.

2. Kemampuan untuk menggambar materi *bulk*, dan berbagai mode analitikal yang tersedia untuk mengukur komposisi dan sifat dasar dari spesimen (Marlina, 2007).

Skema alat *Scanning Electron Microscope* disajikan pada gambar 12.



Gambar 12. Skema alat *Scanning Electron Microscope* (Ayyad, 2011)