

**KARAKTERISASI DAN ENKAPSULASI SENYAWA KUMARIN
DENGAN MENGGUNAKAN KITOSAN SEBAGAI PENYALUT**

(Skripsi)

Oleh

FAUZIA SABRINA



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

ABSTRAK

KARAKTERISASI DAN ENKAPSULASI SENYAWA KUMARIN DENGAN MENGGUNAKAN KITOSAN SEBAGAI PENYALUT

Oleh

FAUZIA SABRINA

Kumarin merupakan senyawa bioaktif yang banyak ditemukan pada tumbuhan serta memiliki banyak manfaat bagi industri kesehatan maupun industri lainnya. Akan tetapi, kumarin memiliki kestabilan yang masih rendah yang dapat mempengaruhi kualitas kumarin dalam pengaplikasiannya diberbagai industri. Enkapsulasi merupakan salah satu teknologi yang dapat digunakan untuk menjaga atau meningkatkan kestabilan dari suatu senyawa aktif dengan menggunakan bahan penyalut berupa kitosan. Kitosan didapatkan dari berbagai limbah perikanan seperti kulit udang. Nanopartikel kitosan memiliki sifat yang baik digunakan untuk melindungi senyawa aktif. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendapatkan senyawa kumarin yang stabil sehingga dapat meningkatkan kualitas kumarin. Metode yang dilakukan pada penelitian ini yaitu meliputi preparasi kitosan, pembentukan partikel kitosan dan proses enkapsulasi. Identifikasi gugus fungsi kitosan dengan Spektrofotometer FTIR didapatkan gugus fungsi serapan khas kitosan yaitu amina (NH_2) pada bilangan gelombang 1379 cm^{-1} dengan nilai Derajat Deasetilasi (DD) sebesar 81,32%. Analisis ukuran partikel kitosan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) didapatkan partikel kitosan berupa nano sebesar 45,85 nm. Analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM) terhadap kumarin yang telah dienkapsulasi menghasilkan morfologi permukaan agretat tidak beraturan. Nilai efisiensi enkapsulasi yang didapatkan sebesar 12,5% dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Uji aktivitas antioksidan kumarin dengan DPPH didapatkan nilai IC_{50} sebesar 9,287 ppm, membuktikan bahwa aktivitas antioksidan pada kumarin berada pada kategori sangat kuat, dan dapat menghambat radikal bebas.

Kata Kunci : kumarin, enkapsulasi, kitosan, nanopartikel.

ABSTRACT

CHARACTERIZATION AND ENCAPSULATION OF COUMARINE COMPOUNDS USING CHITOSAN AS A COATING

By

FAUZIA SABRINA

Coumarins are bioactive compounds that are found in many plants and have many benefits for the health industry and other industries. However, coumarin has low stability which can affect the quality of coumarin in its application in various industries. Encapsulation is a technology that can be used to maintain or increase the stability of an active compound by using a coating material in the form of chitosan. Chitosan is obtained from various fishery wastes such as shrimp shells. Chitosan nanoparticles have good properties used to protect bioactive compounds. The purpose of this research is to obtain stable coumarin compounds so as to improve coumarin quality. The methods used in this study included the preparation of chitosan, the formation of chitosan particles and the encapsulation process. Identification of the chitosan functional groups with the FTIR spectrophotometer showed that the absorption functional group typical of chitosan was amine (NH₂) at wave number 1379 cm⁻¹ with a Deacetylation Degree (DD) value of 81.32%. Chitosan particle size analysis using the Particle Size Analyzer (PSA) obtained chitosan particles in the form of nano as large as 45.85 nm. Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis of encapsulated coumarins produced irregular aggregate surface morphology. The encapsulation efficiency value obtained was 12.5% using a UV-Vis Spectrophotometer. The antioxidant activity test of coumarins with DPPH obtained an IC₅₀ value of 9.287 ppm, proving that the antioxidant activity of coumarins is in the very strong category, and can inhibit free radicals.

Keywords : coumarin, encapsulation, chitosan, nanoparticles.

**KARAKTERISASI DAN ENKAPSULASI SENYAWA KUMARIN
DENGAN MENGGUNAKAN KITOSAN SEBAGAI PENYALUT**

Oleh

FAUZIA SABRINA

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
KUMARIN DENGAN MENGGUNAKAN KITOSAN
SEBAGAI PENYALUT**

Nama : **Fauzia Sabrina**

NPM : **1817011078**

Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



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, 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 : 27 Januari 2023

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Fauzia Sabrina
Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011078
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya berjudul **“Karakterisasi dan Enkapsulasi Senyawa Kumarin dengan Menggunakan Kitosan Sebagai Penyalut”** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil dan analisisnya serta tidak terdapat karya yang pernah dilakukan ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 27 Januari 2023

Yang Menyatakan,



Fauzia Sabrina
NPM. 1817011078

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Fauzia Sabrina, lahir di Metro pada tanggal 20 November 1999. Penulis merupakan anak kelima dari enam bersaudara, putri dari pasangan Bapak Afdal Zikri dan Ibu Amelia. Penulis bertempat tinggal di Mulyojati, Metro Barat, Kota Metro, Lampung.

Penulis menempuh pendidikan mulai dari Taman Kanak-Kanak (TK) di TK PKK diselesaikan pada tahun 2006, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Negeri 3 Metro Barat pada tahun 2012, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Muhammadiyah 1 Metro pada tahun 2015. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Muhammadiyah 1 Metro, dengan tahun lulus 2018. Pada tahun 2018, penulis terdaftar sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) yang diselesaikan pada tahun 2023.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah mengikuti organisasi kemahasiswaan Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) sebagai Kader Muda Himaki pada periode 2018, dan sebagai anggota Biro Kesekretariatan pada periode 2019. Selama kepengurusan penulis aktif mengikuti berbagai kegiatan yang diadakan oleh himpunan. Pada tahun 2021, penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di Kelurahan Ganjar Asri, Kecamatan Metro Barat, Kota Metro. Penulis juga menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi (UPT-LTSIT) Universitas Lampung.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**“Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi
Maha Penyayang”**

Dengan mengucapkan *Alhamdulillah* *robbil ‘alamin* atas ridho Allah dengan segala rasa syukur kupersembahkan karya sederhana ini kepada :

Keluarga Tercinta

Papa, Mama, Uni, Abang, dan Adik yang telah banyak memberikan dukungan, motivasi, doa dan kasih sayang tiada henti kepada penulis.

Rasa hormat saya kepada :

Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si., Prof. Andi Setiawan, Ph.D., Prof. Dr. John Hendri, M.S., dan seluruh dosen jurusan Kimia FMIPA UNILA yang telah banyak membantu dalam membimbing serta memberikan ilmu yang bermanfaat selama penulis menempuh pendidikan di kampus hingga mencapai gelar sarjana.

Keluarga besar dan sahabat-sahabatku yang selalu mendoakan dan memberikan semangat untukku.

Serta

Almamater Tercinta Universitas Lampung

MOTTO

“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(QS. Al-Baqarah : 286)

“Angin tidak berhembus untuk menggoyangkan pepohonan, melainkan menguji kekuatan akarnya”

(Ali bin Abi Thalib)

“The possibility of all those possibilities being possible is just another possibility that can possibly happen”

(Mark Lee)

“Selesaikan apa yang sudah dimulai. Tuntaskan apa yang sudah diambil. Nikmati prosesnya”

(Anonim)

SANWACANA

Alhamdulillah robbil 'alamin. Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat serta salam selalu turunkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga dan para sahabatnya.

Skripsi dengan judul “***Karakterisasi dan Enkapsulasi Senyawa Kumarin dengan Menggunakan Kitosan Sebagai Penyalut***” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Kimia di Universitas Lampung. Skripsi ini dapat selesai berkat bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Teriring doa yang tulus, penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si., selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, saran dan kritik serta meluangkan waktunya selama membimbing sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D., selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran, dan kritik sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Bapak Prof. Dr. John Hendri, M.S., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan banyak masukan serta saran yang dapat membantu sehingga skripsi ini selesai dengan baik.
4. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, yang telah memberikan arahan selama masa perkuliahan di Universitas Lampung.
5. Ibu Dr. Dian Herasari, M.Si., selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama masa perkuliahan.
6. Kedua orangtua penulis, Papa Afdal Zikri dan Mama Amelia yang telah banyak membantu memberikan support, dan mendoakan, serta sebagai tempat berbagi keluh kesah penulis.

