



**KARAKTERISTIK NANOPARTIKEL ANTIOKSIDAN DARI
HASIL HIDROLISIS PROTEIN IKAN BANDENG
MENGUNAKAN METODE GELASI IONIK**

SKRIPSI

Oleh

Livia Wahyuni

161710101007

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
2020**



**KARAKTERISTIK NANOPARTIKEL ANTIOKSIDAN DARI
HASIL HIDROLISIS PROTEIN IKAN BANDENG
MENGUNAKAN METODE GELASI IONIK**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1) dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian.

Oleh :

Livia Wahyuni

161710101007

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
2020**

PERSEMBAHAN

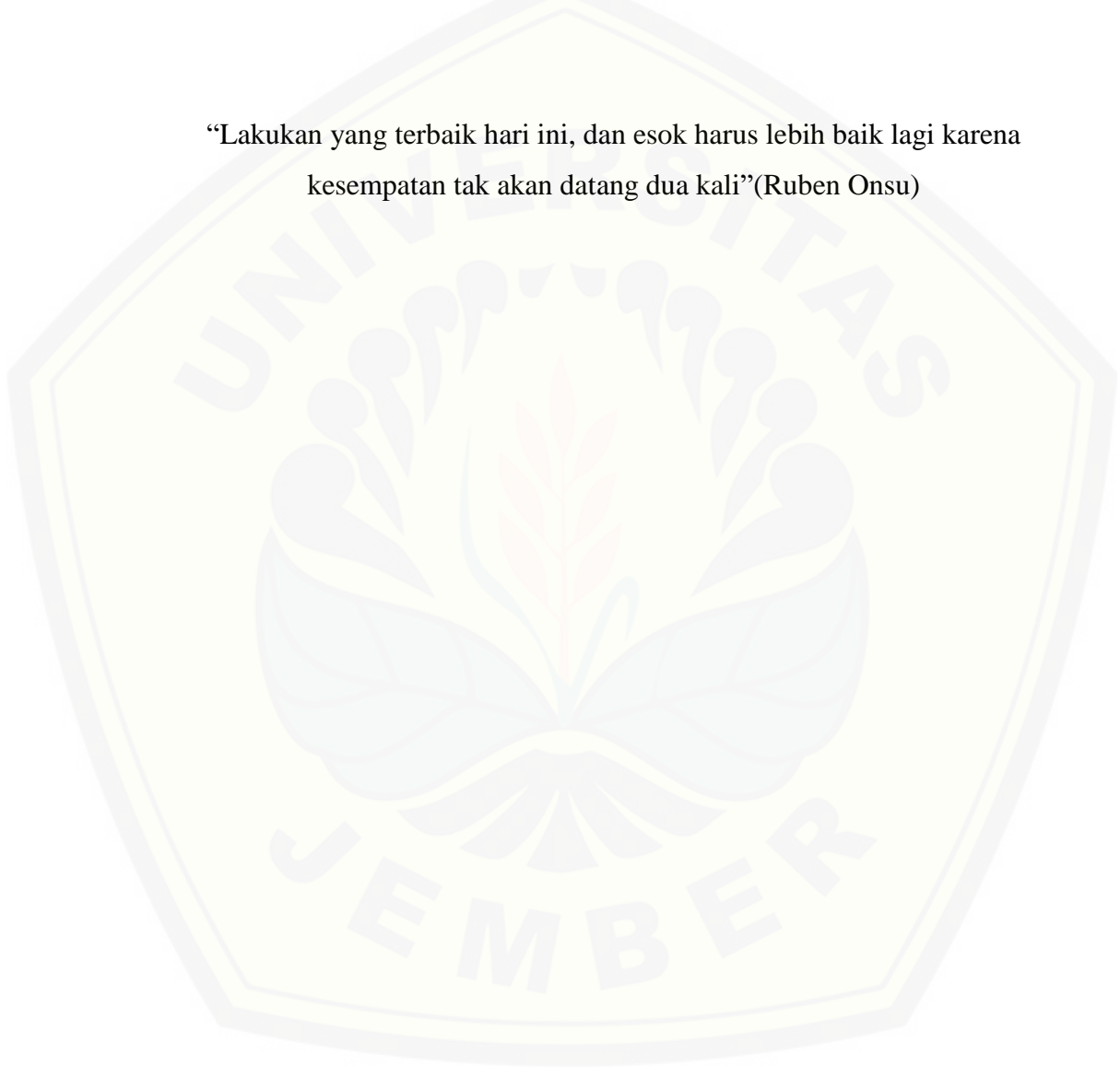
Skripsi ini saya persembahkan sebagai rasa terima kasih dan syukur yang tiada terkira kepada:

1. Allah SWT sebagai wujud rasa syukur atas segala limpahan rahmatNya yang telah memberikan keberkahan rezeki, pertemuan dengan orang-orang baik, kesempatan, kemudahan, kesempurnaan akal, petunjuk sehingga dapat menyelesaikan kuliah dan skripsi ini dengan baik;
2. Kedua orang tuaku yaitu Ayah Rifai dan Mama Turiah serta adekku Enjel Eni Islami atas doa yang tiada henti dan dukungan semangat tanpa putus ;
3. Guru-guruku sedari SDN 6 Kajarharjo, MTsN Kalibaru, SMAN 1 Glenmore serta dosen dosenku di Universitas Jember yang telah mendidiku dengan sabar dan penuh ketulusan serta menempa mentalku dengan penuh kedisiplinan;
4. Almamaterku Tercinta Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
5. Teman- teman THP-C dan keluarga besar angkatan 2016 Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;

MOTTO

“Hai orang-orang yang beriman, mintalah pertolongan dengan sabar dan tetap menegakkan sholat. Sesungguhnya Allah SWT menyertai orang-orang yang sabar”(QS Al Baqarah : 153)

“Lakukan yang terbaik hari ini, dan esok harus lebih baik lagi karena kesempatan tak akan datang dua kali”(Ruben Onsu)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Livia Wahyuni

NIM : 161710101007

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Karakteristik Nanopartikel Antioksidan Dari Hasil Hidrolisis Protein Ikan Bandeng Menggunakan Metode Gelasi Ionik” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 14 Maret 2020

Yang menyatakan

Livia Wahyuni

NIM 161710101007



SKRIPSI

**KARAKTERISTIK NANOPARTIKEL ANTIOKSIDAN DARI
HASIL HIDROLISIS PROTEIN IKAN BANDENG
MENGUNAKAN METODE GELASI IONIK**

Oleh

Livia Wahyuni

161710101007

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P

Dosen Pembimbing Anggota : Ahmad Nafi, S.TP., M.P

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Karakteristik Nanopartikel Antioksidan Dari Hasil Hidrolisis Protein Ikan Bandeng Menggunakan Metode Gelasi Ionik” karya Livia Wahyuni, NIM 161710101007 telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada:

Hari, tanggal : Kamis, 02 April 2020

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P
NIP.196912121998021001

Ahmad Nafi S.TP., M.P
NIP. 197804032003121003

Penguji Utama

Penguji Anggota

Dr. Ir. Sih Yuwanti, M.P
NIP. 196507081994032002

Dr. Maria Belgis, S.TP., M.P
NIDN. 0027127806

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng
NIP. 19680923 199403 1 009

