

**KARAKTERISASI DAN ENKAPSULASI SENYAWA FUKOSANTIN
MENGUNAKAN PENYALUT KITOSAN**

(Skripsi)

Oleh

ANGGI LEFIYANI



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

KARAKTERISASI DAN ENKAPSULASI SENYAWA FUKOSANTIN MENGUNAKAN PENYALUT KITOSAN

Oleh

ANGGI LEFIYANI

Fukosantin merupakan salah satu golongan karotenoid yang memiliki bioaktivitas yang baik dan berpotensi dikembangkan sebagai antioksidan, anti-inflamasi maupun antiobesitas. Namun, fukosantin memiliki kestabilan yang rendah mudah terdegradasi oleh lingkungan. Strategi khusus diperlukan untuk meningkatkan kestabilan fukosantin, yaitu dengan teknik enkapsulasi menggunakan penyalut kitosan. Tujuan dari penelitian ini untuk penentuan *Encapsulation Efficiency* (EE) dan aktivitas antioksidan senyawa fukosantin yang dienkapsulasi dengan penyalut kitosan menggunakan metode gelas ionik. Pada penelitian ini meliputi preparasi kitosan menghasilkan Derajat Deasetilasi (DD) sebesar 81,32%, kultivasi *C. striata*, ekstraksi dengan etanol, pemurnian fukosantin menggunakan MPLC, identifikasi fukosantin menggunakan Uv-Vis menghasilkan serapan pada λ 448 nm, analisis partikel dengan PSA menghasilkan ukuran partikel sebesar 45,85 nm, analisis morfologi menggunakan SEM menghasilkan morfologi bulat ukuran seragam, penentuan nilai EE menghasilkan nilai sebesar 27,54% dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) didapatkan nilai IC50 sebesar 13 ppm menandakan senyawa fukosantin memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, sehingga dapat digunakan sebagai sumber antioksidan yang baik.

Kata Kunci : fukosantin, kitosan, nanopartikel, enkapsulasi

ABSTRACT

CHARACTERIZATION AND ENCAPSULATION OF FUCOSANTINE COMPOUNDS USING CHITOSAN COATINGS

By

ANGGI LEFIYANI

Fucoxanthin is a carotenoid group that has good bioactivity and has the potential to be developed as an antioxidant, anti-inflammatory and anti-obesity agent. However, fucoxanthin has a low stability and is easily degraded by the environment. A special strategy is needed to increase the stability of fucoxanthin, namely by encapsulation technique using chitosan coating. The purpose of this study was to determine the Encapsulation Efficiency (EE) and the antioxidant activity of fucoxanthin compounds encapsulated with chitosan coatings using gelation ionic method. In this study, the preparation of chitosan produced a Degree of Deacetylation (DD) of 81.32%, cultivation of *C. striata*, extraction with ethanol, purification of fucoxanthin using MPLC, identification of fucoxanthin using UV-Vis resulted in absorption at λ 448 nm, particle analysis with PSA resulted in a particle size of 45,85 nm, morphological analysis using SEM produced spherical morphology uniform size, determining the EE value yielded a value of 27.54% and the antioxidant activity test using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method obtained an IC₅₀ value of 13 ppm indicating that the fucoxanthin compound has strong antioxidant activity, so it can be used as a good source of antioxidant.

Keywords : fucoxanthin, chitosan, nanoparticles, encapsulation

**KARAKTERISASI DAN ENKAPSULASI SENYAWA FUKOSANTIN
MENGUNAKAN PENYALUT KITOSAN**

Oleh

ANGGI LAFIYANI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul : **KARAKTERISASI DAN ENKAPSULASI SENYAWA
FUKOSANTIN MENGGUNAKAN PENYALUT
KITOSAN**

Nama : **Anggi Jefriyani**


NPM : **1817011009**


Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

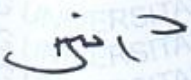


1. **Komisi Pembimbing**


Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.
NIP. 197707132009122002



Prof. Andi Setiawan, Ph.D.
NIP. 195809221988111001

2. **Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Lampung**


Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP. 197406112000031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si. 

Sekretaris : Prof. Andi Setiawan, Ph.D. 

Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. John Hendri, M.S 

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP.197407052000031001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 Januari 2023

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anggi Lefiyani
Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011009
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan sebenar-benarnya, bahwa skripsi Saya yang berjudul:

“Karakterisasi dan Enkapsulasi Senyawa Fukosantin Menggunakan Penyalut Kitosan” adalah benar karya Saya sendiri, baik gagasan, hasil dan analisisnya. Selanjutnya Saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini Saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagai mestinya.

Bandar Lampung, 26 Januari 2023

Yang Menyatakan,



Anggi Lefiyani
NPM. 1817011009

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Anggi Lefiyani, lahir di Tanjung Tirto pada tanggal 26 Juli 1999 anak pertama dari tiga bersaudara yang merupakan putri dari Bapak Nur Hamid dan Ibu Mul Yanti. Penulis bertempat tinggal di Desa Tanjung Tirto, Kecamatan Way Bungur, Kabupaten Lampung Timur, Lampung.

Penulis mengawali jenjang pendidikan mulai Taman Kanak-Kanak (TK) Aisyah Tanjung Tirto Way Bungur lulus pada tahun 2006, kemudian melanjutkan Sekolah Dasar (SD) di Madrasah Ibtidaiyah 1 Tanjung Tirto lulus pada tahun 2012. Pendidikan Sekolah Menengah Pertama (SMP) di MTs Muhammadiyah 1 Way Bungur diselesaikan pada tahun 2015. Pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Muhammadiyah 1 Purbolinggo diselesaikan pada tahun 2018 dan pada tahun yang sama penulis diterima sebagai Mahasiswa Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif di Lembaga Kemahasiswaan Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) sebagai Anggota Departemen Pemberdayaan Wanita dan Anggota Garuda Badan Eksekutif Mahasiswa FMIPA Universitas Lampung periode 2018-2019 dan Lembaga Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) FMIPA Universitas Lampung sebagai Anggota Bidang Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi (KPO) periode 2018-2019. Penulis juga pernah mengikuti organisasi Universitas di English Society (ESo) Universitas Lampung periode 2018-2020 sebagai Anggota Bidang Human Research Development (HRD). Selain itu, penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada periode I tahun 2021 di Desa Tanjung Tirto, Kecamatan Way Bungur, Kabupaten

Lampung Timur, Lampung. Penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) yang berjudul Karakterisasi dan Enkapsulasi Fukosantin dalam Nanopartikel Kiosan di Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT LTSIT) , Universitas Lampung dan telah menyelesaikan penelitian dengan Judul “ **Karakterisasi dan Enkapsulasi Senyawa Fukosantin Menggunakan Penyalut Kitosan**” .

-MOTTO-

“Jangan pernah bergantung kepada orang lain tentang hal apapun, tetap percaya kepada diri sendiri adalah sebuah pilihan dan penghargaan”

(Anggi Lefiyani)

“ Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan yang lain)”

(Q.S Al-Insyirah :6-7)

“ Sukses adalah jumlah dari upaya kecil yang diulang hari demi hari”

(Robert Collier)

“Every day may not be good...But there's something good in every day”

(Alice Morse Earle)

“More Smiling, less worrying. More compassion, less judgment. More blessed, less stressed. More love, less hate”

(Roy T. Bennentt)

“Education is the most powerful weapon we can use change to the word”

(Nelson Mendele)

PERSEMBAHAN

Kupersembahkan karya ini sebagai wujud bakti dan tanggung jawab kepada kedua orang tuaku:

Ayah dan Ibu

Yang telah memberikan cinta kasih, dukungan, motivasi dan selalu mendoakan dalam setiap langkahku.

Terima kasih atas segala pengorbanan yang takkan pernah bisa ku balas dengan apapun dan sampai kapanpun.