7. Uni, Abang, dan Adik penulis, Vera Afriyani, Rizka Aminy, Ahmad Shaleh Hafiz, Dini Fadhila Islamy, Putri Arifah Zahra yang telah memberikan semangat, dukungan, doa dan motivasi kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan bisa mencapai gelar sarjana.
8. Abang Irwan, Abang Fadil, Uni Icaa dan keponakan tersayang Muhammad Farrel Azzikri, serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan doa serta dukungannya selama ini.
9. Para “Pejuang Wisuda”, Firda Tiara Rochman, Lily Nur Safitri, Lupia Widya Astuti, dan Mey Dhea Tami Putri, yang telah memberikan doa serta dukungan mulai dari menjadi mahasiswa baru sampai dengan sekarang. *See you guys !!*.
10. Partner penelitian, seperbimbingan “Ni Luh *Research* 18” Wulandari dan Anggi Lefiyani yang telah memberikan banyak dukungan dan doa, serta sebagai tempat berbagi keluh kesah dan juga keceriaan selama penelitian.
11. Adik-adik “Ni Luh *Research* 19” Novita, Ify, Sinur dan Leha, yang telah memberikan dukungan serta semangatnya.
12. Kakak-kakak “Ni Luh *Research* 16 dan 17”, kak dea, kak vio, kak dahlia, kak nadia, kak gisti, kak merry, kak lia, dan kak widya yang telah membantu dan memberikan semangat.
13. Rekan-rekan UPT-LTSIT yang tidak bisa disebutkan satu persatu.
14. Para penghuni “Apartemen Kinasih 88” Natasha Azaria, Vezhia Sheiscatamy, Nur Mayana Putri yang telah mendoakan dan memberikan dukungan selama ini.
15. Keluarga Kimia Angkatan 2018 yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
16. Almamater tercinta, Universitas Lampung.

Penulis menyadari masih terdapat kekurangan pada skripsi ini baik dalam penulisan maupun isinya. Oleh sebab itu, penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang dapat membangun sehingga dapat lebih baik lagi untuk yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat serta berguna bagi para pembaca.

Bandar Lampung, 27 Januari 2023

Fauzia Sabrina

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| DAFTAR TABEL | iii |
| DAFTAR GAMBAR | iv |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.3. Manfaat Penelitian | 3 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1. Kumarin | 4 |
| 2.2. Kitosan | 5 |
| 2.3. Enkapsulasi | 6 |
| 2.4. DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) | 8 |
| 2.5. Spektrofotometer <i>Fourier Transform Infra-Red</i> (FTIR) | 9 |
| 2.6. Spektrofotometer UV-Vis | 10 |
| 2.7. <i>Particle Size Analyzer</i> (PSA) | 11 |
| 2.8. <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM) | 12 |
| III. METODE PENELITIAN | 14 |
| 3.1. Waktu dan Tempat | 14 |
| 3.2. Alat dan Bahan | 14 |
| 3.3. Prosedur Penelitian | 15 |
| 3.3.1. Preparasi Kitosan | 15 |
| 3.3.2. Pembentukan Partikel Kitosan (PK) | 16 |
| 3.3.3. Enkapsulasi Partikel Kitosan-Kumarin (PK-K)..... | 16 |
| 3.3.4. Karakterisasi | 17 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 20 |
| 4.1. Produksi Kitosan | 20 |
| 4.1.1. Deproteinasi | 20 |
| 4.1.2. Demineralisasi..... | 22 |
| 4.1.3. Deasetilasi | 23 |
| 4.2. Pembentukan Partikel Kitosan | 25 |
| 4.3. Enkapsulasi Partikel Kitosan Kumarin | 28 |
| 4.4. Morfologi Enkapsulasi Kumarin..... | 29 |
| 4.5. <i>Encapsulation Efficiency</i> (EE) | 30 |
| 4.6. Uji Aktivitas Antioksidan Kumarin Enkapsulasi..... | 31 |

| | |
|------------------------------------|----|
| V. SIMPULAN DAN SARAN | 33 |
| 5.1. Simpulan..... | 33 |
| 5.2. Saran..... | 33 |
| DAFTAR PUSTAKA | 34 |
| LAMPIRAN | 41 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|---------|
| 1. Gugus Fungsi Kitosan Hasil Analisis IR | 25 |
| 2. Perhitungan Derajat Deasetilasi Kitosan..... | 25 |
| 3. Nilai <i>Encapsulation Efficiency</i> (EE) | 30 |
| 4. Persen Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Kumarin Enkapsulasi..... | 31 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 1. Struktur Kumarin | 4 |
| 2. Struktur Kitosan | 6 |
| 3. Komponen-Komponen Enkapsulasi | 7 |
| 4. Skema Spektrofotometer FTIR | 10 |
| 5. Skema Spektrofotometer UV-Vis | 11 |
| 6. Skematik Komponen Inti <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM)..... | 13 |
| 7. Skema Prosedur Penelitian..... | 19 |
| 8. Limbah Kulit Udang | 20 |
| 9. Kulit Udang Hasil Deproteinasi | 21 |
| 10. Kitin Hasil Demineralisasi | 23 |
| 11. Kitosan Hasil Deasetilasi | 24 |
| 12. Spektrum FTIR Kitosan Hasil Isolasi | 24 |
| 13. Larutan Partikel Kitosan | 26 |
| 14. Interaksi antara Kitosan dengan Sodium Tripolifosfat | 27 |
| 15. Analisis PSA Partikel Kitosan | 27 |
| 16. Larutan Enkapsulasi Partikel Kitosan Kumarin..... | 28 |
| 17. Serbuk Enkapsulasi Hasil <i>Freezdry</i> | 29 |
| 18. Mikrograph Enkapsulasi Kumarin | 30 |
| 19. Kurva Pengujian Antioksidan Kumarin Enkapsulasi | 32 |

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kesadaran masyarakat akan pentingnya kesehatan semakin meningkat mendorong bertambahnya konsumsi produk yang mengandung suatu senyawa bioaktif. Prabowo *et al.*, (2014) menyatakan telah banyak dilakukan penelitian terhadap senyawa bioaktif untuk tujuan kesehatan, mulai dari dijadikan suplemen sampai obat bagi kebutuhan manusia. Kumarin merupakan salah satu senyawa bioaktif metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan. Kumarin memiliki spektrum aktivitas biologis dan farmakologis yang luas termasuk menstimulasi pembentukan pigmen kulit, mempengaruhi kerja enzim, anti-koagulan darah, antiinflamasi, antioksidan, antikanker, antimikroba dan menunjukkan aktivitas menghambat efek karsinogen (Setiawan dan Rakhmawaty, 2014).

Kumarin memiliki tingkat kestabilan dan kelarutan dalam air yang masih rendah. Rendahnya stabilitas dari senyawa kumarin dapat dipengaruhi oleh lingkungan (Kusbiantoro dan Purwaningrum, 2018). Kestabilan dari kumarin penting untuk diperhatikan sebagai dasar dalam memformulasikan dan meningkatkan kualitas suatu produk yang dihasilkan, sehingga diperlukannya teknologi untuk menjaga stabilitas dari senyawa tersebut, baik dari sifat biologis maupun fungsional (Asri dan Wibowo, 2021). Salah satu teknik untuk memodifikasi kumarin tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan teknik enkapsulasi.

Teknik enkapsulasi telah banyak dilakukan untuk melindungi suatu zat atau bahan yang sensitif terhadap lingkungan dengan menggunakan suatu bahan penyalut atau pelapis, sehingga dapat melindungi sifat organoleptik seperti warna, rasa, bau (Jyothi *et al.*, 2010), meningkatkan kestabilan dari zat adiktif, mempermudah penanganan perisa, serta menambahkan efek visualisasi atau tekstur. Beberapa

penelitian teknik enkapsulasi dalam bidang farmasi yang sudah dilakukan diantaranya yaitu enkapsulasi *nifedipine* untuk meningkatkan kelarutannya dalam air (Horvat *et al.*, 2018) dan enkapsulasi *paracetamol* menggunakan *chitosan-alginate* untuk taste masking (Almurisi *et al.*, 2020).