RINGKASAN

Karakteristik Nanopartikel Antioksidan Dari Hasil Hidrolisis Protein Ikan Bandeng Menggunakan Metode Gelasi Ionik; Livia Wahyuni, 161710101007; 2020; 56 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Ikan bandeng merupakan jenis ikan air payau yang memiliki rasa spesifik dan banyak dibudidayakan oleh masyarakat pesisir Indonesia. Protein ikan bandeng mencapai 20-24% yang terdiri dari asam amino glutamat dan lisin serta kandungan asam omega 3 yang cukup tinggi mencapai 14,2% sehingga dapat dikembangkan menjadi hidrolisat protein. Hidrolisat protein ikan bandeng mempunyai aktivitas antioksidan sebesar 33,25% menggunakan metode DPPH. Asam amino berperan sebagai antioksidan karena sifat hidrofobik yang dapat mereduksi radikal bebas dan mendonorkan ion hidrogen. Peptida bertindak sebagai antioksidan karena dapat mengikat radikal bebas, donor proton dan menghambat pengikatan ion logam. Senyawa antioksidan hidrolisat protein ikan bandeng memiliki sifat hidrofobik sehingga menurunkan tingkat bioavailabilitas dalam tubuh. Salah satu teknologi yang dapat meningkatkan bioavailabilitas yaitu nanoenkapsulasi. Nanoenkapsulasi merupakan teknik penyalutan bahan aktif dalam bahan penyalut untuk melindungi senyawa aktif dengan ukuran nano. Metode pembuatan nanopartikel yang umum digunakan dan sederhana yaitu gelasi ionik. Kelebihan nanopartikel dengan gelasi ionik yaitu kitosan yang digunakan bersifat biokompatibel, biodegradabel, dan membentuk matriks yang dapat mengendalikan pelepasan senyawa bioaktif dan natrium tripolifosfat memiliki banyak ion negatif yang dapat meningkatkan kekuatan partikel. Tujuan penelitian yaitu mengetahui karakteristik nanopartikel berbahan dasar hidrolisat protein ikan bandeng dan mengetahui kombinasi perlakuan yang tepat antara kitosan, natrium tripolifosfat dan hidrolisat protein ikan bandeng dalam pembuatan nanopartikel.

Penelitian dilakukan dengan empat tahap yaitu (1) ekstraksi getah biduri dan pepaya, (2) pembuatan hidrolisat protein ikan bandeng, (3) pembuatan nanopartikel menggunakan perbandingan natrium tripolifosfat, kitosan dan hidrolisat protein, (4) pengujian karakteristik nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng. Pengujian karakteristik nanopartikel meliputi pH, efisiensi nanoenkapsulasi, ukuran dan distribusi partikel, zeta potensial, FTIR, aktivitas antioksidan (DPPH dan *reducing power*) dan morfologi partikel (TEM).

Hasil penelitian menunjukkan pH nanopartikel berkisar antara 1-2. Pada perbandingan kitosan tripolifosfat 2:1 dengan hidrolisat 300 hingga 500 µg/ml memiliki efisiensi enkapsulasi rentang 87,10 hingga 89,49%, ukuran partikel 182,70 hingga 208,36 nm, nilai indek polidispersitas 0,354 hingga 0,564, zeta potensial 29,43 hingga 33,26 mv, aktivitas antioksidan metode DPPH berkisar 48,95 hingga 51,85% dan metode *reducing power* 0,16 hingga 0,17. Perbandingan kitosan tripolifosfat 1:2 dengan hidrolisat 300 hingga 500 µg/ml memiliki efisiensi enkapsulasi sebesar 89,74 hingga 90,03%, ukuran partikel 13.370 hingga 15.090 mikro, indek polidispersitas 0,188 hingga 0,436, zeta potensial berkisar 2,48 hingga 5,33, antioksidan metode DPPH sebesar 42,72 hingga 52,27% dan metode *reducing power* sebesar 0,08 hingga 0,16. Gugus fungsi yang mengalami pergeseran pada semua perlakuan yaitu N-H, P=O, CH, OH dan -C-NO₂. Morfologi partikel 2:1(500) memiliki bentuk bulat sedangkan 1:2(300) berbentuk kurang bulat.

Berdasarkan ukuran partikel, nilai indek polidispersitas, efisiensi enkapsulasi, zeta potensial, aktivitas antioksidan dan morfologi partikel formulasi yang terpilih yaitu 2:1(500). Formulasi nanopartikel 2:1(500) memiliki ukuran partikel 208,36 nm, nilai indek polidispersitas 0,564, efisiensi enkapsulasi 87,10%, zeta potensial 31,7 mv, aktivitas antioksidan DPPH 48,95%, *reducing power* sebesar 0,17 dan memiliki bentuk bulat atau sferis.

SUMMARY

Characteristics of Antioxidant Nanoparticles from Milkfish Protein Hydrolysates Using the Ionic Gelation Method; Livia Wahyuni, 161710101007; 2020; 56 pages; Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Milkfish is a kind of brackish fish that has a specific taste and is cultivated by Indonesian society in coast area. Milkfish protein contains 20-24% that consists of amino acids glutamic, lysine and 14,2% of omega 3 fatty acid so it can be developed to be protein hydrolysates. Milkfish protein hydrolysates have antioxidant activity around 33.25% using the DPPH method. Amino acids act as antioxidants because of their hydrophobic nature which can reduce free radicals and donate hydrogen ions. Peptides act as antioxidants because they can bind to free radicals, donate protons and inhibit the binding of metal ions. The antioxidant compound of milkfish protein has a hydrophobic nature thereby reducing the level of bioavailability in the body. One technology that can improve bioavailability is nanoencapsulation. Nanoencapsulation is a technique for coating an active ingredient into coating material to protect the active compound in nano size. The most commonly used and simple method of making nanoparticles is ionic gelation. The advantage of nanoparticles with ionic gelation is chitosan that is used has characteristics of biocompatible, biodegradable, and forms a matrix that can control the release of bioactive compounds and sodium tripolyphosphate has many negative ions that can increase the strength of particles. The purpose of the study was to determine the characteristics of nanoparticles made from protein hydrolysate and to know the right combination of chitosan, sodium tripolyphosphate and protein hydrolysate in making nanoparticles

The study was conducted by four steps, such as (1) extracting of biduri's gum and papaya, (2) making of milkfish protein hydrolysates, (3) making of nanoparticles using the ratio of sodium tripolyphosphate, chitosan and protein hydrolysates, (4) the characteristics of milkfish protein hydrolysates analysis. The

characteristics of nanoparticles analysis include pH, nanoencapsulation efficiency, particle size and distribution, zeta potential, FTIR, antioxidant activity (DPPH and reducing power) and particle morphology (TEM).

Based on the results of the study showed the pH of nanoparticles ranged from 1-2. In the chitosan tripolyphosphate 2: 1 ratio with 300 to 500 $\mu\text{g} / \text{ml}$ hydrolyzate has an encapsulation efficiency range of 87.10 to 89.49%, particle size 182.70 to 208.36 nm, polydispersity index value 0.354 to 0.564, zeta potential 29, 43 to 33.26 mv, the antioxidant activity of the DPPH method ranged from 48.95 to 51.85% and the reducing power method was 0.16 to 0.17. Comparison of chitosan tripolyphosphate 1: 2 with hydrolysates 300 to 500 $\mu\text{g} / \text{ml}$ has an encapsulation efficiency of 89.74 to 90.03%, particle size of 13,370 to 15,090 micro, polydispersity index of 0.188 to 0.436, zeta potential ranging from 2.48 to 5.33 , antioxidant DPPH method of 42.72 to 52.27% and reducing power method of 0.08 to 0.16. Functional groups that can be move in all treatments are N-H, P = O, CH, OH and -C-NO₂. Particle morphology 2: 1 (500) has a round shape while 1: 2 (300) has a less round shape.