Adikku Tri Nur Wanda Jafar dan Aulia Sarah

Yang selalu memberikan dukungan, semangat untuk keberhasilanku.

Seluruh keluarga yang selalu mengingatkanku, memberikan semangat dan dukungan.

Bapak dan Ibu dosen yang selama ini telah memberikan banyak ilmu pengetahuan, pelajaran, motivasi, arahan, serta bimbingannya kepadaku.

Seluruh sahabat dan teman-teman terdekatku yang selama ini memberikan banyak dukungan dan bantuan kepadaku serta pihak terlibat yang selalu memberiku semangat.

-Almamater Tercinta Universitas Lampung-

SANWACANA

Puji Syukur penulis kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, karunia, dan kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat serta salam tak lupa penulis haturkan kepada junjungan besar Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat, dan seluruh umatnya yang senantiasa taat mengamalkan ajaran dan sunnahnya. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Dalam pelaksanaan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesulitan, namun itu dalam penulis lalui berkat rahmat dan ridho dari Allah SWT dan bantuan semangat dari orang-orang yang hadir dalam kehidupan penulis. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si. selaku pembimbing utama yang telah membimbing, memotivasi, dan memberikan semangat kepada penulis selama proses penyusunan skripsi.
2. Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D. selaku pembimbing kedua yang telah membimbing, memotivasi, dan memberikan semangat kepada penulis selama proses penyusunan skripsi.
3. Bapak Prof. Dr. John Hendri, M.S. selaku penguji utama pada ujian skripsi yang telah memberikan masukan, motivasi dan saran-saran yang telah diberikan.
4. Ibu Prof. Dr. Kamisah Delilawati Pandiangan, M.Si. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama masa perkuliahan.
5. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

6. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
7. Seluruh dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, atas seluruh ilmu, pengalaman, dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
8. Segenap staf dan karyawan khususnya Jurusan Kimia dan FMIPA Universitas Lampung.
9. Seluruh staf UPT LTSIT Universitas Lampung yang telah memberikan kesempatan bagi penulis untuk belajar dan menyelesaikan penelitian.
10. Kedua orang tua yang penulis sayangi. Ayah dan Ibu menjadi motivator dan inspirator terbesar bagi penulis.
11. Adik Tri Nur Wanda Jafar dan adik Aulia Sarah, yang telah mendoakan, member dukungan, dan semangat kepada penulis.
12. Seluruh keluarga besar penulis yang telah memberikan support, motivasi, semangat, dan doa kepada penulis.
13. Partner penelitian “*Microalgae Research*” Fauziah Sabrina dan Wulandari, yang telah berjuang bersama untuk melewati banyak drama dalam penelitian ini.
14. Adikku sekaligus tempat curhatku Fitri yang telah memberikan keceriaan, membantuanku, dan semangat serta waktu setiap aku bercerita apapun.
15. Partner Laboratorium adik-adik angkatan 2019 Sinur Angelina Putri, Siti Solehati, Sulfiany dan Novita Darmastuti yang telah memberikan keceriaan, bantuan, dan semangat kepada penulis.
16. Partner kuliah Nia Puspita Dewi, Dedeh Kurniasih, dan Vivi Nafisah Nasution yang telah memberikan semangat, motivasi, dan doa kepada penulis.
17. Anak-anak Kosan Putri Papilaya 1 Sri, Giok, Pera, Elpa, Widya, Icha, Neti, Santi, Adel, Agri, Bintang, Fitri, dan Icha Santi yang telah memberikan doa serta dukungan kepada penulis.
18. Teman-teman angkatan “*Chemistry 2018*” jarkom Totalitas, Berkualitas, Tanpa Batas!!!, terimakasih untuk kebersamaan, keceriaan suka dan duka selama perkuliahan.

19. Teman-teman penelitian UPT-LTSIT Firda, Icha, Reyzka, Mega, Ika, Lanang, Indra, Casya, Fani, dan Dhea, serta kakak-kakak Semuanya yang telah membantu dalam penelitian.
20. Teman-teman kelas A yang telah memberikan keceriaan dikelas selama berlangsungnya perkuliahan, serta kerjasamanya dalam berbagai bidang ilmu.
21. Kakak tingkat angkatan 2016 dan 2017 yang telah memberikan motivasi, semangat, dan doa kepada penulis.

Akhir kata, atas segala kebaikan yang telah diberikan semoga Allah SWT membalasnya dengan pahala yang berlipat ganda, Aamiin. Penulis memohon maaf kepada semua pihak apabila skripsi ini masih terdapat kesalahan dan kekeliruan, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua, *Aamiin yarabbalalamiin.*

Bandar Lampung, 26 Januari 2023

Penulis

Anggi Lefiyani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
I.PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
II.TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Fukosantin	4
2.2 Kitosan	5
2.3 Enkapsulasi.....	6
2.4 Kromatografi Lapis Tipis	7
2.5 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	9
2.6 Spektrofotometer UV-Vis	9
2.7 <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	11
2.8 <i>Particle Size Analyzer</i> (PSA).....	13
III.METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat	14
3.2 Alat dan Bahan.....	14
3.3 Metode Penelitian	15
3.3.1 Preparasi Kitosan	15
3.3.2 Preparasi Fukosantin	16
3.3.3 Pembuatan Partikel Kitosan (PK)	16
3.3.4 Partikel Kitosan-Fukosantin (PK-F).....	16

3.3.5 Karakterisasi	17
3.4 Uji Aktivitas Antioksidan.....	18
IV.HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Produksi Kitin.....	20
4.2 Deasetilasi Kitin menjadi Kitosan	23
4.3 Preparasi Fukosantin	27
4.4 Pembuatan Partikel Kitosan	31
4.5 Morfologi Enkapsulasi NpK-X (Nanopartikel Kitosan Fukosantin)	34
4.6 EE (Encapsulation Efficiency)	35
4.7 Uji Aktivitas Antioksidan	36
V.KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
5.1 Simpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Gugus Fungsi Kitosan dari Analisis FTIR	25
2. Perhitungan Derajat Deasetilasi Kitosan	26
3. Perhitungan EE (Encapsulation Efficiency)	35
4. Data nilai IC50 Antioksidan Sampel Enkapsulasi Senyawa Fukosantin	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Fukosantin	4
2. Struktur Kitosan	5
3. Proses KLT	8
4. Skema Alat Spektrofotometer UV-Vis	11
5. Hamburan Elektron	12
6. Diagram Alir Enkapsulasi Fukosantin	19
7. Kulit Udang Kering	20
8. Kulit Udang Deproteinisasi	21
9. Kulit Udang Demineralisasi	22
10. Reaksi Deasetilasi	24
11. Kitosan.....	24
12. Spektrum FTIR Kitosan	25
13. Inokulum <i>C.striata</i>	27
14. Hasil KLT	28
15. Kromatograf Fukosantin Hasil MPLC	29
16. Spektrum Senyawa Fukosantin.....	30
17. Bentuk <i>crosslink</i> ionik dalam derivat kitosan-STPP	32
18. Larutan Partikel Kitosan.....	31
19. Hasil Analisis PSA Nanopartikel Kitosan	33
20. Mikrograf NpK-X dan NpK-HA	34
21. Grafik Uji Antioksidan Enkapsulasi Fukosantin	38
22. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan	39

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perubahan gaya hidup memberikan dampak negatif bagi kesehatan manusia, yang disebabkan oleh keinginan serba praktis dan cepat (Artanti *et al.*, 2018).

Keinginan serba praktis dan cepat berdampak pada munculnya berbagai penyakit, sehingga sangat penting untuk menjaga kesehatan agar terhindar dari berbagai penyakit yaitu dengan cara mengonsumsi bahan-bahan *nutraceulitic* (Murti *et al.*, 2011), salah satu bahan *nutraceulitic* adalah karotenoid (Jaswir *et al.*, 2011). Beberapa jenis karotenoid diantaranya β -karoten, likopen, zeasantin, dan fukosantin (Santiyoga *et al.*, 2020).