Pada penelitian ini kumarin dienkapsulasi dengan menggunakan bahan penyalut berupa kitosan yang berguna untuk melapisi atau melindungi zat inti. Kitosan memiliki sifat biokompatibel tidak beracun, larut dalam asam organik, aman dalam produk pangan, dapat melindungi dan mempertahankan suatu senyawa aktif dalam pengaplikasian diberbagai industri. Partikel dalam ukuran lebih kecil memiliki sifat fisik yang khas dibandingkan dengan material sejenis dalam ukuran besar (*bulk*) karena partikel dalam ukuran kecil memiliki nilai perbandingan antara luas permukaan dan volume yang lebih besar sehingga memiliki sifat lebih reaktif, terutama dalam meningkatkan kualitas dari suatu senyawa (Suwarda dan Maarif, 2013). Sodium Tripolifosfat (STPP) digunakan sebagai *cross linker* atau ikatan silang antara kitosan yang aman digunakan pada produk pangan (Nugraha *et al.*, 2017). Penelitian Jayanudin *et al.*, (2015) penambahan agen *crosslink* STPP akan lebih menguatkan jaringan di sistem. STPP juga telah banyak digunakan pada beberapa penelitian terkait enenkapsulasi salah satunya yaitu enkapsulasi asam sinamat dalam kitosan sebagai antibakteri oleh Amaliyah pada tahun (2016).

Penelitian ini diawali dengan melakukan preparasi kitosan. Kitosan yang didapatkan dikarakterisasi menggunakan Spektrofotometer FTIR untuk membuktikan bahwa senyawa yang didapatkan sudah berupa kitosan. Karakterisasi dilakukan dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk mengetahui ukuran partikel kitosan yang terbentuk. Senyawa kumarin hasil enkapsulasi dikarakterisasi dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) untuk melihat morfologi permukaan dan Spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui efisiensi enkapsulasi kumarin dengan kitosan sebagai penyalut dalam mempertahankan kestabilan, dilakukan pula pengujian aktivitas antioksidan pada kumarin yang telah dienkapsulasi. Penentuan aktivitas antioksidan pada kumarin enkapsulasi dilakukan dengan menggunakan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

(DPPH) untuk mendapatkan nilai IC_{50} yang menentukan kekuatan aktivitas antioksidannya dalam menangkap radikal bebas.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Menguji efisiensi senyawa kumarin yang dienkapsulasi dengan kitosan sebagai bahan penyalut.
2. Menentukan aktivitas antioksidan kumarin yang telah dienkapsulasi.

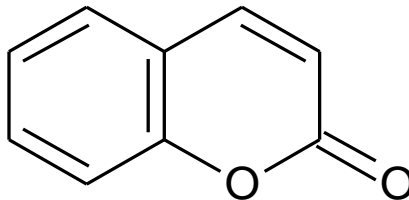
1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu memperoleh senyawa kumarin yang stabil sehingga dapat meningkatkan kualitas kumarin untuk diaplikasikan dalam berbagai industri.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kumarin

Kumarin yaitu suatu golongan senyawa fenilpropanoid yang memiliki cincin lakton lingkar enam dan memiliki inti 2H-1-benzopiran-2-on dengan rumus molekul $C_9H_6O_2$. Kumarin ditemukan pada tumbuhan. Kumarin yang terkandung dalam suatu tumbuhan dapat dikenal dari baunya. Kumarin dan turunannya banyak memiliki aktivitas biologis diantaranya dapat menstimulasi pembentukan pigmen kulit, mempengaruhi kerja enzim, anti-koagulan darah, antimikroba dan menunjukkan aktivitas menghambat efek karsinogen. Terdapat 4 sub tipe kumarin utama yaitu kumarin sederhana, furanokumarin, piranokumarin, dan kumarin tersubstitusi piron (Isnawati *et al.*, 2008). Struktur kumarin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kumarin

Kumarin terdiri dari kelas senyawa yang sangat besar ditemukan di seluruh kingdom tumbuhan. Kumarin ditemukan pada tingkat tinggi dalam beberapa minyak essensial, terutama minyak kulit kayu manis, minyak daun cassia, dan minyak lavender. Kumarin juga dapat ditemukan pada beberapa buah-buahan, teh hijau, dan makanan seperti sawi putih (Desi, 2016).

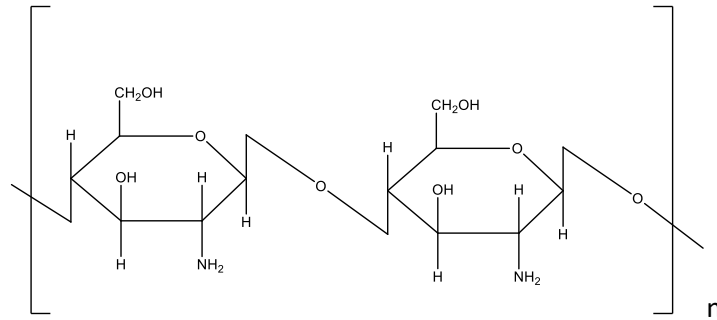
Kumarin memiliki sifat diantaranya yaitu kristal berbentuk jarum dan tidak berwarna, memiliki titik leleh 67-69°C, titik didih 297-299°C, larut dalam etanol. Sifat kelarutan kumarin sangat bervariasi, ada yang hanya sedikit larut dalam pelarut polar dan ada pula yang larut dalam pelarut non polar. Peleburan kumarin dengan NaOH menghasilkan asam asetat dan salisilat (Dighe *et al.*, 2010).

Senyawa kumarin diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, antialergi, antitrombotik, antivirus, dan antikanker (Setiawan dan Rakhmawaty, 2014). Selain memiliki aktivitas biologis kumarin dapat juga digunakan yaitu sebagai bahan dasar pembuatan parfum dan sebagai bahan fluoresensi pada industri tekstil dan kertas.

2.2. Kitosan

Kitosan merupakan suatu senyawa berbobot molekul besar yang memiliki rantai polisakarida $\beta(1-4)$ -2-amino-2-deoksi-D-glukosa dengan rumus kimianya yaitu $(C_6H_{11}NO_4)_n$. Kitosan dapat diperoleh dari beberapa limbah perikanan diantaranya seperti kulit udang, kepiting, rajungan, dan lain sebagainya. Kitosan memiliki berbagai manfaat yang menarik karena sifatnya yang istimewa yaitu bersifat biokompatibel, *biodegradable*, dan non toksik, sehingga kitosan memiliki kemampuan sebagai bahan pembawa obat dan dapat dimodifikasi (Wijaya, 2013).

Modifikasi kitosan juga dilakukan sebagai enkapsulasi obat. Modifikasi terhadap kitosan dilakukan untuk meningkatkan kelarutan kitosan dalam berbagai pelarut, selain itu modifikasi kitosan juga dilakukan sebagai bahan enkapsulasi obat seperti kitosan-tripterigium glikosida untuk pengobatan ginjal (Chen *et al.*, 2013), dan kitosan-polifenol hasil ekstrak bunga mawar (Stoica *et al.*, 2013). Kitosan dapat diterapkan dalam berbagai bidang industri modern, seperti farmasi, biokimia, kosmetika, industri pangan, dan industri tekstil. Struktur Kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kitosan

Kitosan merupakan suatu polisakarida yang dimana terdiri dari kopolimer glukosamin dan juga N-asetil glukosamin. Kitosan memiliki bentuk berupa serbuk atau serpihan berwarna krem hingga putih, dan tidak memiliki bau. Kitosan dapat larut dalam larutan asam, sedangkan dalam larutan alkali kitosan akan mengendap. Derajat deasetilasi dari kitosan dapat menentukan kelarutan produk dengan baik, dengan nilai derajat deasetilasi yaitu sebesar 80-85% (Rowe *et al.*, 2020). Derajat deasetilasi merupakan parameter yang menunjukkan gugus asetil yang dapat dihilangkan dari rendemen kitosan. Menurut Brugnerotto *et al.*, (2001) derajat asetilasi kitosan dapat ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer FTIR melalui perbandingan absorbansi amida III pada bilangan gelombang 1320 cm^{-1} dengan absorbansi amida II pada bilangan gelombang 1420 cm^{-1} yang selanjutnya dilakukan perhitungan nilai DD.