Based on particle size, polydispersity index value, encapsulation efficiency, zeta potential, antioxidant activity and particle morphology of the selected formulation are 2: 1 (500). The nanoparticle 2: 1 (500) formulation has a particle size of 208.36 nm, polydispersity index value of 0.564, encapsulation efficiency of 87.10%, zeta potential of 31.7 mv, antioxidant activity of DPPH 48.95%, reducing power of 0.17 and has a spherical shape.

PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT, atas limpahan rahmat dan karunia-Nya bagi penulis sehingga mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakteristik Nanopartikel Antioksidan Dari Hasil Hidrolisis Protein Ikan Bandeng Menggunakan Metode Gelasi Ionik” Skripsi ini disusun berdasarkan data penelitian yang telah dilakukan penulis untuk memenuhi syarat meraih gelar Sarjana Teknologi Pertanian.

Skripsi ini tidak luput dari kerjasama, motivasi dan bantuan dari berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung. Oleh sebab itu, dengan segenap kemurahan hati pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Siswoyo Soekarno, M.Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Dr. Ir. Jayus selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
3. Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P Selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak meluangkan waktu, pikiran dan perhatian demi kemajuan penelitian maupun penulisan skripsi ini;
4. Ahmad Nafi, S.TP., M.P selaku Dosen Pembimbing Anggota dan Pembimbing Akademik yang telah banyak membantu dan membimbing serta memberikan perhatian terhadap penulis dalam penyelesaian skripsi;
5. Dr. Ir. Sih Yuwanti, M.P dan Dr. Maria Belgis, S.TP., M.P selaku dosen penguji yang telah memberi masukan dan pengarahan serta kesediaan sebagai penguji;
6. Segenap dosen, teknisi laboratorium, dan karyawan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini;
7. Keluarga yang selalu mendampingi penulis ayah, mama dan adek terimakasih atas segala dukungan, do'a, dan kasih sayang tulus yang tiada terkira;
8. Guru guruku sejak SD hingga Perguruan Tinggi;

9. Kakakku Ely Astryaningsih, Anisa Maharani, Erlina Kartikasari dan teman teman kossan 39 yang selalu menemani setiap saat dan memberi dukungan tiada henti;
10. Sahabat sahabatku Dwi, Irma, Fadiah, Bagus Ibrahim, Ayu, Agung yang selalu memberikan nasehat nasehatnya selama ini dan Sahabat kuliahku Nancy, Vidita, Helyas, Yulia, Luluk, Aisyah Amini yang selalu memberikan semangat selama perkuliahan;
11. Keluarga Himpunan Mahasiswa Islam Cabang Jember terutama Ahmad Asrori Al Kamal dan Rizka Ayu Kartika yang telah memberi semangat selama perkuliahan;
12. Kakak kakakku Fery, Laura, Luluk, Erwin, Ulfa, Lilik, Kind Aisyah dan Ika Wahyuni yang memberikan semangat selama mengerjakan skripsi serta teman teman HMI Komisariat Teknologi Pertanian

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dan bermanfaat demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini membawa manfaat dan menambah pengetahuan bagi pembaca.

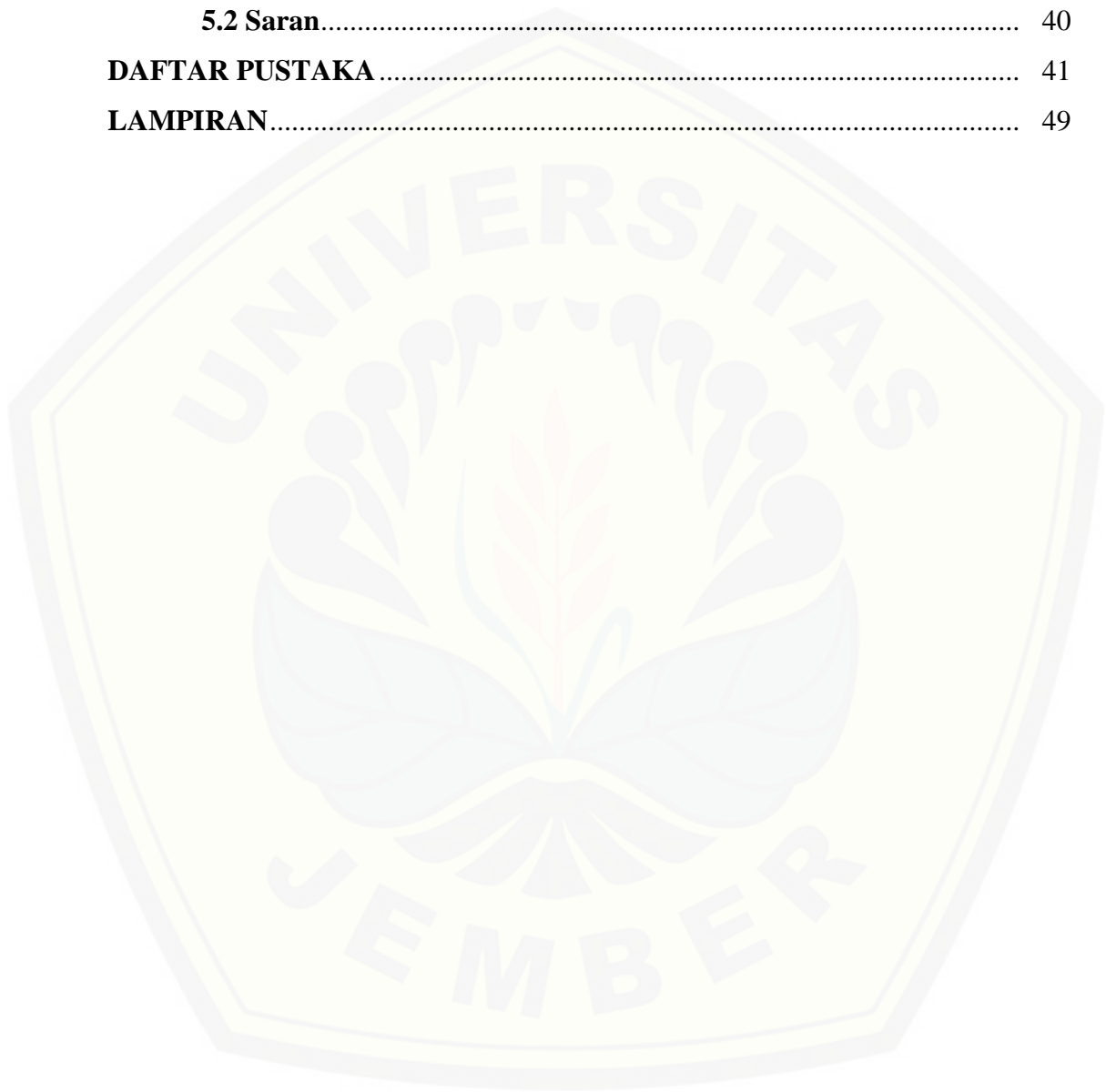
14 Maret 2020

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Nanopartikel	4
2.2 Hidrolisat Protein Ikan Sebagai Antioksidan	5
2.3 Kitosan	6
2.4 Natrium Tripolifosfat	8
2.5 Karakteristik Nanopartikel	8
2.5.1 Zeta potensial	8
2.5.2 Ukuran dan distribusi partikel	9
2.5.3 Efisiensi Enkapsulasi	10
2.5.4 Morfologi Nanopartikel.....	10
2.5.5 FTIR	10