Fukosantin merupakan salah satu golongan karotenoid yang paling melimpah di lingkungan laut dengan mencakup 10 % total produksi karotenoid di alam (Peng *et al.*, 2011). Fukosantin memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dan antikarsinogenik yang mampu menetralkan radikal bebas (Miyashita *et al.*, 2020), dan memiliki sifat anti obesitas, anti diabetes, anti inflamasi, anti malaria, anti hipertensi, dan anti kanker (Piovan *et al.*, 2013). Akan tetapi, fukosantin memiliki karakteristik yang kurang stabil. Fukosantin lebih sensitif terhadap perubahan sifat fisika dan kimia selama proses pengolahan hingga penyimpanan. Perubahan sifat fukosantin disebabkan oleh pengaruh suhu, udara, cahaya, dan pH (Nie *et al.*, 2021), sehingga diperlukan strategi khusus untuk menjaga kestabilan, salah satunya yaitu dengan teknik enkapsulasi (Susilowati *et al.*, 2014).

Enkapsulasi adalah teknik untuk melindungi bahan inti yang semula berbentuk cair menjadi bentuk padatan sehingga mudah dalam penanganannya serta dapat melindungi bahan inti dari kerusakan lingkungan luar (Cevallos *et al.*, 2010). Penggunaan teknik enkapsulasi memiliki keuntungan antara lain dapat

melindungi stabilitas senyawa dari degradasi yang dapat membentuk senyawa beracun dan memperpanjang umur simpan dari pengaruh lingkungan (Komariah, 2010). Penggunaan teknik enkapsulasi telah banyak digunakan di berbagai bidang seperti pada industri makanan, industri farmasi, industri tekstil, dan industri kosmetik. Industri yang paling banyak menggunakan teknologi enkapsulasi adalah industri farmasi, karena berkaitan sebagai sistem pengantaran obat (*drug delivery system*) untuk *controlled release* dari obat yang masuk ke tubuh (Mishra, 2016). Dalam teknik enkapsulasi diperlukan bahan penyalut dalam melindungi bahan inti. Jenis-jenis penyalut yang dapat digunakan antara lain akasia, albumin, alginat, polimetil metakrilat, etil selulosa, maltodekstrin, polivinil alkohol, dan kitosan (Jyothi *et al.*, 2012).

Kitosan merupakan biopolimer alami paling melimpah kedua setelah selulosa yang berasal dari deasetilasi kitin (Purnamawaty *et al.*, 2016). Kitosan memiliki sifat biokompatibel, *biodegradabel* dan tidak beracun sehingga aman untuk dikonsumsi. Kitosan dapat berinteraksi dengan bahan kimia lain untuk membentuk film, gel, nanokapsul, dan kitosan juga memiliki sifat unik yaitu satu-satunya polimer kationik yang larut di dalam air (Raza *et al.*, 2020). Berdasarkan sifat unik yang dimilikinya, kitosan dapat dimanfaatkan sebagai bahan pelindung untuk mempertahankan berbagai bahan aktif yang dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang (Bano *et al.*, 2017). Kitosan banyak digunakan di berbagai industri kimia antara lain; sebagai koagulan dalam pengolahan limbah air, adsorben ion logam, bidang farmasi, pelarut lemak, dan pengawet makanan (Nadia dkk, 2014).

Pada penelitian ini penyalut yang digunakan adalah kitosan yang dihasilkan dari proses deasetilasi kitin kulit udang. Salah satu metode yang efektif dan sederhana untuk pembuatan partikel kitosan yaitu menggunakan metode gelasi ionik. Mekanisme metode gelasi ionik didasarkan pada kemampuan larutan kitosan untuk melakukan ikatan silang dengan kehadiran ion yang memiliki muatan berlawanan untuk membentuk suatu hidrogel (Rahmi *et al.* 2013). Beberapa penelitian pembuatan partikel kitosan sudah banyak dilakukan dengan penambahan STPP sebagai *cross linker* seperti yang dilakukan (Amaliyah, 2016),

dan STPP aman untuk dikonsumsi berdasarkan anjuran Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (Nugraha *et al.*, 2017). Partikel kitosan yang dihasilkan selanjutnya dianalisis menggunakan FTIR dan PSA (Particle Size Analyzer) (Patil *et al.* 2013). Pada prosedur selanjutnya partikel kitosan digunakan sebagai penyalut fukosantin. Analisis dengan SEM (scanning electron microscope) digunakan untuk melihat morfologi partikel kitosan fukosantin. Efektivitas dari partikel kitosan fukosantin yang dihasilkan selanjutnya dianalisis dengan menentukan Encapsulation Efficiency (EE) dan penentuan Loading Efficiency (LE) menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Partikel kitosan fukosantin enkapsulasi dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH untuk penentuan nilai IC50.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

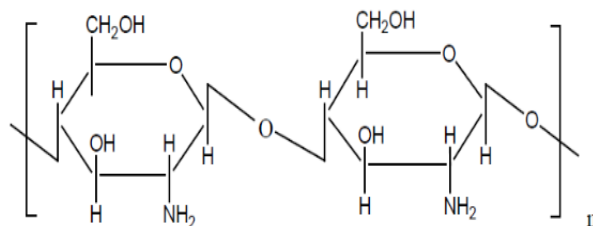
1. Menentukan aktivitas antioksidan senyawa fukosantin yang dienkapsulasi menggunakan penyalut kitosan.
2. Penentuan Encapsulation Efficiency (EE) senyawa fukosantin yang dienkapsulasi menggunakan penyalut kitosan.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah mendapatkan senyawa fukosantin yang stabil sehingga dapat digunakan di berbagai bidang.

2.2 Kitosan

Kitosan adalah biopolimer alami paling melimpah kedua setelah selulosa yang berasal dari deasetilasi kitin. Kitosan memiliki rantai panjang glukosamin ($\beta(1,4)$ -2-amino-2-deoksi-D-Glukosa), memiliki rumus molekul $[C_6H_{11}NO_4]_n$ dengan bobot molekul $2,5 \times 10^5$ Dalton. Karakteristik dari kitosan diantaranya struktur yang tidak teratur, bentuknya kristalin atau semikristalin. Selain itu dapat juga berbentuk padatan amorf berwarna putih dengan struktur tetap dari bentuk awal kitin murni. Kitosan mempunyai rantai yang lebih pendek daripada rantai kitin. Bila kitosan disimpan lama dalam keadaan terbuka maka akan terjadi dekomposisi warna menjadi kekuningan dan viskositasnya menjadi berkurang (Thariq *et al.*, 2016).



Gambar 2. Struktur Kitosan (Uragamy, 2006)

Kitosan tidak larut dalam H_2SO_4 pada berbagai konsentrasi, sedangkan dalam H_3PO_4 tidak larut pada konsentrasi 1% sementara pada konsentrasi 0,1% sedikit larut. Perlu kita ketahui bahwa kelarutan kitosan dipengaruhi oleh bobot molekul, derajat deasetilasi, dan rotasi spesifik yang beragam tergantung pada sumber dan metode isolasi transformasinya. Kitosan dalam asam, memiliki viskositas cukup tinggi ketika dilarutkan. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan kitosan adalah larutan asam format, asam asetat, asam laktat, dan asam glutamat (Raza *et al.*, 2020).