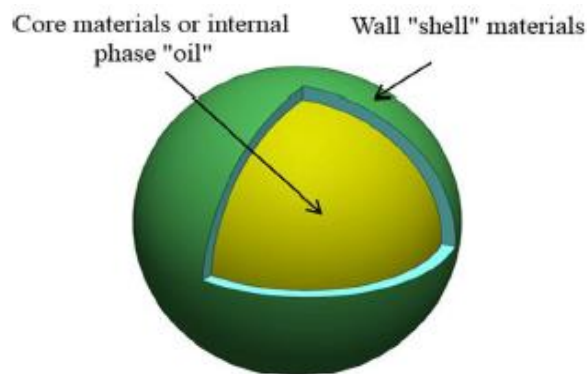
Kitosan memiliki sifat yang unik yaitu satu-satunya polimer kationik yang larut dalam air (Raza *et al.*, 2020), karena sifat uniknya tersebut kitosan dapat dimanfaatkan sebagai bahan untuk melindungi atau mempertahankan berbagai bahan aktif yang dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang industri.

2.3. Enkapsulasi

Enkapsulasi merupakan suatu proses penyalutan partikel yang relatif kecil berupa cairan, padatan, dan juga *disperse* (inti) dilapisi dengan lapisan yang dapat

dihasilkan dari bahan polimer (*shell*) untuk menghasilkan enkapsulan. Penggunaan enkapsulasi terus meningkat seperti pada industri makanan dan minuman, industri tekstil, industri farmasi dan industri kosmetik. Industri yang paling banyak menggunakan teknologi enkapsulasi adalah industri farmasi, karena berkaitan sebagai sistem penghantaran obat (*drug delivery system*) yang berguna sebagai *controlled release* dari obat yang masuk ke dalam tubuh (Mishra, 2016).

Enkapsulasi memiliki fungsi ganda yaitu untuk melindungi suatu senyawa bioaktif dari degradasi, meningkatkan kelarutan dan juga bioaktivitas senyawa bioaktif (Ezhilarasi *et al.*, 2013). Enkapsulasi memiliki kemampuan untuk meningkatkan stabilitas oksidatif, termostabilitas dan juga dapat membantu dalam mengendalikan sifat volatilitas serta pelepasan minyak esensial. Teknik enkapsulasi ini dapat menjaga bahan inti yang berada dalam suatu kapsul terhindar oleh pengaruh lingkungan sehingga keadaan inti tetap terjaga dengan baik (Bakry *et al.*, 2016). Terdapat komponen-komponen enkapsulasi yaitu berupa bagian *core* (inti) dan juga *shell* (penyalut) dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Komponen-Komponen Enkapsulasi (Bakry *et al.*, 2016)

Bahan inti yang dilindungi dalam proses enkapsulasi disebut dengan *core* dan struktur yang dibentuk oleh suatu bahan pelindung yang menyelubungi bahan inti disebut dengan dinding atau *shell* (penyalut) (Ray *et al.*, 2016). Bahan penyalut yang digunakan untuk proses enkapsulasi harus memiliki sifat tidak beracun dan tidak bereaksi dengan bahan inti. Jenis penyalut yang digunakan juga akan

mempengaruhi proses *release* dalam tubuh (Jayanudin *et al.*, 2015). Penggunaan kitosan juga sudah banyak diteliti sebagai penyalut dalam proses enkapsulasi.

Proses enkapsulasi ini dapat dilakukan salah satunya dengan menggunakan kitosan dan juga *sodium tripolyphosphate* (STPP) yang membentuk lapisan pelindung. Peran STPP yaitu sebagai zat pengikat silang yang akan memperkuat matriks partikel kitosan yang aman digunakan pada produk pangan (Nugraha *et al.*, 2017). Semakin banyaknya ikatan silang yang terbentuk antara kitosan maka kekuatan mekanik matriks dari kitosan akan meningkat sehingga partikel kitosan tersebut akan semakin kuat, keras dan juga semakin sulit untuk terpecah menjadi bagian-bagian yang lebih kecil (Wahyono, 2010).

2.4. DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat memperlambat, menunda, serta mencegah terjadinya proses oksidasi dan menetralkan radikal bebas. Antioksidan akan menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki oleh radikal bebas. Metode DPPH merupakan suatu metode uji yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkal radikal bebas. DPPH juga dapat dikatakan sebagai radikal bebas yang sering digunakan sebagai evaluasi aktivitas antioksidan dari suatu senyawa ataupun bahan alam dan stabil pada suhu kamar. DPPH memiliki warna violet yang gelap dan dapat memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm. Penangkal radikal bebas dapat menyebabkan elektron saling berpasangan dan terjadinya penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil. Metode DPPH merupakan metode yang mudah, sederhana, jumlah sampel yang digunakan hanya sedikit dan memiliki waktu yang singkat (Sunarni, 2011).

Proses pengurangan intensitas warna pada larutan DPPH menunjukkan adanya reaksi antara atom hidrogen yang lepas oleh sampel atau bahan uji dengan molekul radikal DPPH yang telah ditambahkan sehingga terbentuk senyawa 1,1-

difenil-2-pikrilhidrazin yang memiliki warna kuning. Semakin besar konsentrasi sampel atau bahan uji yang digunakan, maka warna kuning yang dihasilkan akan semakin kuat. Berkurangnya nilai absorbansi pada bahan uji yang digunakan dapat menentukan pengurangan intensitas warna pada larutan DPPH. Absorbansi yang didapatkan merupakan absorbansi sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan larutan uji, dimana semakin tinggi konsentrasi uji yang digunakan maka semakin kecil nilai absorbansinya yang menunjukkan aktivitas bahan uji yang digunakan dalam menangkap radikal DPPH semakin besar (Handayany *et al.*, 2018).

Nilai DPPH dinyatakan sebagai persen inhibisi (% inhibisi) yang dihitung berdasarkan persamaan (1) yang ditunjukkan pada persamaan berikut.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A \text{ control} - A \text{ sampel}}{A \text{ control}} \times 100\% \quad (1)$$

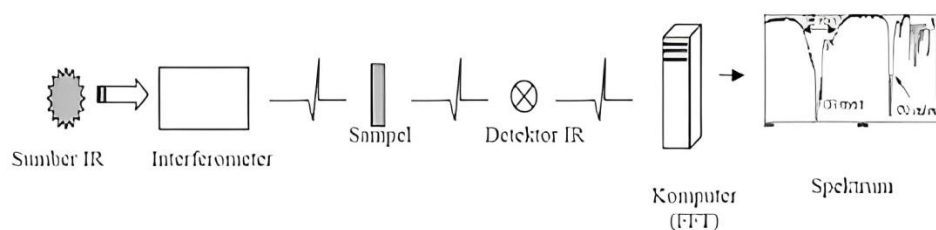
Selanjutnya ditentukan nilai *Inhibition Concentration 50%* (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal bebas DPPH sebanyak 50% dengan menggunakan persamaan linier $y=ax+b$. Apabila semakin kecil nilai IC₅₀ yang dihasilkan maka semakin kuat aktivitas antioksidan bahan uji tersebut. Senyawa dapat dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC₅₀ berada dibawah 50 ppm, kuat apabila berada pada rentang 50-100 ppm, sedang pada rentang 100-150 ppm, dan lemah bila berada pada rentang 151-200 ppm (Abdullah *et al.*, 2014).

2.5. Spektrofotometer *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR)

Fourier Transform Infra-Red (FTIR) merupakan suatu instrumen yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi ikatan atom-atom ataupun gugus fungsional dari suatu material. Prinsip kerja FTIR yaitu untuk mengidentifikasi suatu senyawa, mendeteksi gugus fungsi, dan menganalisis campuran dan sampel yang akan dianalisis. FTIR lebih banyak sering digunakan untuk mengidentifikasi suatu

senyawa organik, baik secara kuantitatif ataupun kualitatif (El-Kharrag *et al.*, 2012).