2.6 Gelasi Ionik	11
BAB 3. METODE PENELITIAN	13
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	13
3.2.1 Bahan Penelitian	13
3.2.2 Alat Penelitian	13
3.3 Pelaksanaan Penelitian	14
3.3.1 Rancangan Percobaan	14
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	14
3.3.3 Ekstraksi Getah Biduri dan Pepaya	14
3.3.4 Pembuatan Hidrolisat Ikan Bandeng	15
3.3.5 Sintesis Nanopartikel Hasil Hidrolisis Ikan Bandeng	17
3.3.6 Pembuatan Bubuk Nanopartikel HPI Bandeng	17
3.4 Parameter Analisis	18
3.5 Prosedur Analisis	19
3.5.1 pH	19
3.5.2 Efisiensi Nanoenkapsulasi	19
3.5.3 Ukuran dan Distribusi Partikel	20
3.5.4 Zeta Potensial	20
3.5.5 Analisis Spektrum <i>Inframerah</i>	20
3.5.6 Aktivitas Antioksidan	20
3.5.7 <i>Transmission Electron Miscoscopy</i>	21
3.6 Analisis Data	22
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 pH	23
4.2 Efisiensi Nanoenkapsulasi	24
4.3 Ukuran dan Distribusi Partikel	26
4.4 Zeta Potensial	29
4.5 FTIR	30
4.6 Aktifitas Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Bandeng	34
4.6.1 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>)	35
4.4.2 Uji Aktivitas Antioksidan Metode <i>Reducing Power</i>	36
4.7 TEM	37

4.8 Karakteristik Nanopartikel Hidrolisat Protein Ikan Bandeng	
Formulasi Terpilih	39
BAB 5. PENUTUP.....	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	49



DAFTAR TABEL

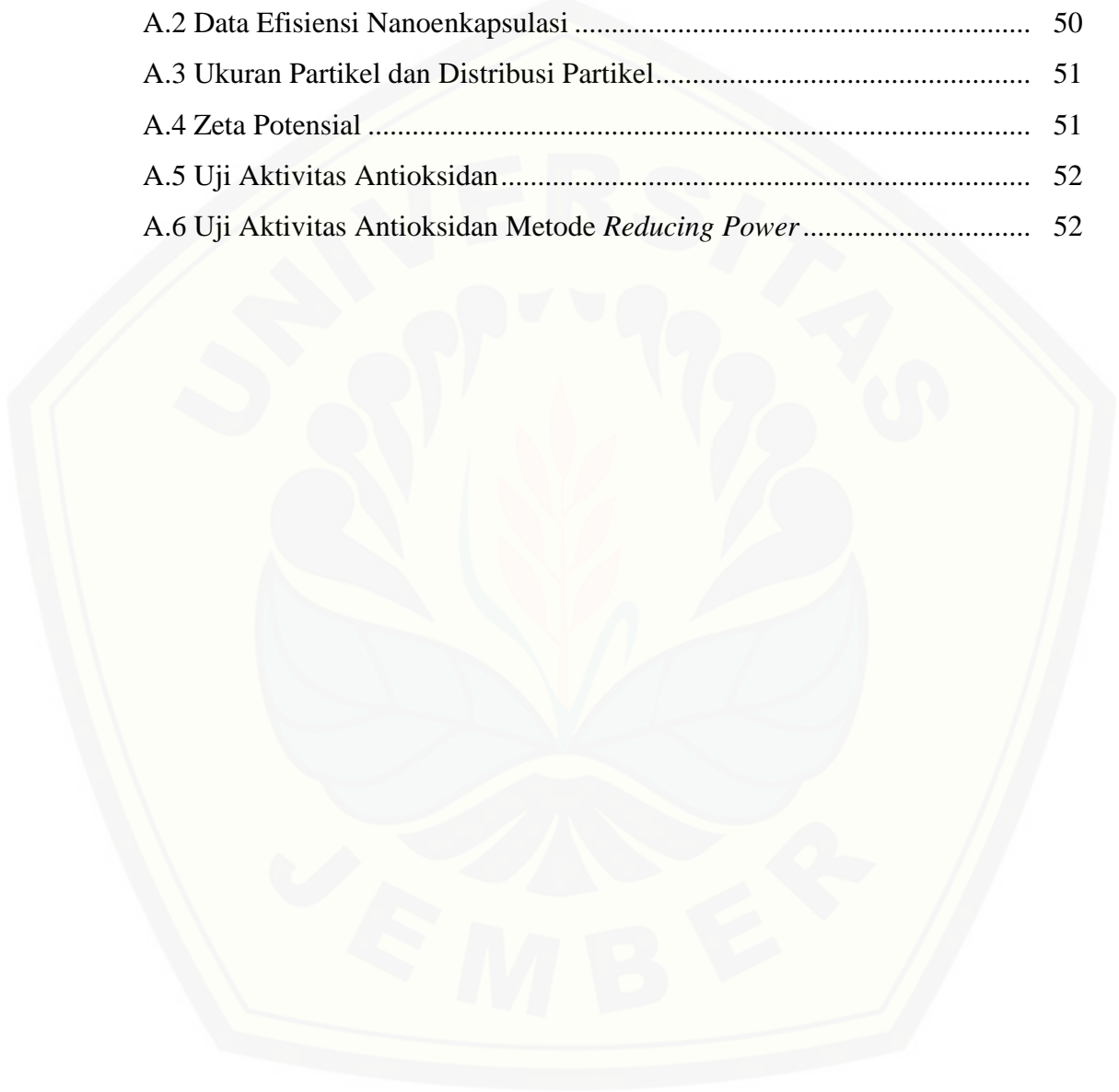
	Halaman
2.1 Karakteristik jenis hidrolisat protein ikan.....	6
3.1 Kombinasi Perlakuan	14
4.1 Nilai pengujian pH nanopartikel HPI Bandeng	23
4.2 Nilai Efisiensi nanoenkapsulasi	25
4.3 Ukuran dan Distribusi Partikel.....	26
4.4 Zeta Potensial	29
4.5 Gugus fungsi nanopartikel	34
4.6 Antioksidan menggunakan metode DPPH.....	35
4.7 Pengukuran <i>reducing power</i>	36
4.8 Karakteristik nanopartikel formulasi terpilih.....	39

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Rumus Kimia Kitosan	7
2.2 Struktur Tripolifosfat	8
2.3 Intraksi Kitosan dan STPP	12
3.1 Diagram Alir Prosedur Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Bandeng	16
3.2 Sintesis Nanopartikel	17
3.3 Pembuatan Bubuk Nanopartikel	18
4.1 Spektrum FTIR nanopartikel 2:1 (300).....	31
4.2 Spektrum FTIR nanopartikel 2:1 (400).....	31
4.3 Spektrum FTIR nanopartikel 2:1 (500).....	32
4.4 Spektrum FTIR nanopartikel 1:2 (300).....	32
4.5 Spektrum FTIR nanopartikel 1:2 (400).....	33
4.6 Spektrum FTIR nanopartikel 1:2 (500).....	33
4.7 TEM	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Data Hasil Analisis	49
A.1 Data pH nanopartikel	49
A.2 Data Efisiensi Nanoenkapsulasi	50
A.3 Ukuran Partikel dan Distribusi Partikel.....	51
A.4 Zeta Potensial	51
A.5 Uji Aktivitas Antioksidan.....	52
A.6 Uji Aktivitas Antioksidan Metode <i>Reducing Power</i>	52



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bandeng (*Chanos chanos sp*) adalah salah satu jenis ikan air payau yang memiliki rasa spesifik dan banyak dibudidayakan oleh masyarakat pesisir Indonesia (Adiputra *et al.*, 2012; Jaikumar *et al.*, 2013). Produksi ikan bandeng dapat dijumpai diseluruh provinsi Indonesia. Bandeng banyak diproduksi dipulau Jawa, sebagian Jawa Tengah, Jawa Timur dan Jawa Barat. Produksi ikan bandeng pada tahun 2017 sebesar 537.845 ton (Soebjako, 2018). Muliawan *et al.* (2016), menjelaskan konsumsi masyarakat terhadap ikan bandeng sebesar 1,9 kg/kapita.