2.3 Enkapsulasi

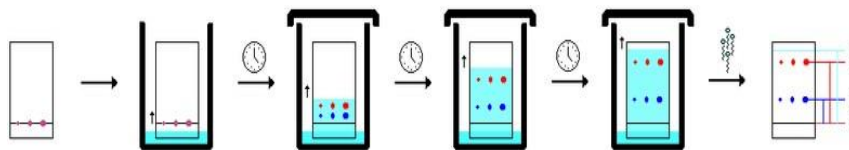
Enkapsulasi merupakan salah satu teknik penyalutan suatu senyawa dengan mempertahankan kestabilan pada suatu senyawa dalam bentuk nano partikel (Buffo *et al.*, 2001). Enkapsulasi memiliki keuntungan, antara lain dapat melindungi suatu senyawa dari penguraian, dapat mengendalikan pelepasan pada senyawa aktif dan terdapat lapisan dinding polimer sehingga zat inti tidak dapat terpengaruhi oleh lingkungan luar. Kelemahan enkapsulasi yaitu penyalut bahan inti oleh polimer kurang sempurna sehingga dapat berpengaruh pada pelepasan zat inti dari nanokapsul (Dubey *et al.*, 2009).

Salah satu bahan penyalut dalam proses enkapsulasi adalah kitosan (Yao, 2020). Enkapsulasi dibuat dari berbagai bahan, tetapi tidak semua bahan aman bagi manusia karena efeknya yang dapat menimbulkan toksisitas bagi tubuh dan lingkungan (Selim, 2017).

2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan teknik yang digunakan untuk komponen dan mendapatkan eluen yang tepat untuk kromatografi kolom dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Pada dasarnya KLT melibatkan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dibagi menjadi dua yaitu polar dan nonpolar. Penyerap polar yang digunakan adalah alumunium oksida, alumina, magnesia, dan magnesia silikat. Fase diam ditempatkan pada penyangga berupa plat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan yang ditotolkan berupa bercak. Setelah plat diletakan dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama pengembangan, selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakan/dideteksi (Gritter, 1991).

KLT yang penting diperhatikan dari penyerapannya adalah ukuran partikel dan homogenitasnya. Beberapa contoh penyerap yang biasa digunakan untuk pemisahan dalam KLT adalah silika gel, alumina, dan selulosa. Fase diam yang umum digunakan adalah silika gel yang dapat dipakai untuk memisahkan campuran senyawa hidrofil (Hostettman dan Terreaux, 2000). Proses KLT dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Proses KLT (Quantockgoblin, 2008).

Komponen –komponen senyawa yang dianalisis dapat dipisahkan dan dibedakan berdasarkan nilai R_f (Retention Factor/Faktor retensi). Faktor retensi didefinisikan sebagai perbandingan jarak migrasi suatu senyawa dengan jarak migrasi suatu pelarut (eluen) pada suatu waktu yang sama.

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Nilai R_f beragam dari 0 hingga 1 (Sherma, 1996).

Teknik KLT umum digunakan dalam mengidentifikasi senyawa fukosantin. Rajauria *and* Abu-Gannam (2013) menggunakan plat silika GF₂₅₄ sebagai fasa diam dan dielusi menggunakan eluen kloroform: dietil eter : n-heksan : asam asetat (10:3:1:1 v/v/v/v), lebih lanjut divisualisasi menggunakan reagen 2,54 mM DPPH dalam pelarut metanol untuk identifikasi senyawa fukosantin. Fukosantin memiliki R_f 0,36 pada sistem eluen tersebut.

2.5 *Fourier Transform Infrared (FTIR)*

Fourier Transform Infra Red (FTIR) merupakan suatu metode spektroskopi *infra red* yang digunakan untuk mengamati interaksi-interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik. Metode ini didasarkan pada absorpsi radiasi inframerah oleh sampel yang akan menghasilkan perubahan keadaan vibrasi dan rotasi dari molekul sampel. Vibrasi dapat terjadi karena energi yang berasal dari sinar infrared tidak cukup kuat untuk menyebabkan terjadinya atomisasi ataupun eksitasi elektron pada molekul senyawa yang ditembak yang mana besarnya energi vibrasi tiap atom atau molekul berbeda tergantung pada atom-atom dan kekuatan ikatan yang menghubungkannya sehingga dihasilkan frekuensi yang berbeda pula. Intensitas absorpsi bergantung pada seberapa efektif energi foton inframerah dipindahkan ke molekul, yang dipengaruhi oleh perubahan momen dipol yang terjadi akibat vibrasi molekul (Amand *and* Tullin, 2013).

Hal yang perlu diperhatikan dalam menginterpretasi kurva serapan inframerah adalah bilangan gelombang, bentuk kurva serapan (sempit tajam atau melebar) dan intensitas serapan (kuat, sedang, atau lemah). Hubungan antara persen absorbansi dengan frekuensi dapat menghasilkan sebuah spektrum inframerah (Kosela, 2010).

2.6 **Spektrofotometer UV-Vis**

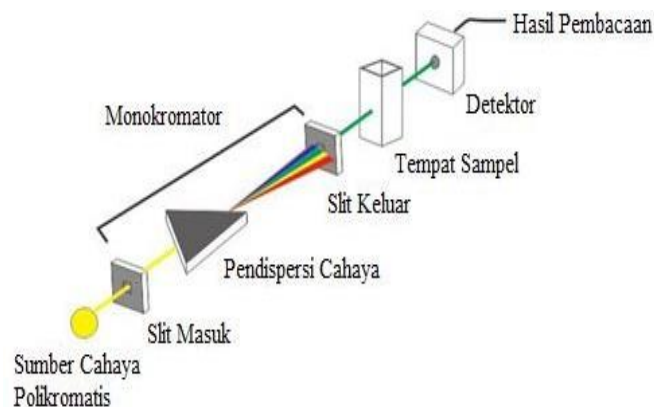
Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang, intensitas sinar ultraviolet, dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektrofotometri UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ionanorganik atau kompleks di dalam larutan. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Sinar ultraviolet berada pada panjang

gelombang 200-400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm. Kebanyakan penerapan spektrofotometri UV-Vis pada senyawa organik didasarkan $n-\pi^*$ ataupun $\pi-\pi^*$ karena spektrofotometri UV-Vis memerlukan hadirnya gugus kromofor dalam molekul itu. Transisi ini terjadi dalam daerah spektrum (200-800 nm) .

Prinsip kerja spektrofotometer berdasarkan hukum Lambert Beer, yaitu bila cahaya monokromatik (I_0) melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap (I_a), sebagian dipantulkan (I_r), dan sebagian lagi dipancarkan (I_t). Menurut Khopkar (2003), instrumen spektrofotometri UV-Vis adalah :

1. Sumber sinar polikromatis berfungsi sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang. Sumber yang biasa digunakan pada daerah UV adalah lampu deuterium atau disebut juga *heavyhydrogen*, sedangkan pada daerah Vis menggunakan lampu tungsten yang sering disebut lampu wolfram, spektrofotometer UV-Vis menggunakan *photodiode* yang telah dilengkapi monokromator.
2. Monokromator merupakan alat yang memecah cahaya polikromatis menjadi cahaya tunggal (monokromatis) dengan komponen panjang gelombang tertentu. Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromator dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis. Monokromator terdiri dari susunan : celah (slit) masuk- filter- kisi (*grating*) – celah (slit) keluar.
3. Wadah sampel (kuvet) merupakan wadah sampel yang akan dianalisis. Kuvet dari leburan silika (kuarsa) dipakai untuk analisis kualitatif dan kuantitatif pada daerah pengukuran 190-1100 nm, dan kuvet dari bahan gelas dipakai pada daerah pengukuran 380-1100 nm karena bahan dari gelas mengabsorpsi radiasi UV.
4. Detektor menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel. Cahaya kemudian diubah menjadi sinyal listrik oleh amplifier dan dalam rekorder akan ditampilkan dalam bentuk angka-angka pada reader (komputer).
5. *Visual display/read out* merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor, menyatakan dalam bentuk % transmittan maupun absorbansi.