FTIR merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mendapatkan spektrum *infrared* (IR) penyerapan, emisi, fotokonduktivitas dari keadaan cair, padat, atau gas. Spektrum *infrared* dari suatu senyawa dapat memberikan informasi terkait gambaran dan struktur molekul dari senyawa yang dianalisis. Spektrum IR dapat dihasilkan dengan cara mengukur absorpsi radiasi, refleksi, atau emisi di daerah IR. Suatu gugus fungsi yang terdapat pada spektrum IR dapat terukur jika adanya perbedaan momen dipol pada gugus tersebut. Vibrasi ikatan akan menghasilkan fluktuasi momen dipol yang menyebabkan adanya gelombang listrik (Sastrohamidjojo, 1992). Skema instrumen spektrofotometer *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) dapat dilihat pada Gambar 4.

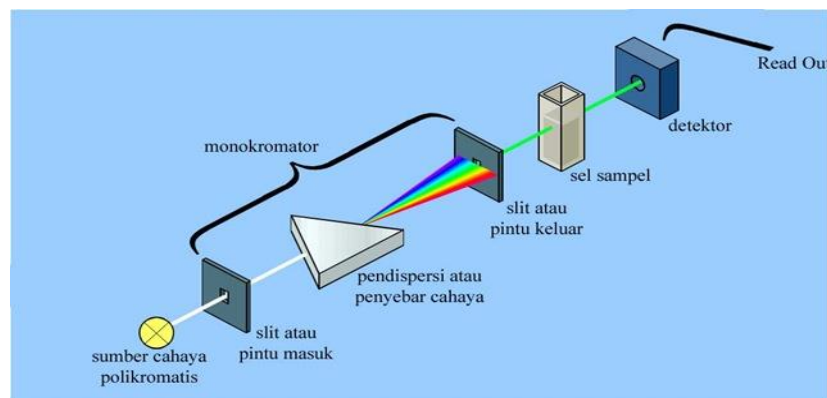


Gambar 4. Skema Spektrofotometer FTIR (Gunawan dan Azhari, 2010)

2.6. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu instrumen yang digunakan untuk mengamati karakteristik absorbansi material pada panjang gelombang 200 nm hingga 700 nm. Spektrofotometer UV-Vis juga dapat mendeteksi transisi dari suatu molekul akibat proses penyerapan cahaya dengan energi yang sesuai dengan energi dalam molekul. Data yang didapatkan dari spektrofotometer UV-Vis ini disajikan dalam fungsi frekuensi dan juga panjang gelombang (Abdullah, 2009).

Prinsip kerja dari spektrofotometer UV-Vis yaitu apabila cahaya monokromatik melewati suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut akan diserap, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan. Spektrofotometer UV-Vis memiliki landasan pengukuran yaitu hukum Lamber-Beer, dimana apabila suatu cahaya monokromatis dilewatkan melalui suatu media yang transparan, maka intensitas cahaya akan diteruskan sebanding dengan tebal kuvet dan konsentrasi unsur yang terdapat dalam sampel (Yanlinastuti dan Fatimah, 2016). Adapun skema kerja pada spektrofotometer UV-Vis yaitu dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Skema Spektrofotometer UV-Vis (Suhartati, 2017)

2.7. Particle Size Analyzer (PSA)

Particle Size Analyzer (PSA) merupakan suatu instrumen yang berfungsi untuk melakukan karakterisasi distribusi ukuran partikel dalam sampel yang dianalisis. PSA dapat diaplikasikan pada material emulsi, suspensi, padat dan aerosol. PSA hanya spesifik dalam menentukan ukuran suatu partikel yang berbentuk lingkaran. Selain berfungsi untuk menentukan suatu ukuran partikel, PSA dapat juga berfungsi untuk menentukan volume pada setiap partikel yang terdapat di dalam sampel yang dianalisis. Penggunaan difraksi laser merupakan instrumen yang biasa digunakan dalam metode pengukuran partikel. Terutama pada rentang ukuran partikel 0,5 – 100 μm (Hossaen, 2010).

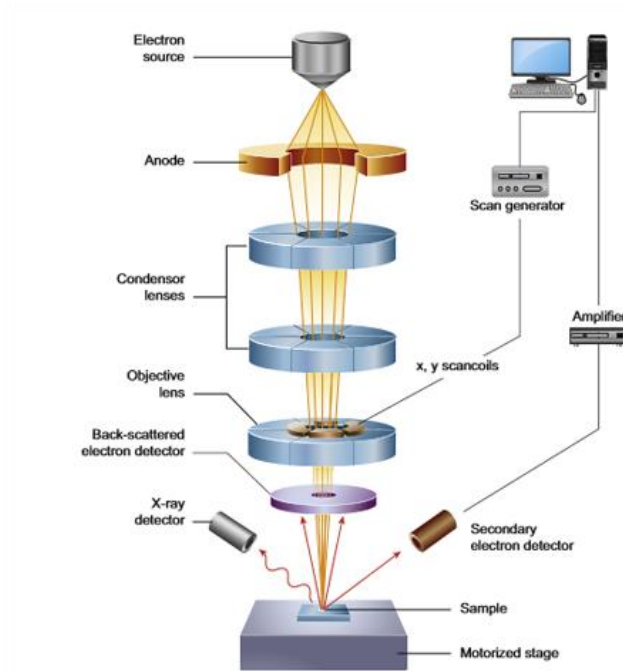
Prinsip kerja PSA yaitu ketika cahaya (laser) yang dihamburkan oleh kumpulan partikel. Sudut cahaya akan berbanding terbalik dengan ukuran partikel, dimana semakin besar sudut hamburan yang dihasilkan maka akan semakin kecil ukuran partikel. Pengukuran menggunakan PSA memiliki keunggulan dibandingkan dengan pengukuran partikel lainnya seperti XRD dan SEM. Pengukuran menggunakan PSA ini memiliki hasil lebih akurat, dikarenakan partikel didispersikan ke dalam medium sehingga didapatkan ukuran partikel yang terukur yaitu *single particle*. Hasil dari pengukuran dalam bentuk distribusi, mendapatkan gambaran keseluruhan kondisi sampel, serta mempunyai rentang pengukuran 0,6 – 7 μm (Nanotech, 2012).

2.8. Scanning Electron Microscopy (SEM)

Scanning Electron Microscopy (SEM) adalah salah satu jenis mikroskop elektron yang menggambar spesimen dengan cara memindainya menggunakan sinar elektron berenergi tinggi dalam *scan* pola raster. Elektron memiliki suatu resolusi yang lebih tinggi daripada cahaya. Cahaya mampu mencapai resolusi hingga 0,1 – 0,2 nm. Elektron akan berinteraksi dengan atom-atom sehingga spesimen menghasilkan sinyal yang mengandung informasi tentang topografi permukaan spesimen, komposisi, dan karakteristik lainnya, sehingga dilakukan karakterisasi terhadap morfologi permukaan produk enkapsulasi dilakukan dengan menggunakan instrumen SEM (Wijayanto *et al.*, 2014).

Peralatan utama yang terdapat pada mikroskop elektron atau SEM diantaranya yaitu pistol elektron yang berupa filamen terbuat dari suatu unsur yang mudah untuk melepaskan elektron, lensa bersifat magnetis, dan juga sistem vakum, elektron yang berjalan menuju sasaran akan terpecah, hal tersebut disebabkan oleh tumbukan sebelum mengenai sasaran sehingga menghilangkan molekul udara. Prinsip kerja SEM yaitu dimulai dari elektron *beam* yang dihasilkan oleh suatu filamen pada elektron *gun*. Umumnya, elektron *gun* yang digunakan merupakan *tungsten hairpin gun* dengan filamen berupa lilitan *tungsten* yang

berfungsi sebagai katoda. Lilitan diberikan tegangan sehingga mengakibatkan terjadinya pemanasan. Gaya yang terbentuk dari anoda dapat menarik elektron melaju ke anoda (Lubis, 2015). Skematik komponen inti SEM dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Skematik Komponen Inti *Scanning Electron Microscopy* (SEM) (Inkson, 2016)

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan November 2022, bertempat di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT) Universitas Lampung. Analisis senyawa menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) dilakukan di Laboratorium Karakterisasi Integrated Laboratory Research Center (ILRC) Universitas Indonesia.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pipet tetes, batang pengaduk kaca, labu ukur, gelas ukur, *beaker glass*, botol kaca, aluminium foil, kasa, spatula, saringan, mikropipet *Volac Smart Gen-Next Pipette* (10-100 μ L), *microplate 96 well*, Oven J-300S, neraca analitik Wigggen Hauser JD 300-3, *heating magnetic stirrer Wigggen Houser HPS 630*, *Freeze Dryer Labfreez Instrument* model FD-10-MR, Spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) *Agilent Technologies Cary 630*, Spektrofotometer *UV-Vis Varian Cary 300 Probe*, *Microplate Reader Hospitex Diagnostics*, *Particle Size Analyzer* (PSA) *Malvern Instruments Ltd*, dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) Zeiss EVO 10.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit udang, asam klorida (HCl), etanol (EtOH), kitosan (KS), kumarin standar, asam asetat glasial, sodium tripolipospat (STPP), natrium hidroksida (NaOH), metanol (CH₃OH), akuades steril, tween 80 dan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dari Sigma-Aldrich.