Produksi bandeng yang cukup besar berkisar 54,49 kg/kapita berpotensi diolah menjadi berbagai produk bernilai tambah. Produk olahan bandeng yang sudah dikenal dikalangan masyarakat yaitu bandeng tanpa duri, bandeng duri lunak, bandeng asap dan lain-lain. Bandeng memiliki rasa gurih dan nutrisi yang tinggi sehingga bernilai lebih untuk kesehatan. Protein ikan bandeng mencapai 20-24% yang terdiri dari asam amino glutamat dan lisin serta kandungan asam omega 3 yang cukup tinggi mencapai 14,2% sehingga dapat dikembangkan menjadi hidrolisat protein (Nusantari *et al.*, 2016). Hidrolisat protein dapat berfungsi sebagai bahan fortifikasi makanan dan minuman yang memiliki kelarutan dan daya cerna cukup tinggi.

Hidrolisat protein adalah protein yang telah mengalami proses degradasi dengan asam, basa, ataupun enzim proteolitik. Hasil dari hidrolisat protein diantaranya berupa asam amino dan peptida. Hidrolisat protein ikan bandeng mempunyai aktivitas antioksidan sebesar 33,25% menggunakan metode DPPH (Mukti, 2018). Asam amino berperan sebagai antioksidan karena memiliki sifat hidrofobik yang dapat mereduksi radikal bebas dan mendonorkan ion hidrogen seperti lisin dan glisin. Selain itu, terdapat triptofan yang memiliki gugus fenolik dan indoliknya dalam mendonorkan hidrogen. Peptida bertindak sebagai antioksidan karena dapat mengikat radikal bebas, donor proton dan menghambat pengikatan ion logam contohnya oligopeptida seperti *glutathione* dan *carnosine*. Senyawa antioksidan hidrolisat protein ikan bandeng memiliki sifat hidrofobik

atau sukar larut dalam air sehingga menurunkan tingkat bioavailabilitas dalam tubuh. Teknologi yang bisa digunakan untuk meningkatkan bioavailabilitas dan mempertahankan aktivitas antioksidan salah satunya nanoenkapsulasi.

Kailasapathy (2002), menjelaskan bahwa nanoenkapsulasi merupakan teknik penyalutan bahan aktif dalam bahan penyalut untuk melindungi senyawa bioaktif dengan ukuran nano. Nanopartikel adalah bahan yang memiliki partikel dengan ukuran nanometer. Nanopartikel menggunakan polimer dapat meningkatkan bioavailabilitas dan mengendalikan pelepasan suatu zat aktif (Napsah dan Wahyuningsih, 2009). Penelitian Buzea *et al.* (2007), menjelaskan bahwa nanopartikel mampu menembus ruang antar sel yang tidak dapat ditembus oleh partikel berukuran lebih besar.

Nanopartikel dapat disintesis menggunakan 4 macam metode yaitu penguapan pelarut, emulsifikasi spontan, metode polimerisasi dan gelasi ionik. Gelasi ionik adalah pencampuran antara polimer kitosan dan polianion natrium tripolifosfat yang menghasilkan interaksi antara muatan positif gugus amino kitosan dan muatan negatif tripolifosfat (Mohanraj dan Chen, 2006). Gelasi ionik melibatkan proses sambung silang antara polielektrolit dengan adanya pasangan ion multivalennya. Kelebihan nanopartikel dengan gelasi ionik yaitu kitosan yang digunakan bersifat biokompatibel, biodegradabel, tidak beracun dan membentuk matriks yang dapat mengendalikan pelepasan senyawa bioaktif (Prabaharan, 2008). Natrium tripolifosfat digunakan sebagai sambung silang karena memiliki banyak ion negatif sehingga dapat meningkatkan kekuatan partikel (Wahyono, 2010).

Penelitian nanopartikel menggunakan gelasi ionik banyak dilakukan dengan bahan kitosan dan natrium tripolifosfat diantaranya Wu *et al.* (2005) yaitu sintesis nanopartikel senyawa ammonium *glycyrrhizinate* dan Stoica *et al.* (2013) preparasi nanopartikel polifenol dari *rose canina*. Faktor yang menentukan keberhasilan sintesis nanopartikel menggunakan gelasi ionik yaitu konsentrasi kitosan, natrium tripolifosfat dan hidrolisat yang ditambahkan. Penelitian sintesis nanopartikel berbahan dasar hidrolisat protein belum pernah dilaporkan, sehingga perlu dilakukan penelitian karakteristik nanopartikel hidrolisat protein ikan

bandeng dengan perbandingan kitosan, natrium tripolifosfat dan hidrolisat yang ditambahkan menggunakan gelasi ionik.

1.2 Rumusan Masalah

Hidrolisat protein ikan bandeng memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Teknologi yang dapat digunakan untuk melindungi aktivitas antioksidan yaitu menggunakan nanoenkapsulasi. Keunggulan teknologi nanoenkapsulasi dapat meningkatkan stabilitas dan bioavailabilitas senyawa zat aktif. Pembuatan nanopartikel dapat menggunakan berbagai metode salah satunya gelasi ionik. Faktor yang menentukan keberhasilan sintesis nanopartikel menggunakan gelasi ionik yaitu konsentrasi kitosan, natrium tripolifosfat dan hidrolisat yang ditambahkan. Permasalahannya adalah belum diketahui perbandingan kitosan, natrium tripolifosfat dan hidrolisat protein ikan bandeng terhadap karakteristik dan aktivitas antioksidan bubuk nanopartikel.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui karakteristik nanopartikel berbahan dasar hidrolisat protein ikan bandeng
2. Mengetahui kombinasi perlakuan yang tepat antara kitosan, natrium tripolifosfat dan hidrolisat protein ikan bandeng dalam pembuatan nanopartikel

1.4 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini yaitu:

1. Menyediakan bahan tambahan pangan yang memiliki nilai tambah sebagai sumber antioksidatif alami.
2. Nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng dapat dikembangkan menjadi produk nutrasetikal dan pangan fungsional.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nanopartikel

Nanopartikel dapat diartikan sebagai teknik penyalutan bahan yang memiliki ukuran kecil dengan diameter rata-rata 1-1000 nm (Singh dan Deep, 2010). Thassu *et al.* (2007), melaporkan bahwa nanopartikel memiliki sifat yang baik karena peningkatan luas permukaan dapat meningkatkan reaktivitas maupun kekuatan partikel. Nanopartikel mampu menembus ruang antar sel yang tidak dapat ditembus oleh partikel berukuran lebih besar (Buzea *et al.*, 2007).