Cara kerja alat spektrofotometer UV-Vis yaitu sinar dari sumber radiasi diteruskan menuju monokromator. Cahaya dari monokromator diarahkan terpisah melalui sampel dengan sebuah cermin berotasi. Detektor menerima cahaya dari sampel secara bergantian secara berulang-ulang. Sinyal listrik dari detektor diproses, diubah ke digital dan dilihat hasilnya, selanjutnya perhitungan dilakukan dengan komputer yang sudah terprogram (Harjadi, 2003). Skema alat spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 4.

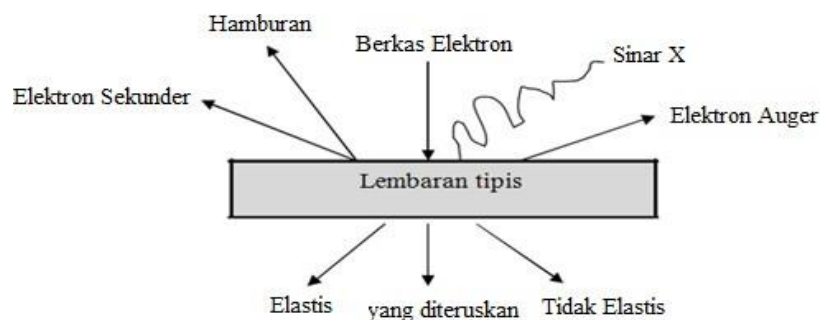


Gambar 4. Skema alat Spektrofotometer UV-Vis (Khopkar, 2003).

2.7 SEM (Scanning Electron Microscope)

SEM adalah suatu instrumen penghasil berkas elektron pada permukaan spesimen target dan mengumpulkan serta menampilkan sinyal-sinyal yang diberikan oleh material target. Alat SEM (*Scanning Electron Microscope*) memiliki kegunaan dalam melakukan karakterisasi material yang heterogen pada permukaan bahan skala mikrometer atau bahan submikrometer. Pada SEM dapat diamati karakteristik bentuk, struktur, serta distribusi pori pada permukaan bahan. Prinsip kerja alat ini adalah sumber elektron dari *filament* yang terbuat dari tungsten memancarkan berkas elektron. Apabila elektron tersebut berinteraksi dengan bahan (*specimen*) maka akan menghasilkan elektron sekunder dan sinar-X karakteristik (Smallman, 2000).

Struktur suatu material dapat diketahui dengan cara melihat interaksi yang terjadi jika suatu *specimen* padat dikenai berkas elektron. Berkas elektron yang jatuh tersebut sebagian akan dihamburkan sedang sebagian lagi akan diserap dan menembus *specimen*. Bila *specimen* cukup tipis, sebagian besar ditransmisikan dan beberapa elektron dihamburkan secara tidak elastis. Interaksi dengan atom dalam *specimen* menghasilkan pelepasan elektron energi rendah, foton sinar-X dan elektron Auger, yang semuanya dapat digunakan untuk mengkarakterisasi material. Berikut ini adalah gambaran mengenai hamburan elektron-elektron apabila mengenai *specimen* disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Hamburan elektron (Smallman,2000).

Interaksi antara elektron dengan atom pada sampel akan menghasilkan pelepasan elektron dengan energi rendah, foton sinar-X, dan elektron Auger, yang seluruhnya dapat digunakan untuk mengkarakterisasi material. Elektron sekunder adalah elektron yang dipancarkan dari permukaan kulit atom terluar yang dihasilkan dari interaksi berkas elektron jauh dengan padatan sehingga mengakibatkan terjadinya loncatan elektron yang terikat lemah dari pita konduksi. Elektron Auger adalah elektron dari kulit orbit terluar yang dikeluarkan dari atom ketika elektron tersebut menyerap energi yang dilepaskan oleh elektron lain yang jatuh ke tingkat energi yang lebih rendah (Smallman, 2000).

2.8 PSA (Particle Size Analyzer)

Particle Size Analyzer dapat menganalisis partikel suatu sampel yang bertujuan menentukan ukuran partikel dan distribusinya dari sampel yang representative . Distribusi ukuran partikel dapat diketahui melalui gambar yang dihasilkan. Ukuran tersebut dinyatakan dalam jari-jari untuk partikel yang berbentuk bola. Penentuan ukuran dan distribusi partikel menggunakan PSA dapat dilakukan dengan (1) difraksi sinar laser untuk partikel dari ukuran submicron sampai dengan millimeter, (2) *counter principle* untuk mengukur dan menghitung partikel yang berukuran micron sampai dengan millimeter, dan (3) penghamburan sinar untuk mengukur partikel yang berukuran micron sampai dengan nanometer (Etzler dan Sanderson., 2014).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni–November 2022 di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT) Universitas Lampung. Karakterisasi FTIR, SEM, dan Spektrofotometer UV-Vis dilaksanakan di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT) Universitas Lampung, dan karakterisasi PSA dilaksanakan di Laboratorium Universitas Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (gelas beaker, gelas ukur, pengaduk kaca, erlenmeyer, labu ukur, pipet tetes), spatula, aluminium foil, saringan, neraca analitik Wigggen Hauser JD 300-3, oven, heating magnetic stirrer Wigggen Hauser HPS 630, Spektrofotometer Fourier Transform Infra Red (FTIR) Agilent Technologies Carey 630, ultrafreezer, freeze-drying, plasti wrap, Spektrofotometer UV-Vis, indikator PP, *autoclave* Tomy SX-700 *High-Pressure Steam Sterilizer*, *Rotary Evaporator* Buchi/Ratavor R-20 pada tekanan 250 mBar, *Medium Pressure Liquid Chromatography* (MPLC) (BUCHI sepacore Flash System X50) dengan kolom silika 40 m 40 g Buchi Reveleris, sentrifuge seri HITACHI CF16RXII), mikropipet Volac Smart Gen-Next Pipette (100-1000 uL), aerator, lampu TL (Tube Light) 35 watt, Drying Oven J-300S, Penangas *Hot Plate* Wigggen Houser HPS 630,, pipa L, PSA (Particle Size Analyzer) *malven Instrument Ltd*, SEM (Scanning Electron Microscopy) Zeiss Evo 10, corong, dan *plate* 96 well.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini kulit udang dari pengepul di Teluk Bandar Lampung, HCl 1M, etanol (EtOH), akuades, NaOH 1M dan 12,5 M, aquades, garam krosok, KNO₃ dari pupuk pertanian sebagai sumber nitrogen, Na₂SiO₃, FeCl₃, pupuk TSP (*triple super phosphate*) sebagai sumber fosfor, senyawa fukosantin, kitosan (KS) dengan berat molekul 50.000–190.000 Dalton (WAKO), sodium tripolifosfat (STPP), asam asetat glasial 1,5 %, tween 80, dan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Material diatom *C.striata* diambil dari koleksi Laboratorium Biokimia Gedung Riset dan Inovasi Institut Teknologi Bandung. *C.striata* yang ditumbuhkan pada penelitian ini merupakan spesies mikroalga yang berasal dari Pulau Tanjung Bidadari Kepulauan Seribu Indonesia, sehingga disebut sebagai *C.striata* galur TBI (Tanjung Bidadari Island).

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Isolasi Kitin dari Kulit Udang

3.3.1.1 Deproteinasi

Kulit udang hasil demineralisasi ditambahkan dengan NaOH 1 M dengan perbandingan 1:10 (g/mL). Campuran kulit udang dan NaOH dilakukan pengadukan dengan stirrer selama 3 jam pada suhu 70°C, dilakukan penyaringan pada kulit udang dan dicuci dengan akuades hingga pH netral. Kulit udang yang sudah mencapai pH netral direndam dengan etanol hingga terendam selama 10 menit. Kulit udang lalu disaring kembali dan dikeringkan di dalam oven (Antonino *et al.*, 2017).