3.3. Prosedur Penelitian

Skema penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 7.

3.3.1. Preparasi Kitosan

3.3.1.1. Isolasi Kitin dari Kulit Udang

a. Deproteinasi

Serbuk kulit udang sebanyak 50 gram dimasukkan ke dalam gelas beaker 1 L. NaOH 1 M ditambahkan dengan perbandingan (1:10 g/mL). Campuran kulit udang dan NaOH dilakukan pengadukan dengan *stirrer* selama 3 jam pada suhu 70°C, kemudian dilakukan penyaringan pada kulit udang dan dicuci dengan akuades hingga pH netral (pH 7). Kulit udang yang sudah mencapai pH netral direndam dengan etanol hingga terendam selama 15 menit untuk proses depigmentasi. Kulit udang selanjutnya disaring kembali dan dimasukkan ke dalam oven suhu 60°C hingga kering (Antonino *et al.*, 2017).

b. Demineralisasi

Kulit udang hasil deproteinasi ditambahkan HCL 1 M dengan perbandingan (1:10 g/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 (pH 7). Setelah netral kulit udang direndam kembali menggunakan etanol selama 15 menit untuk proses depigmentasi lebih lanjut. Kitin lalu disaring kembali dan dikeringkan di dalam oven suhu 60°C (Antonino *et al.*, 2017).

3.3.1.2. Deasetilasi Kitin Menjadi Kitosan

Proses deasetilasi ini dilakukan untuk mengubah kitin menjadi kitosan dengan mengubah gugus asetil yang terikat pada kitin menjadi gugus amina. Kitin

direaksikan dengan NaOH 12,5 M pada rasio w/v 1:15 (g/mL). Campuran tersebut didinginkan dan dibekukan dalam *ultrafreezer* selama 24 jam, setelah 24 jam campuran dilakukan pengadukan dengan *stirrer* selama 4 jam pada suhu 115°C. Kitosan yang dihasilkan disaring dan dicuci dengan akuades hingga mencapai pH netral lalu kitosan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C. Kitosan yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender (Antonino *et al.*, 2017).

3.3.2. Pembentukan Partikel Kitosan (PK)

Partikel Kitosan (PK) dibuat dengan cara melarutkan kitosan sebanyak 0,1 gram ditambahkan ke dalam 100 mL asam asetat glasial 1,5 % . Larutan tersebut diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Larutan STPP 0,0830 % ditambahkan sebanyak 40 mL ke dalam larutan kitosan secara perlahan sambil dilakukan pengadukan kembali dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam, kemudian larutan dimasukkan ke dalam botol dan ditutup rapat dengan plastik wrap, dimasukkan ke dalam pendingin selama 1x24 jam (Abdel Hafez *et al.*, 2018).

3.3.3. Enkapsulasi Partikel Kitosan-Kumarin (PK-K)

Partikel Kitosan-Kumarin (PK-K) dibuat dengan melarutkan kitosan sebanyak 0,1 gram dalam 100 mL asam asetat glasial 1,5 %, kemudian dilakukan pengadukan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Larutan tersebut ditambahkan tween 80 dengan konsentrasi 0,2 % sebanyak 200 µL dan dilakukan pengadukan 10 menit. Sodium tripoliphospat (STPP) ditambahkan sebanyak 40 mL dengan konsentrasi 0,0830 %, dilakukan penambahan tetes demi tetes sambil dilakukan pengadukan kembali dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Larutan tersebut selanjutnya ditambahkan pada senyawa kumarin 10 mg yang sudah dilarutkan dalam 10 mL metanol secara *dropwise* atau tetes demi tetes sambil dilakukan pengadukan 30 menit. Campuran yang telah terbentuk dimasukkan ke

dalam botol dan diletakkan pada *ultrafreezer* selama 1x24 jam, setelah itu dilakukan *freeze-drying* selama 3-4 hari untuk proses pengeringan beku (Abdel Hafez *et al.*, 2018)

3.3.4. Karakterisasi

3.3.4.1. Analisis Spektrofotometer FTIR

Analisis menggunakan spektrofotometer FTIR dilakukan untuk mendapatkan gugus fungsi yang membuktikan bahwa senyawa yang didapatkan sudah berupa kitosan salah satunya dapat dilihat dari terbentuknya serapan khas kitosan yaitu gugus amina. Daerah yang akan digunakan untuk penelitian ini yaitu kisaran antara 4000-500 cm^{-1} (Antonino *et al.*, 2017).

3.3.4.2. Analisis Spektrofotometer UV-Vis

Pengukuran absorbansi pada partikel kitosan kumarin (PK-K) dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis *Varian Cary 300 Probe* untuk mendapatkan nilai absorbansi yang akan digunakan dalam menghitung *Encapsulation Efficiency* (EE) (Dhanasekaran *et al.*, 2018).

3.3.4.3. Analisis *Particle Size Analyzer* (PSA)

Partikel Kitosan (PK) yang didapatkan dianalisis dengan menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*) (Malvern Instrumental Ltd., Malvern, U.K) untuk melihat ukuran partikel kitosan (Mohanraj dan Chen, 2006).

3.3.4.4. Analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Analisis morfologi partikel pada PK-K (Partikel Kitosan-Kumarin) dilakukan dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM), dimana sampel dibekukan terlebih dahulu dengan menggunakan *Freeze Dryer*.

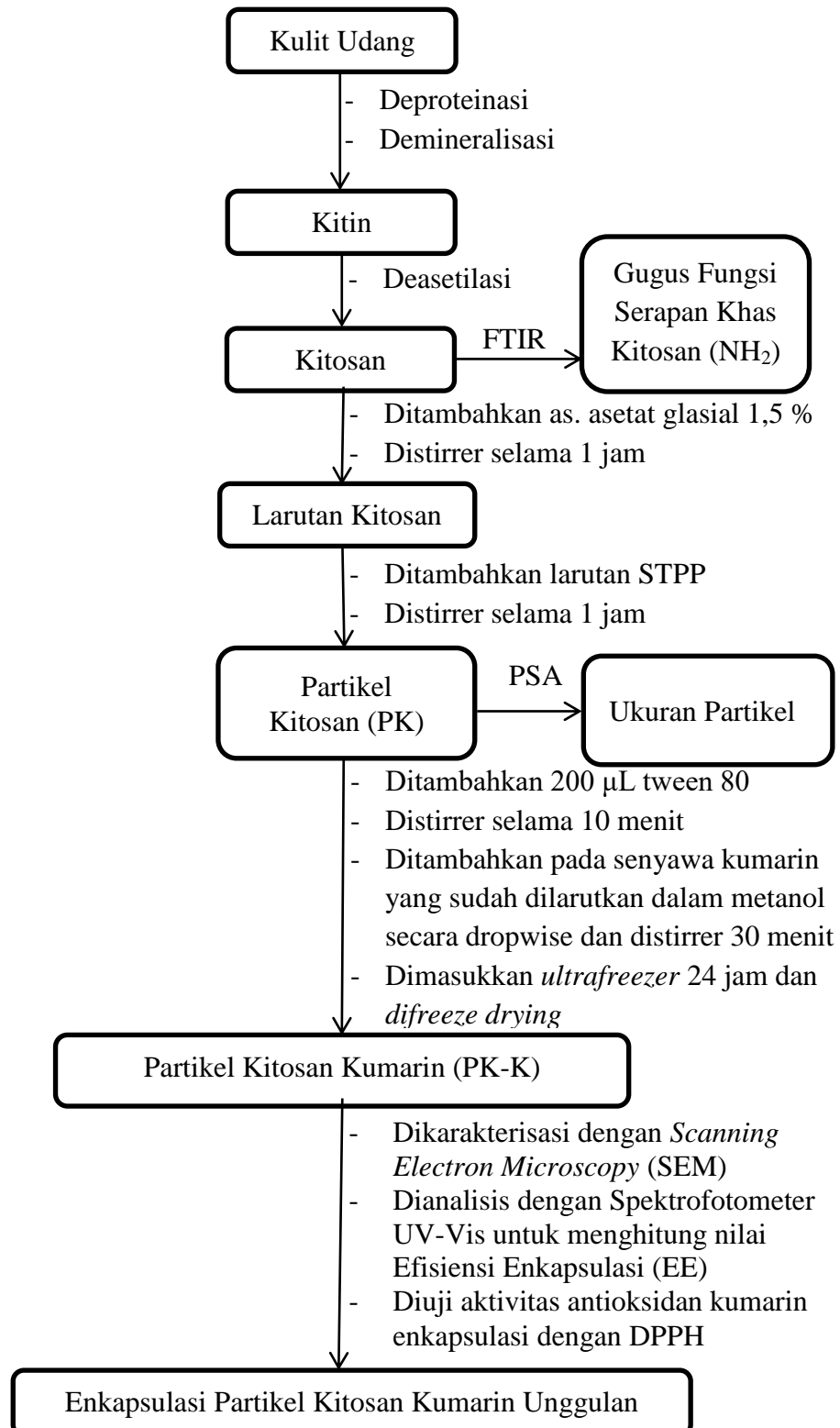
3.3.4.5. Encapsulation Efficiency (EE)