Nanopartikel banyak digunakan sebagai sistem penghantar obat karena memiliki banyak keuntungan, salah satunya yaitu ukuran partikel dan sifat permukaan yang mudah diatur. Rawat *et al.* (2006), menjelaskan nanopartikel dapat digunakan untuk pemberian termasuk oral, nasal, perenteral dan intra-okular. Nanopartikel dapat mengontrol dan menahan pelepasan zat aktif saat bekerja sehingga meningkatkan efek terapi obat dan mengurangi efek samping.

Pembuatan nanopartikel ada 4 macam metode yaitu penguapan pelarut, emulsifikasi spontan, metode polimerisasi dan gelasi ionik. Metode penguapan pelarut diawali dengan polimer dilarutkan dalam pelarut organik seperti diklorometan, kloroform atau etil asetat yang biasa digunakan untuk pelarut. Campuran dihomogenisasi untuk menstabilkan emulsi kemudian diuapkan sehingga diperoleh produk dalam bentuk nanopartikel. Metode emulsifikasi spontan merupakan metode modifikasi dari penguapan pelarut. Metode emulsifikasi digunakan pada bahan yang sulit larut dalam air. Pada metode tersebut, air yang larut dalam pelarut dengan jumlah kecil tidak larut dalam pelarut organik sebagai fase minyak. Nanoemulsi dapat meningkatkan kelarutan maupun penyerapan senyawa bioaktif yang sulit larut dalam air. Pada metode polimerisasi, monomer monomer dipolimerisasi menjadi bentuk nanopartikel dalam larutan. Mohanraj dan Chen (2006), melaporkan metode polimerisasi dilakukan dalam larutan kemudian suspensi nanopartikel dipisahkan dari zat penstabil dan surfaktan menggunakan sentrifugasi. Gelasi ionik adalah

pencampuran antara polimer kitosan dan polianion natrium tripolifosfat yang menghasilkan interaksi antara muatan positif gugus amino kitosan dan muatan negatif tripolifosfat (Mohanraj dan Chen, 2006). Gelasi ionik melibatkan proses sambung silang antara polielektrolit dengan adanya pasangan ion multivalennya. Prabakaran (2008), menjelaskan kelebihan nanopartikel menggunakan gelasi ionik yaitu kitosan yang digunakan bersifat biokompatibel, biodegradabel, tidak beracun dan membentuk matriks yang dapat mengendalikan pelepasan senyawa bioaktif. Natrium tripolifosfat sebagai sambung silang karena memiliki banyak ion negatif sehingga dapat meningkatkan kekuatan partikel (Wahyono, 2010).

2.2 Hidrolisat Protein Ikan Sebagai Antioksidan

Hidrolisis protein dapat diartikan sebagai protein yang mengalami degradasi hidrolitik dengan asam, basa maupun enzim proteolitik yang dapat menghasilkan produk berupa asam amino dan peptida (Haslaniza *et al.*, 2010). Hidrolisat protein adalah produk yang dihasilkan dari proses penguraian protein kompleks menjadi senyawa protein berantai pendek karena adanya proses hidrolisis. Ikan dijadikan hidrolisat protein dengan tujuan mendapatkan bahan pangan yang lebih mudah dicerna oleh tubuh. Wijayanti (2009), melaporkan bahwa terurainya senyawa protein kompleks menjadi asam amino menyebabkan mudahnya dicerna oleh organ pencernaan manusia.

Hidrolisat protein ikan memiliki kandungan antioksidan alami. Faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan hidrolisat protein sebagai antioksidan yaitu kadar protein dan derajat hidrolisis. Potensi antioksidan alami dari hidrolisat protein ikan dapat ditunjukkan oleh kemampuannya dalam merangkap radikal bebas (*free radical scavenging*), pengikat ion logam dan donor proton (Samaranayaka dan Li-Chan, 2011). Karakteristik hidrolisat protein ikan dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Karakteristik beberapa jenis hidrolisat protein ikan

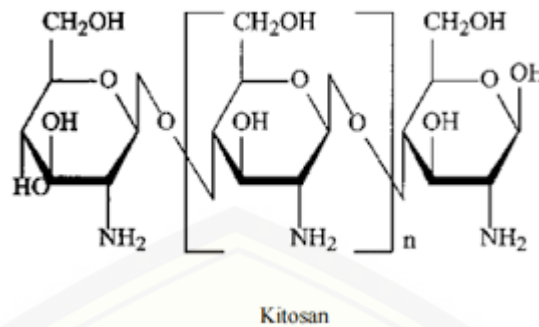
Karakteristik Hirolisat Protein	Jenis Ikan		
	Tuna sirip biru	Lemuru	small spotted catshark
Kadar protein (%)	62,5 – 67,8	60,7 – 66,4	87,0 – 89,5
Derajat hidrolisis (%)	19,7 – 21,0	13,2 – 14,9	17,3 – 19,2
Penghambatan DPPH (mg/ml)	1,47 – 1,63	0,91 – 1,75	3,82 – 4,45
Aktifitas pengkelatan Fe ²⁺ (mg/ml)	0,42 – 0,49	0,32	0,32 – 0,51

Sumber : Garcia-Moreno *et al.*, (2014)

Sifat hidrofobik asam amino memiliki peranan penting dalam penentuan sifat antioksidatif. Lin *et al.* (2010), menjelaskan asam amino hidrofobik memiliki kemampuan untuk mendonorkan ion hidrogen dalam mereduksi radikal bebas. Contoh asam amino yang bersifat hidrofobik yaitu lisin dan glisin (Siow dan gan, 2013). Asam amino triptofan memiliki sifat antioksidatif yang tinggi karena kemampuan gugus fenolik dan indoliknya dalam mendonorkan atom hidrogen.

2.3 Kitosan

Kitosan adalah hasil proses hidrolisis kitin dengan alkali sehingga terjadi deasetilasi dari gugus asetamida menjadi gugus amina. Kitosan termasuk senyawa berbobot molekul besar yang memiliki rantai polisakarida $\beta(1-4)$ -2-amino-2-deoksi-D-glukosa dengan rumus kimia $(C_6H_{11}NO_4)_n$. Kitosan memiliki beberapa sifat yang istimewa diantaranya bersifat biokompatibel, biodegradabel dan non toksik. Kitosan memiliki kemampuan sebagai bahan pembawa obat dan dapat dimodifikasi (Dong-Gon, 2006). Rumus kimia kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Rumus Kimia Kitosan (Ramadan *et al.*, 2010)

Karakteristik fisiko-kimia kitosan diantaranya berwarna putih dan berbentuk kristal, larut dalam pelarut asam organik. Kitosan sedikit mudah larut dalam air dan memiliki muatan positif yang kuat sehingga dapat mengikat muatan negatif dari senyawa lainnya. Ramadan *et al.* (2010), menyebutkan kitosan mudah mengalami degradasi secara biologis dan tidak beracun. Kitosan memiliki derajat deasetilasi 75-100%, apabila derajatnya relatif rendah (40%) maka kitosan dapat larut pada medium pH maksimal 9 sebaliknya jika derajatnya tinggi (85%) ia dapat larut dalam medium pH 6,5 (Goerge dan Abraham, 2006). Berat molekul dan derajat deasetilasi merupakan faktor utama yang berpengaruh terhadap ukuran partikel, pembentukan partikel dan agregasi (Tiyaboonchai, 2003).