3.3.1.2 Demineralisasi

Kulit udang sebanyak 50 gram dimasukkan ke dalam gelas beaker 1 L , HCl 1 M ditambahkan sebanyak 500 mL, dan dilakukan pengadukan pada campuran

tersebut dengan menggunakan stirrer selama 2 jam. Kulit udang disaring menggunakan saringan, lalu kulit udang dicuci dengan akuades hingga mencapai pH netral. Setelah netral kulit udang direndam menggunakan etanol untuk pemutihan selama 10 menit. Kulit udang selanjutnya disaring kembali dan dimasukkan ke dalam oven hingga kering (Antonino *et al.*, 2017).

3.1.2 Pembuatan Kitosan

Kitin sebanyak 15 gram direaksikan dengan NaOH 12,5 M pada rasio w/v 1:15 (g/mL). Campuran didinginkan dan dibekukan dalam ultrafreezer selama 24 jam, setelah 24 jam dilakukan pengadukan dengan *magnetic stirrer* selama 4 jam pada suhu 115⁰C. Kitosan yang dihasilkan disaring dan dicuci dengan akuades hingga mencapai pH netral, lalu kitosan dikeringkan. Kitosan yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender (Antonino *et al.*, 2017).

3.1.3 Preparasi Fukosantin

Kultur indukan *C.striata* dikultivasi dalam media air laut buatan 22 ppt (*part per thousand*) yang telah di-*autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121⁰C pada 1,2 MPa. Air laut yang telah steril, ditambahkan larutan KNO₃ sebanyak 1,8 mL/1000 mL, FeCl₃ 1,8 mL/1000 mL, TSP 2,3 mL/1000 mL, dan NaSiO₃ 1,38 mL/1000 mL. Kondisi cahaya diatur 12 jam terang dan 12 jam gelap dengan intensitas cahaya 95 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ untuk proses fotosintesis, serta diaerasi secara terus menerus selama proses kultivasi berlangsung (Kusumaningtyas *et al.*, 2017).

C.striata yang telah dikultur selama 14 hari selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm pada suhu 4⁰C selama 5 menit (Medina *et al.*, 2019). Biomassa yang diperoleh kemudian ditimbang menggunakan neraca analitik KERN:ABS 220-4. Biomassa sebanyak 4,8 gram diekstrak dengan EtOH dengan perbandingan 1:3 (w/v) (Wang *et al.*, 2018), kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit (Medina *et al.*, 2019), pekerjaan ini dilakukan sebanyak 2 kali. Supernatan yang diperoleh dievaporasi pada labu 50 mL menggunakan *Rotary Evaporator* Buchi/Ratavor R-20 pada tekanan awal 250 Mbar dan ekstrak yang diperoleh ditimbang menggunakan neraca analitik KERN:ABS 220-4 untuk mengetahui berat ekstrak. Ekstrak yang didapat

diidentifikasi menggunakan plat kaca silika 60G F254 (Merck) sebagai fase diam dan EtOH sebagai pelarut. Plat KLT selanjutnya diamati di bawah lampu UV Kohler/SN402006 pada λ 254 nm untuk mendeteksi ikatan konjugasi, kemudian dihitung nilai Rf nya. Sampel difaksinasi menggunakan MPLC dengan kolom *sepacore* silika 40 gram dan pelarut EtOH. Laju alir diatur 25mL/min dan dideteksi menggunakan detektor PDA (*Photo Diode Array*) pada λ 364 nm, λ 254 nm, dan λ 220 nm. Setiap fraksi ditampung menggunakan pengumpul fraksi (*Fraction collector*) setiap 10mL. Fraksi yang diperoleh berdasarkan kromatogram kemudian dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis, prosedur dapat dilihat pada **Lampiran 12**.

3.3.2 Pembuatan Partikel Kitosan (PK)

Partikel Kitosan (PK) dibuat dengan cara melarutkan 0,1 gram kitosan ke dalam 100 mL asam asetat glasial 1,5%. Larutan tersebut distirer selama 1 jam. Larutan STPP ditambahkan ke dalam larutan kitosan sebanyak 40 mL secara perlahan sambil dilakukan pengadukan kembali dengan magnetic stirrer selama 1 jam. Kemudian dimasukkan ke dalam botol dan ditutup rapat dengan plastik wrab, dimasukkan ke dalam pendingin selama 1x24 jam, dan dianalisis menggunakan PSA (Abdel-Hafez *et al.*, 2017)

3.3.3 Partikel Kitosan Fukosantin (PK-FX)

Partikel kitosan-Fukosantin (PK-FX) dibuat dengan melarutkan 0,1 gram kitosan ke dalam 100 mL asam asetat glasial 1,5%, larutan tersebut distirer selama 1 jam. Larutan tersebut distirer selama 1 jam. Larutan STPP ditambahkan ke dalam larutan kitosan sebanyak 40 mL secara perlahan sambil dilakukan pengadukan kembali dengan magnetic stirrer selama 1 jam. Larutan itu ditambahkan tween 80 dengan konsentrasi 0,2 % sebanyak 200 mikromiliter distirer selama 10 menit. Selanjutnya fukosantin 0,001 gram dilarutkan dengan 10 mL methanol dengan konsentrasi 0,0830%, campuran tersebut distirer selama 30 menit. Setelah selesai masukan ke dalam botol dan tutup rapat dengan plastik wrab, kemudian dimasukkan dalam ultrafreezer selama 1x24 jam .setelah itu dikeluarkan dan di *freezerdrying* sampai kering (Abdel-Hafez *et al.*, 2017).

3.3.3.1 Karakterisasi

3.3.3.2 Spektrofotometer FTIR

Analisis gugus fungsi dilakukan pada senyawa kitosan menggunakan spektrofotometer FTIR dengan kisaran antara daerah 400-500 cm⁻¹.

3.3.3.3 PSA (Particle Size Analyzer) dan Potensial Zeta

Distribusi ukuran partikel dianalisis dengan PSA (Particle Size Analyzer), (Malvern Instruments Ltd., Malvern, U.K.).

3.3.3.4 SEM (scanning electron microscope)

Morfologi partikel diperiksa dengan *scanning electron microscope* (SEM) sampel dibekukan dengan *freeze dry* dan diperiksa dengan SEM.