Encapsulation Efficiency (EE) dapat dihitung melalui data yang dihasilkan dari analisis spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan Persamaan (2) (Dhanasekaran *et al.*, 2018).

$$EE (\%) = \frac{\text{kadar total kumarin} - \text{kadar kumarin dalam partikel}}{\text{kadar total kumarin}} \times 100\% \quad (2)$$

3.3.4.6. Uji Aktivitas Antioksidan Kumarin Enkapsulasi

Kumarin hasil enkapsulasi dilakukan uji antioksidan dengan menggunakan radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Sampel dilarutkan sebanyak 10 mg dalam 10 mL metanol p.a sehingga didapatkan konsentrasi stok 1000 ppm. Pengujian antioksidan dilakukan menggunakan *microplate 96 well*. Kumarin enkapsulasi dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi yaitu 1000, 500, 125 dan 62,5 ppm pada panjang gelombang 630 nm. Sebanyak 150 μL masing-masing konsentrasi sampel dimasukkan ke dalam lubang *microplate* dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk setiap konsentrasinya. Kemudian ditambahkan larutan DPPH 50 ppm sebanyak 50 μL pada setiap konsentrasi. Blanko yang digunakan yaitu metanol p.a sebanyak 200 μL yang dimasukkan ke dalam lubang *microplate*. Larutan DPPH sebanyak 50 μL dimasukkan ke dalam lubang yang telah terisi 150 μL metanol. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan terhindar dari cahaya. Sampel yang sudah diinkubasi dibaca nilai absorbansinya menggunakan *Microplate Reader Hospitex Diagnostics*. Kemudian dicari nilai % inhibisi sampel tersebut untuk menentukan nilai IC_{50} yang didapatkan (Rumeng dan Desi, 2015).



Gambar 7. Skema Prosedur Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, adapun simpulan yang didapatkan yaitu sebagai berikut :

1. Partikel kitosan yang didapatkan sudah berbentuk nanopartikel dengan ukuran 45,85 nm yang baik digunakan sebagai bahan penyalut sehingga dapat melindungi senyawa kumarin melalui enkapsulasi.
2. Nilai *Encapsulation Efficiency* (EE) didapatkan sebesar 12,5% yang menandakan bahwa kumarin belum terenkapsulasi dengan sempurna oleh kitosan.
3. Morfologi permukaan kumarin berbentuk agregat yang tak beraturan dengan permukaan tidak rata serta berongga.
4. Kumarin enkapsulasi memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 9,287 ppm.

5.2. Saran

Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut terkait proses enkapsulasi kumarin dengan nanopartikel kitosan yang tepat sehingga kumarin dapat terkapsul dengan sempurna pada bahan penyalut kitosan, serta perlunya dilakukan penentuan nilai *Encapsulation Efficiency* (EE) pada tiap harinya guna mengetahui efisiensi maksimum kitosan dalam menyalut kumarin.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Hafez, S. M., Hathout, R. M., and Sammour, O. A. 2018. Tracking The Transdermal Penetration Pathways of Optimized Curcumin-Loaded Chitosan Nanoparticles Via Confocal Laser Scanning Microscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*. 108 : 753–764.
- Abdullah, M. 2009. *Pengantar Nanosains*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Achyadi, N. S., Taufik, Y., dan Darin, I. K. 2017. Pengaruh Konsentrasi Bubur Buah dan Tepung Kedelai Terhadap Karakteristik Fit Bar Black Mulberry. *Pas. Food Technol J*. 4(3) : 248–254.
- Agustina, S., I. M. D., Swantara, I. N., dan Suartha. 2015. Isolasi kitin, karakterisasi, dan sintesis kitosan dari kulit udang. *Jurnal Kimia*. 9(2) : 271–278.
- Almurisi, S. H., Doolaanea, A. A., Akkawi, M. E., Chatterjee, B., and Sarker, M. Z. I. 2020. Taste Masking of Paracetamol Encapsulated in Chitosan-Coated Alginate Beads. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 56 : 1773–2247.
- Amaliyah, N. 2016. Enkapsulasi Asam Sinamat dalam Nanopartikel Kitosan sebagai Antibakteri. *Jurnal Sains Terapan*. 552–629.
- Antonino, R. S. C. M. Q., Fook, B. R. P. L., Lima, V. A. O., Rached, R. I. F., Lima, E. P. N., Lima, R. J. S., Covas, C. A. P., and Fook, M. V. L. 2017. Preparation and Characterization of Chitosan Obtained from Shells of Shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). *Marine Drugs*. 15(5) : 1–12.
- Asri, A. D., dan Wibowo, A. A. 2021. Teknologi Enkapsulasi : Teknik dan Aplikasinya. *Jurnal Teknologi Seperasi*. 7(2) : 202–209.
- Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A., and Liang, L. 2016. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of

Benefits, Techniques, and Applications. *Journal Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 15(1) : 143–182.

- Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F. M., Monal, A., Desbrieres, J., and Rinaudo, M. 2001. An Infrared Investigation in Relation with Chitin and Chitosan Characterization. *Journal Polymer*. 42(8) : 3569–3580.
- Chen, X. K., Wei, Y. H., Yao, J. N., Zhao, Y. M., Shang, X. G., and Li, F. Z. 2013. Study on Chitosan Modified Tripterygium Glycoside Nanoparticles and its Renal Targeting Property. *Journal Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 38(4) : 548–552.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama*. Depkes RI. Jakarta.
- Desi, K. 2016. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat Tumbuhan Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa L.*) dan Uji Toksisitas dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Skripsi*. Universitas Andalas. Padang.
- Dhanasekaran, S., Palanivel, R., Suryanarayanan, V., Sanjeev, K. S., and Sri, R. V. 2018. In Vitro and In Silico Studies of Chitin and Chitosan Based Nanocarriers for Curcumin and Insulin Delivery. *Journal of Polymers and The Environment*. 1–19.
- Dighe, N. S., Pattan, S. R., Dengale, S. S., and Musmade, D. S. 2010. Synthetic and Pharmacological Profiles of Coumarins: A Review. *Journal Scholars Research Library*. 2(2) : 65–71.
- Du, W. L., Niu, S. S., Xu, Y. L., Xu, Z. R., and Fan, C. L. 2009. Antibacterial Activity of Chitosan Tripolyphosphate Nanoparticles Loaded with Various Metal Ions. *Journal Carbohydrate Polymers*. 12(75) : 385–389.
- El-Kharrag, R., Amin, A., and Greish, Y. E. 2012. Low Temperature Synthesis of Monolithic Mesoporous Magnetite Nanoparticles. *Journal Ceramics International*. 38(1) : 627–634.
- Emma, S., Soeseno, N., dan Adiarto, T. 2010. Sintesis Kitosan, Poli (2-amino-2-deoksi-D-Glukosa), Skala Pilot Project dari Limbah Udang sebagai Bahan

Baku Alternatif Pembuatan Biopolimer. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia*.

- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., and Anandharamakrishnan, C. 2013. Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. *Journal Food and Bioprocess Technology*. 6(3) : 628–647.
- Gunawan, B., dan Azhari, C. D. 2010. Karakteristik Spektrometri IR dan Scanning Electron Microscopy (SEM) Sensor Gas dari Bahan Polimer Poly Ethelyn Glycol (PEG). *Fakultas Teknik Universitas Muria Kudus*. 1–17.
- Handayany, G. N., Irna, U., dan Ismail, I. 2018. Formulasi dan Uji Efektivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Daun Botto'-Botto' (*Chromolaena odorata L.*) dengan Metode DPPH. *Jurnal Kesehatan*. 11(2) : 1–78.
- Harjanti, S. R. 2014. Kitosan dari Limbah Udang sebagai Bahan Pengawet Ayam Goreng. *Jurnal Rekayasa Proses*. 8(1) : 1–8.
- Hendri, J., Wardana., Aspita, L., dan Irwan, G. 2007. Penentuan Kadar Ca dan Mg Pada Hasil Demineralisasi Optimum Kulit Udang Windu Gravimetri dan Spektroskopi Serapan Atom. *Jurnal Sains MIPA*. 13(2) : 93–99.
- Horvat, G., Pantic, M., Knez, Z., and Novak, Z. 2018. Encapsulation and Drug Release of Poorly Water Soluble Nifedipine from Bio-Carriers. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 481 : 486–493.
- Hossaen, A. 2010. *Particle Size Analyzer*. King Fahd Potroleum and Mineral. Arab Saudi.
- Hosokawa, M., 2007. *Nanoparticle Thecnology Handbook, 1st Edition*. UK: Elsevier Linarce House, Jordal Hill, Oxford.
- Inkson, B. J. 2016. Scanning Electron Microscopy (SEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM) for Materials Characterization. *Journal Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods*. 17–43.

- Isnawati, A., Mudahar, H., dan Kamilatunisah. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kumarin dari Tanaman *Artemisia Annua* (L). *Jurnal Biomedis dan Farmasi*. 18(3) : 1–14.
- Jayanudin, R., Wiratni., Yulvianti, M., Barleany, D. R., and Ernayati, W. 2015. Encapsulation Red Ginger Oleoresin (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) with Chitosan-Alginate as Wall Material Using Spray Drying. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*. 10(12) : 1370–1378.
- Jyothi, N. V. N., Prasanna, P. M., Sakarkar, S. N., Prabha, K. S., Ramaiah, P. S., and Srawan, G. Y. 2010. Microencapsulation Techniques, Factors Influencing Encapsulation Efficiency. *Journal of Microencapsulation*. 27(3) : 187–197.
- Kusbiantoro, D., dan Purwaningrum, Y. 2018. Pemanfaatan Kandungan Metabolit Sekunder Pada Tanaman Kunyit dalam Mendukung Peningkatan Pendapatan Masyarakat. *Jurnal Kultivasi*. 17(1) : 1–6.
- Lubis, K. 2015. Metode-Metode Karakterisasi Nanopartikel Perak. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*. 79(21) : 1–6.
- Masykuroh, A., dan Nita, A. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Nanopartikel Perak (NPP) Hasil Biosintesis Menggunakan Ekstrak Kulit Buah Jeruk Kunci *Citrus microcarpa* Bunge. *BIOMA : Jurnal Biologi Makassar*. 7(2) : 51–64.
- Mishra, M. 2016. *Handbook of Encapsulation and Controlled Release*. CRC Press Taylor and Francis Group. 1–15.
- Mohanraj, V. J., and Chen, Y. 2006. Nanoparticles : A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 5(1) : 561–573.
- Nanotech. 2012. *Karakterisasi PSA (Partikel Size Analyzer) dan Zeta Potensial*. Balai Inkubator Teknologi Serpong. Tangerang.
- Nesalin, A. J., Gowthamarajan, K. and Somashekhara, C. N. 2009. Formulation and Evaluation of Nanoparticles Containing Flutamide. *International Journal of ChemTech Research*. 1 : 1331–1334.

- Nugraha, E. P., Karyantina, M., dan Kurniawati, L. 2017. Sodium Tripolyphosphate (STPP) Sebagai Bahan Pengganti Bleng Pada Pembuatan Karak dengan Variasi Jenis Beras. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 1(2) : 97–106.
- 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.
- Purwanti, A., Eka, S., Kirana, A. S. I., dan Chantica, S. P. B. 2021. Pembuatan Kitosan dari Kulit Udang dengan Menggunakan Microwave. *Jurnal Rekayasa Teknologi dan Informasi*. 29–34.
- Prabowo, A. Y., Teti, E., and Indria, P. 2014. Gembili (*Dioscorea esculenta L.*) as Food Contain Bioactive Compounds: A Review. *Journal Pangan Dan Agroindustri*. 2(3) : 129–135.
- Ray, S., Raychaudhuri, U., and Chakraborty, R. 2016. An Overview of Encapsulation of Active Compounds Used in Food Products by Drying Technology. *Journal Food Bioscience*. 13 : 76–83.
- Raza, Z. A., Khalil, S., Ayub, A., and Banat, I. M. 2020. Recent Developments in Chitosan Encapsulation of Various Active Ingredients for Multifunctional Applications. *Journal Carbohydrate Research*. 492 : 1–15.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., and Quinn, M. E., 2020. *Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th ed.* American Pharmacist Association and Pharmaceutical Press. USA.
- Sastrohamidjojo, H. 1992. *Spektroskopi Inframerah*. Liberty. Yogyakarta.
- Setiawan, D., dan Rakhmawaty, D. 2014. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa 3,3'-Benzilidena Bis- 4 – Hidroksi Kumarin Untuk Sediaan Radioterapi. *Jurnal Chimica et Natura Acta*. 2(3) : 154–159.
- Stoica, R., Şomoghi, R., and Ion, R. M. 2013. Preparation of Chitosan - Tripolyphosphate Nanoparticles for The Encapsulation of Polyphenols Extracted from Rose Hips. *Digest Journal of Nanomaterials and*

Biostructures. 8(3) : 955–963.

Suhartati, T. 2017. *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. AURA. Bandar Lampung.

Sunarni, T. 2011. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa Kecambah dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2(2) : 53–61.

Suptijah, P., Rachmania, D., dan Jacob, A. M. 2011. Karakterisasi Nano Kitosan Cangkang Udang *Vannamei* (*Litopenaeus Vannamei*) dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(2) : 78–84.

Susanti, N., dan Purwanti, A. 2020. Pembuatan Kitosan dari Limbah Sisik Ikan. *Jurnal Inovasi Proses*. 5(1) : 1–6.

Suwarda, R., dan Maarif, M. S. 2013. Pengembangan Inovasi Teknologi Nanopartikel Berbasis Pat Untuk Menciptakan Produk yang Berdaya Saing. *Jurnal Teknik Industri*. 3(2) : 104–122.

Wafi, A., Lukman, A., dan Yatim, L. N. 2020. Analisis Kuat Tarik dan Elongasi Film Gelatin Kitosan. *Journal of Chemistry*. 8(1) : 1–8.

Wahyono, D. 2010. *Ciri Nanopartikel Kitosan dan Pengaruhnya pada Ukuran Partikel dan Efisiensi Penyalutan Ketoprofen*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Wijaya, D. P. 2013. *Preparasi Nanopartikel Sambung Silang Kitosan-Tripolifosfat yang Mengandung Ginsenosida*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta.

Wijayanto., Sanjaya, O., dan Bayuseno, A. P. 2014. Analisis Kegagalan Material Pipa Ferrule Nickel Alloy N06025 Pada Waste Heat Boiler Akibat Suhu Tinggi Berdasarkan Pengujian : Mikrografi dan Kekerasan. *Jurnal Teknik Mesin*. 2(1) : 33–39.

Yanlinastuti dan Fatimah, S. 2016. Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *ACES Journal*. 17(12) : 1–12.