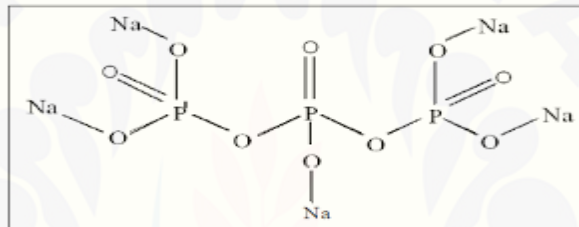
Kitosan merupakan polimer yang memiliki toksik rendah, bersifat pH rendah dengan nilai pKa 6,2-7,0. Kitosan larut dalam air pada pH yang lebih kecil dari 6,5 dan sebagian gugus amina mengalami proses ionisasi. Kitosan memiliki tiga gugus reaktif yaitu hidroksil primer di C6, hidroksil sekunder di C3 dan gugus amino pada C2 setiap gugus deasetilasi. Gugus reaktif telah mengalami proses modifikasi kimia dengan glisidil trimetilamonium klorida, karboksimetilasi dan sulfonasi. Tungkong *et al.* (2012), menjelaskan bahwa modifikasi kimia dapat meningkatkan kelarutan kitosan dalam air dengan berbagai pH.

Penelitian kitosan banyak berkaitan dengan sistem pengantar obat. Kitosan dapat digunakan sebagai bahan pembentuk nanopartikel melalui metode gelasi ionik. Metode tersebut dilakukan dengan cara mencampurkan kitosan

dengan natrium tripolifosfat (Moharaj dan Chen, 2006). Ikatan sambung silang dapat meningkatkan kestabilan partikel secara mekanis (Yu-Shin *et al*, Rowe, 2009).

2.4 Natrium Tripolifosfat

Natrium tripolifosfat merupakan serbuk atau granul berwarna putih dan memiliki sifat higroskopis. Sifat dari senyawa tripolifosfat mudah larut dalam air dan tidak larut dalam etanol. Tripolifosfat dapat digunakan untuk bahan tambahan sebagai senyawa pembentuk tekstur. Struktur tripolifosfat dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Struktur Tripolifosfat (Vanshosaz and Karimzadeh, 2007)

Tripolifosfat digunakan dalam pembuatan nanopartikel sebagai pasangan ion dari kitosan. Yu shin *et al.* (2008), menjelaskan bahwa triopolifosfat digunakan sebagai salah satu pasangan ion kitosan sehingga hasil dari nanopartikel lebih stabil dan sebagai penembus membran yang lebih baik. Pada nanopartikel sambung silang, tripolifosfat berperan sebagai komponen anion multivalen yang akan membentuk ikatan sambung silang dengan kitosan yang bersifat kationik (Yu shin *et al.*, 2008). Semakin banyak ikatan silang yang terbentuk, maka kekuatan mekanik matriks kitosan akan meningkat sehingga partikel kitosan lebih kuat dan keras serta sulit dipisahkan menjadi bagian-bagian kecil (Wahyono, 2010).

2.5 Karakteristik Nanopartikel

2.5.1 Zeta Potensial

Zeta potensial nanopartikel dapat digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan yang berkaitan dengan intraksi elektrostatis

nanopartikel. Molekul heteroatomik yang terdapat dalam partikel-partikel biasanya memiliki muatan. Muatan tersebut dapat berupa positif ataupun negatif tergantung pada orientasi ataupun ionisasi komponen partikel.

Nilai zeta potensial pada partikel harus lebih tinggi dibandingkan dengan medium pendispersi. Hal ini bertujuan untuk mencegah timbulnya agregasi. Kekuatan tolak menolak yang dibawa oleh muatan ion serupa akan mencegah gaya tarik menarik yang ditentukan oleh ikatan hidrogen dan van der Waals. Vaughn dan Williams (2007), menjelaskan bahwa dengan dikendalikannya zeta potensial akan mendapatkan kondisi yang ideal untuk agregasi. Couvreur *et al.* (2012), semakin besar nilai zeta potensial maka partikel akan semakin stabil. Nanopartikel dikatakan stabil apabila memiliki nilai zeta (+/-) 30 Mv. Nilai positif menunjukkan adanya gugus amino pada kitosan dalam nanopartikel yang terbentuk.

2.5.2 Ukuran dan Distribusi Partikel

Ukuran dan distribusi partikel merupakan karakteristik yang penting dalam nanopartikel. Ukuran dan distribusi partikel dapat digunakan untuk memperkirakan distribusi secara *in vivo* dan biologis. Partikel-partikel yang berukuran kecil memiliki resiko tinggi mengalami agregasi selama penyimpanan dan distribusi. Mohanraj dan Chen (2006), menjelaskan dalam memformulasikan nanopartikel diperlukan ukuran yang kecil namun memiliki stabilitas yang maksimum.

Sahoo dan Labhasetwar (2006), ukuran partikel dapat berpengaruh terhadap daya serap senyawa bioaktif pada tubuh. Semakin kecil ukuran partikel dapat meningkatkan daya serap senyawa bioaktif. Sintesis nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik dipengaruhi oleh beberapa faktor misalnya konsentrasi polimer yang digunakan, kecepatan putaran saat sintesis nanopartikel dan kecepatan tetesan argon. Partikel dengan ukuran 10 hingga 1000 nm dapat dikatakan berukuran nano.

Distribusi partikel menunjukkan tingkat homogen dari nanopartikel yang terbentuk. Distribusi partikel dapat dinyatakan dengan nilai Indeks Polidispersitas (IP). Lovelyn dan Attama (2011), menyatakan semakin kecil nilai indeks

polidispersitas maka nanopartikel semakin homogen. Rentang nilai indeks polidispersitas berkisar antara 0 hingga 1. Nilai mendekati 0 menandakan kehomogenan semakin baik, jika nilai melebihi 0,5 maka tingkat kehomogenan partikel rendah (Avandi *et al.*, 2010).

2.5.3 Efisiensi Enkapsulasi

Efisiensi enkapsulasi dapat menunjukkan banyaknya senyawa aktif yang terdapat didalam nanopartikel (Chabib *et al.*, 2012). *Drug loading* dan efisiensi enkapsulasi bergantung pada kelarutan yang stabil dalam matriks atau polimer. Efisiensi enkapsulasi berkaitan dengan komposisi polimer, bobot molekul dan intraksi antara obat dan polimer (Mohanraj dan Chen, 2006). Konsentrasi penambahan polimer (kitosan) akan berpengaruh terhadap efisiensi enkapsulasi yang dihasilkan. Kafshgari *et al.* (2010), menjelaskan bahwa nanopartikel dapat dinyatakan efisien apabila memiliki nilai efisiensi lebih dari 50% atau mendekati 100%.

2.5.4 Morfologi Nanopartikel

Morfologi nanopartikel dapat diketahui menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) ataupun TEM (*Transmisi Electron Microscopy*) dan mikroskop daya atom. Morfologi nanopartikel akan berpengaruh terhadap pelepasan senyawa bioaktif pada nanopartikel. Dewantari (2013), menjelaskan bahwa penambahan tripolifosfat berpengaruh terhadap morfologi yang terbentuk. Nanopartikel dapat berbentuk sferis yang dapat menghindari adanya kontak antara partikel sehingga tidak mudah menggumpal (Martien *et al.*, 2012).