3.3.3.5 Encapsulation Efficiency (EE)

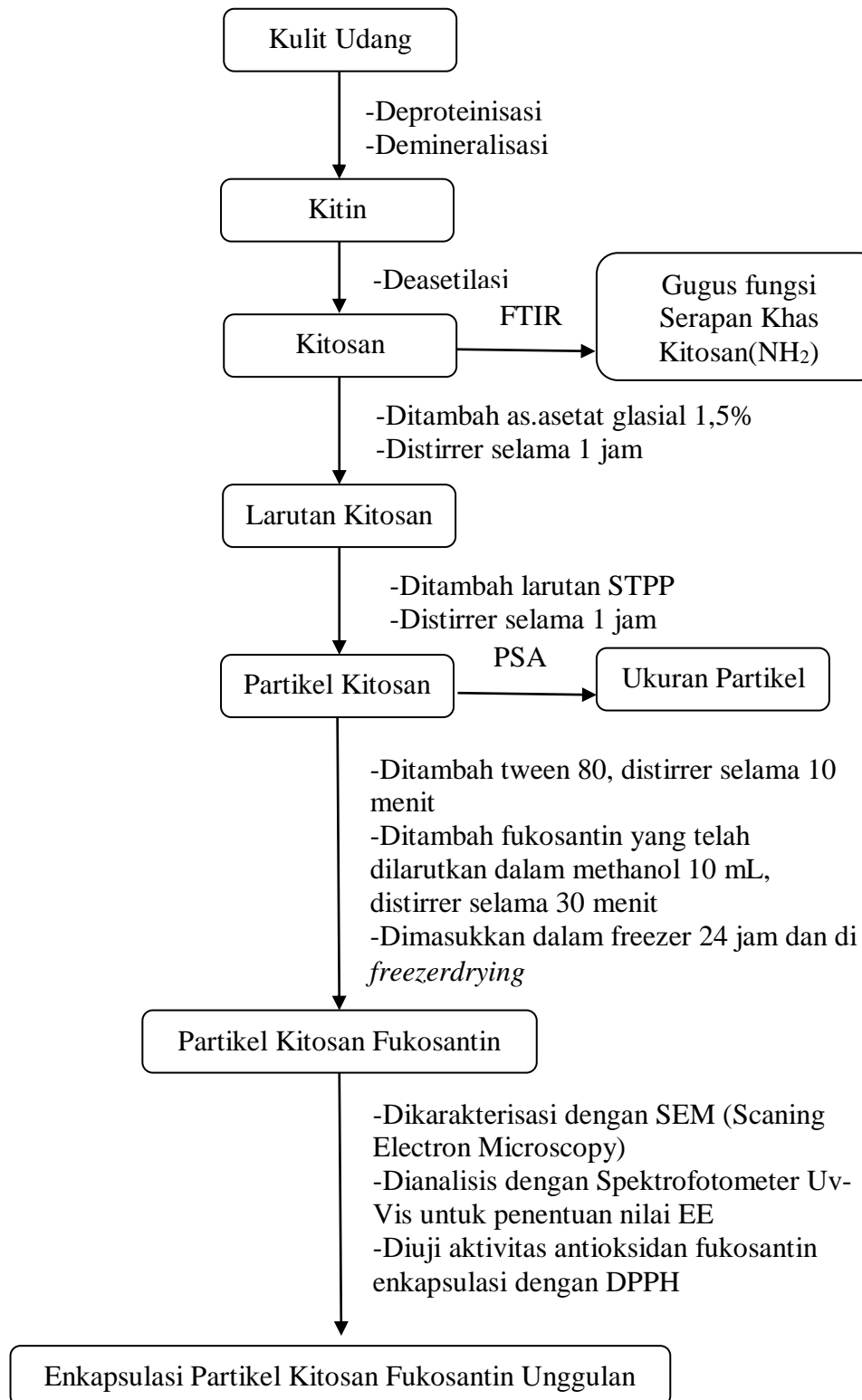
EE fukosantin ditentukan dengan pemisahan nanopartikel dari media cair yang mengandung fukosantin menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang λ 448nm menggunakan dua sampel yaitu fukosantin standard dan fukosantin yang telah dienkapsulasi. Fukosantin standard dan fukosantin yang telah dienkapsulasi diukur kadarnya dengan cara dimasukan 3mL sampel kedalam kuvet . Semua pengukuran dilakukan secara bergantian, data dapat dilihat pada **Lampiran. 8**, *Encapsulation Efficiency* (EE) dari fukosantin dihitung seperti persamaan 1.

$$EE = \frac{\text{Kadar Total Fx} - (\text{Kadar Total Fx} - \text{Kadar Fx dalam Partikel})}{\text{Kadar Total Fx}} \times 100\%$$

3.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian dilakukan pada sampel enkapsulasi dengan menggunakan radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan mikroplate 96 sumuran (well). Sampel enkapsulasi dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 125 ppm, dan 62,5 ppm masing –masing 3 kali ulangan. Sebanyak 150 mikroliter sampel dari setiap konsentrasi dimasukkan ke dalam sumuran mikroplate, kemudian ditambahkan 50 mikroliter larutan DPPH pada setiap seri konsentrasi. Sebagai blanko digunakan methanol p.a sebanyak 150 mikroliter 3 ulangan. Sebagai control (tanpa perlakuan ekstrak) dibuat dengan cara menambahkan 150 mikroliter methanol p.a pada mikroplate yang ditambahkan 50 mikroliter DPPH 3 kali ulangan. Mikroplate kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan tempat yang gelap selama 30 menit. Setelah 30 menit, absorbansi dari tiap sumuran dibaca dengan dynex microplate reader pada panjang gelombang 630 nm.

3.5 Diagram Alir



Gambar 6. Diagram Alir Enkapsulasi Fukosantin

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Pada uji aktivitas antioksidan didapatkan nilai IC_{50} sebesar 13 ppm yang menandakan fukosantin yang terenkapsulasi memiliki sifat antioksidan yang kuat.
2. Pada penentuan nilai EE (Encapsulation Efficiency) didapatkan nilai sebesar 26,57% menunjukkan fukosantin yang tersalut pada nanopartikel kitosan masih sedikit.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan penelitian lebih lanjut untuk penentuan nilai EE (Encapsulation Efficiency) dilakukan setiap hari dan pada proses pembuatan nanopartikel kitosan fukosantin disarankan menggunakan labu didih 3 leher untuk mengoptimalkan proses enkapsulasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Hafez, S. M., Hathout, R. M., and Sasmour, O. A. 2017. Tracking the transdermal penetration pathways of optimized curcumin-loaded chitosan nanoparticles via confocal laser scanning microscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*. 108. 753-764.
- Agustina, S., Swantara, I., and Suartha, I., 2015. Isolasi Kitin, Karakterisasi, Dan Sintesis Kitosan Dari Cangkang Udang. *Jurnal Kimia*. 9(2). 271–278.
- Antonino R. S., Oliveira Lima, V. A., and Lia Fook, R. J. 2017. Preparation and Characterization of Chitosan Obtained from Shells of Shrimp (*Litopenaeus vannamei Boone*). *Marine Drugs*. 15, 141.
- Artanti, A. N., Etanol, E. and Family, S. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ethanol Daun Family Solanum Menggunakan Metode Reduksi Radikal Bebas. 62-69.
- Badarinath A, Rao K, Chetty CS, Ramkanth S, Rajan T, and Gnanaprakash K. A. 2010. In-vitro Antioxidant Methods : Comparisons, Correlations, and Considerations. *International Journal of PharmTech Research*. 1276-1285.
- Bano, I., Arshad, M., Yasin, T., Ghauri, M. and Younus, M. 2017. Chitosan: A Potential Biopolymer for Wound Management. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102. 380-383.
- Buffo, R.A., and Reineccius, G.A., 2001, Comparison Among Assorted Drying Processes for the Encapsulation of Flavors, *J. Perfumer and Flavorist*, 26, 58–67.
- Bhumkar, D.R., and Pokharkar, V.B. 2006. Studies on Effect of pH on Cross-Linking of Chitosan with Sodium Tripolyphosphate: A Technical Note, *AAPS PharmSciTech*. E138-E143.

- Cevallos, P., Peggy, A., Maria, P., Buera, Beatriz, E., and Elizalde., 2010. Encapsulation of Cinnamon and Thyme Essential Oils Components (Cinnamaldehyde and Thymol in β -cyclodektrin: Effect of Interactions with Water on Complex Stability. *J Food Engginering*.(30):80-92.
- Dompeipen, E.J., Kaimudin, M., and Dewa, R.P., 2016. Isolasi Kitin dan Kitosan dari Limbah Cangkang Udang. *Majalah Biam*. 12(1). 32-39.
- Dubey, R., Shami, T.C., and Rao, K.U.B., 2009, Microencapsulation technology and applications, *Defence Sci, J*. 59(1), 82-95.
- Etzlet, F. M., and Sanderson, M. S. 2014. Particle Size Analyzer: a Comparative Study of Various Methodes. *Part.Syst.Character*. 12(2014), 217-224.
- Harjadi, W. 2003. *Ilmu Kimia Analitik Dasar*. PT Gramedia Pustaka Utama.
- Harun, R., Singh, M., Forde, G.M., and Danquah, M.K. 2010. Bioprocess Engineering of Microalgae to Produce A Variety of Consumer Products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14. 1037–1047.
- Hernani, and Raharjo, M.2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadya.
- Irvani, N., Hajiaghaee, R., and Zarekarizi, A.R. 2018. A Review on Biosynthesis, healt benefits and extraction methods of fucoxanthin, particular marine carotenoid in algae. *Journal of Medicinal Plants*, 17(67): 6- 30.
- Jayanudina, J., Rochmadib, R., Renaldi, M. K., and Pangihutana, P. 2017. Pengaruh Bahan Penyalut Terhadap Efisiensi Enkapsulasi Oleoresin Jahe Merah. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 13(2). 275–287.
- Jyothi, N. V. N., Prasannan, P. M., Sakarkar, S. N. Prabha, K. S., Ramaiah, P.S., and Srawan, G.Y. 2012. *Microencapsulasion : a review involved*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 3(1), 509-531.
- Kawee-ai, A., Kuntiya, A., and Kim, A. M. 2013. Anticholinesterase and sntioxidant activities of fucoxanthin purified from the microalgae

Phaeodactylumtricornutum. Natural Product Communication, 8 (10), 1381-1386.

Khopkar, S.M.2003. Konsep Dasar Kimia Analitik. Jakarta: UI Press.

Komariah, S. 2010. Kombinasi Emulsi dan Ultrasonik dalam Nanoenkapsul Ibuprofen Tersalut Polipaduan Poli(As.Laktat) dan Poli(E-Karpolakton). FMIPA IPB. Bogor.

Kusumaningtyas, P., and Nurbaiti, S. 2017. Enhanced oi Production By The Tropical Marine Diatom *Thalassiosira Sp.* Cultivated In Outdoor Photobioreactors. *Applied Biochemistry And Biotechnology*. 182(4).

Mahatmanti, F. W. 2001. *Study Adsorben Logam Seng (II) dan Timbal (II) pada Kitosan dan Kitosan Sulfat dari Kulit Udang Windu (Phenaus monodon)*. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.

Marganov. 2003. *Potensi Limbah Udang sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium, dan Tembaga) di Perairan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Mishra, P., Mishra, S., and Mahanta, C. L. 2016. Effect of Maltodextrin concentracion and intelt temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla juice powder. *Food and Bioproducts Processing*. 92 (3): 252-258.

Miyashita, K., Beppu,F., Hosokawa, M., Liu,X., and Wang, S. 2020. Bioactive significance of Fucoxanthin and its Effective extraction.*Biocatllysis and Agriculture Biotechnhnology*.26,108364.

Mohamadnia, S., Tavakoli, O., and Faramarzi, M. A., and Shamsollahi, Z. 2020. Production of fucoxanthin by the microalga *Tisochrysis lutea*: A review of recent developments. *Aquaculture*, 516.

Murti, P. D. B. *et al.* 2011. Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS. 1-7.

Nadia. 2014. Preparation and characcterization of chitin and chitosan-a review. *Journal Aqua Food Prod Technol*. 42(2):27-52.

- Nie, J., Chen, D., Lu, Y., and Dai, Z. 2021. Effects of various blanching methods on fucoxanthin degradation kinetics, antioxidant activity, pigment composition, and sensory quality of *Sargassum fusiforme*. *Lwt*, **143**.
- Odete, P. M. O., Struszczyk, M. K., and Peter, M. G. 2005. Characterization of Chitosan from Blowfly Larvae and Some Crustacean Species from Kenyan Marine Waters Prepared Under Different Conditions. *Western Indian Ocean J Sci.* 4(1) : 99-107.
- Peng J., J.P. Yuan, C. F. Wu and J. H. Wang. 2011. Fucoxanthin, a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health. *Marine Drugs* 9.
- Piovan, A., Seraglia, R., Bresin, B., Caniato, R., and Filippina R. 2013. Fucoxanthin from *Undaria pinnatifida*: Photostability and coextractive effects. *Molecules*, 18 (6), 6298-6310.
- Poojary, M., Barba, F., Aliakbarian, B., Donsi, F., Pataro, G., Dias, D., and Juliano, P. 2016. Innovative alternative technologies to extract carotenoids from microalgae and seaweeds. *Marine Drugs*, 14 (11), 214.
- Priyadarshi, R., Sauraj, Kumar, B., and Negi, Y.S. 2018. Chitosan Film Incorporated with Citric Acid and Glycerol as an Active Packaging Material for Extension of Green Chilli Shelf Life. *Carbohydrate Polymers*.
- Purnamawaty, L., Dewi, E. N. and Kurniasih, R. A. 2016. Karakteristik fisik mikrokapsul fikosianin spirulina pada konsentrasi bahan penyalut yang berbeda physical characteristics of spirulina phycocyanin microcapsules using different concentrations of coating materials'IX(1).
- Rahman, N. A., Katayama, T., Effendy, M., Wahid, A., Monica, H., and Peralta, M. 2020. Taxon- and Growth Phase-Specific Antioxidant Production By Chlorophyte, Bacillariophyte, and Haptophyte Strains Isolated From Tropical Waters. *Frontiers In Bioengineering And Biotechnology*. 1–16.
- Rahmi, S., Haryanto, T. and Pratiwi, N. T. M 2013. Pengenalan Genus Diatom Menggunakan Principal Component Analysis dan Jaringan Saraf Tiruan Propagasi Balik Sebagai Classifier Identification of the Diatoms Genus Using Principal Component Analysis and Backpropagation Neural Network

as Classifier', *Jurnal Komputer Agri-Informatika*,2 (Thomas 1997),pp.38-46.

- Raza,A., Shagufta,N., Nazar,U.I., Ali,T.K., Shaukat, A., Muhammad, A.K., and Zabta, K.S. 2020. Current state and prospects of the phytosynthesized colloidal gold nanoparticles and their applications in cancer theranostics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 101. 3551–3565.
- Santiyoga, I. K. W., Suhendra, L. and Wartini, N. M . 2022. Karakteristik Ekstrak Alga Coklat (*Sargassum polycystum*) sebagai Antioksidan pada Perlakuan Perbandingan Pelarut Aseton dan Etilasetat, 8(1), pp.91-104
- Shannon, E., and Abu-Ghannam, N. 2017. Optimisation of fucoxanthin extraction from Irish seaweeds by response surface methodology. *Journal of Applied Phycology*, **29**(2), 1027–1036.
- Smallman, R. E. 2000. *Metalurgi Fisik Modern Edisi Keempat*. PT GramediaPustaka Utama. Jakarta.
- SNI 7949., 2013. *Kitosan - Syarat Mutu dan Pengolahan*. 298/KEP/BSN/12/2013. tanggal Penetapan 24 Desember
- Sulistiyani, Y., Sabdono, A. and Afiati, N. 2021. Fucoxanthin Identification and Purification Of Brown Algae Commonly Found In Lombok Island , Indonesia. *Biodiversitas*. 22(3). pp. 1527–1534.
- Susilowati R and Januar, H.I . 2014. Variasi Temporal dan Stabilitas Fisik dan Kimia Senyawa Bioaktif Karotenoid Rumpun Laut Coklat' *JPB Perikanan*, IX(1),pp.21-28.
- Thariq, M. R. A. 2016. Pengembangan Kitosan Terkini pada Berbagai Aplikasi Kehidupan. Jurusan Teknik kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau.
- Wijaya, E., 2017. 2013. Pembuatan Kitosan dan Pemanfaatannya Sebagai Agen Koagulasi-Flokulasi. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik. Universitas Sriwijaya.

Yoksan, R., Jirawutthiwongchai, J., and Arpo, K. 2010. Encapsulation of ascorbyl palmitate in chitosan nanoparticles by oil-in water emulsion and ionic gelation processes. *Colloids and Surface B: Biointerfaces* 76 (1), 292-297.