2.5.5 FTIR

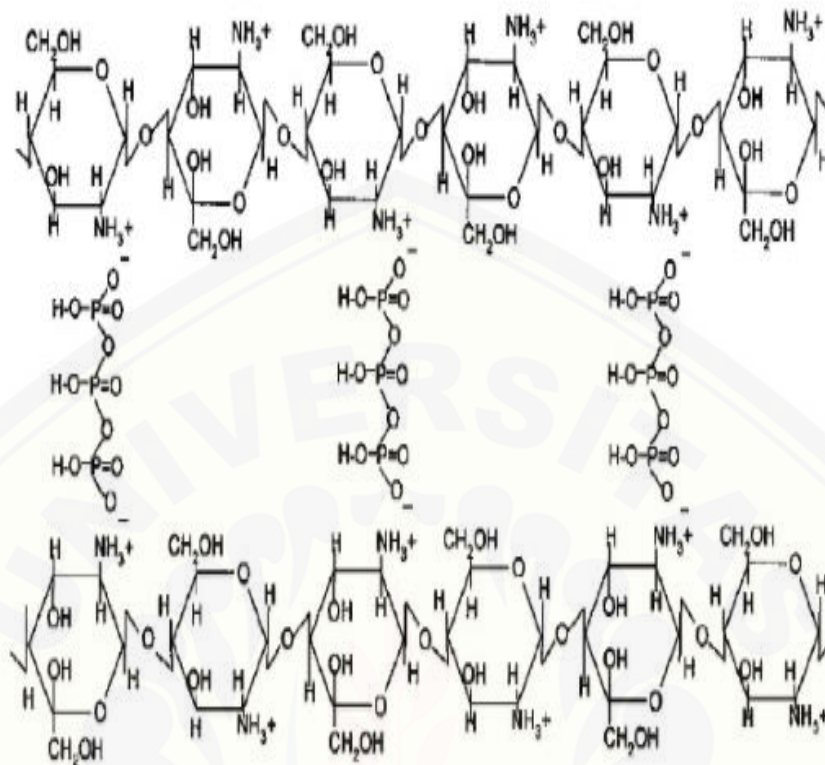
FTIR merupakan salah satu alat yang digunakan untuk identifikasi senyawa khususnya senyawa organik baik kualitatif maupun kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan dengan melihat bentuk spektrum yang menunjukkan jenis gugus fungsional yang dimiliki suatu senyawa. Analisis kuantitatif dilakukan menggunakan senyawa standar yang dibuat dengan spektrum berbagai variasi. Sinar inframerah memiliki rentang panjang gelombang dari 2,5 μm hingga 25 μm . Frekuensi sinar IR memiliki rentang dari 400 sampai 4000 cm^{-1} .

Pada grafik pola FTIR terdapat cekungan atau gelombang pada spektrum transmitansi yang menunjukkan adanya partikel yang berinteraksi dengan radiasi infra merah pada panjang gelombang tersebut. Bilangan gelombang yang berada kurang dari 1400 cm^{-1} disebut daerah sidik jari, dimana pada daerah ini terjadi absorpsi yang disebabkan oleh bermacam-macam interaksi sedangkan untuk bilangan gelombang 1400 cm^{-1} sampai 4000 cm^{-1} merupakan daerah khusus yang berguna untuk identifikasi gugus-gugus fungsional.

2.6 Gelasi Ionik

Prinsip sintesis nanopartikel menggunakan gelasi ionik yaitu terjadinya intraksi ionik antara gugus amino kitosan yang bermuatan positif dengan polianion yang bermuatan negatif sehingga membentuk intramolekul tiga dimensi (Agnihotri, 2004). Polimer yang digunakan dalam sintesis nanopartikel harus bersifat biodegradabel dan biokompatibel. Suppimath *et al.* (2011), menjelaskan bahwa polimer yang biasa digunakan dalam sintesis nanopartikel diantaranya gelatin, amilum, kitosan dan natrium alginat.

Sintesis nanopartikel menggunakan gelasi ionik yaitu kitosan terlebih dahulu dilarutkan dalam pH asam seperti asam asetat sehingga akan mengubah gugus amina (NH_2) menjadi (NH_3^+). Zat pengikat silang yang banyak digunakan yaitu tripolifosfat yang memiliki banyak muatan negatif sehingga dapat berintraksi lebih kuat dibandingkan polianion lain seperti sulfat dan sitrat (Wahyono, 2010). Sintesis nanopartikel menggunakan gelasi ionik dilakukan dengan menambahkan sodium tripolifosfat dan ekstrak setetes demi setetes pada larutan kitosan dengan kecepatan pengadukan tertentu. Interaksi ionik antara kitosan dan tripolifosfat terdapat pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Interaksi kitosan dan STPP (Mi *et al.*,1996)

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian, Laboratorium Analisa Terpadu Fakultas Teknologi Pertanian, Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember, Laboratorium Matematika dan IPA Universitas Gajah Mada dan Laboratorium Material Fisika ITS. Waktu pelaksanaan dimulai pada bulan September sampai November 2019.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian yaitu ikan bandeng segar yang diperoleh dari Pasar Tanjung, getah biduri dari pesisir pantai selatan Jember dan getah pepaya. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis antara lain akuades, buffer fosfat 0,05 pH 7, buffer fosfat pH 6,6, kitosan (derajat asetilasi 85% PT. Biotech Surindo, Indonesia), natrium tripolifosfat teknis (Woko, Jepang), KBr, *follin ciocalteau*, Na_2CO_3 (Merck, Jerman), TCA, HCL, NaOH, tirosin, reagen DPPH (*1,1-diphenyl-1-2-Picrylhydrazil*), kalium heksasianofera, *potassium ferisianide* [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$], FeCl_3 , asam askorbat, gum arab (Woko, Jepang), H_2O_2 , TBA, etanol p.a, etanol teknis, Na_2HPO_4 , asam asetat pH 2 (Merck, Jerman), NaH_2PO_4 dan reagen bradford.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat untuk preparasi, neraca analitik, blender, *waterbath shake* (GFL 1083), sentrifugator (Kubota 5100, Jepang) beserta tabung, penyaring, *freezer dryer* alpa 1-2 LO Plus, *food processor*, tabung, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1600, Jepang), vortex, alat pemanas, pH meter jen way type 3320, *micropipet*, pengaduk magnetik, *Fourrier Transfrmation Infra Red* Tipe 8400S (Shimadzu, Jepang), *Homogenizer* (Omni-Multimix Inc., Malaysia), *Particle Size Analyzer* (Delsa

TM Nano, Amerika Serikat), Mikroskop Transmisi Elektron JEM-1400 (JEOL Ltd., Jepang), dan alat alat gelas (Iwaki dan Pyrex).

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan *experimental laboratory* dengan dua faktor. Faktor yang pertama yaitu perbedaan konsentrasi hidrolisat protein sebanyak 300, 400 dan 500 µg/ml. Faktor yang kedua yaitu perbandingan kitosan dan natrium tripolifosfat sebesar 2:1 dan 1:2. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Kombinasi perlakuan dari dua faktor dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan

Perlakuan	Variasi		
	Hidolisat Protein Ikan Bandeng (µg/ml)	Kitosan	Natrium Tripolifosfat
KTPP1	300	2	1
KTPP2	400	2	1
KTPP3	500	2	1
TPPK1	300	1	2
TPPK2	400	1	2
TPPK3	500	1	2

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 4 tahap sebagai berikut (1) persiapan penelitian dengan cara ekstraksi getah biduri dan pepaya, (2) pembuatan hidrolisat protein ikan bandeng, (3) pembuatan nanopartikel menggunakan perbandingan natrium tripolifosfat, kitosan dan hidrolisat protein dan (4) pengujian karakteristik nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng.

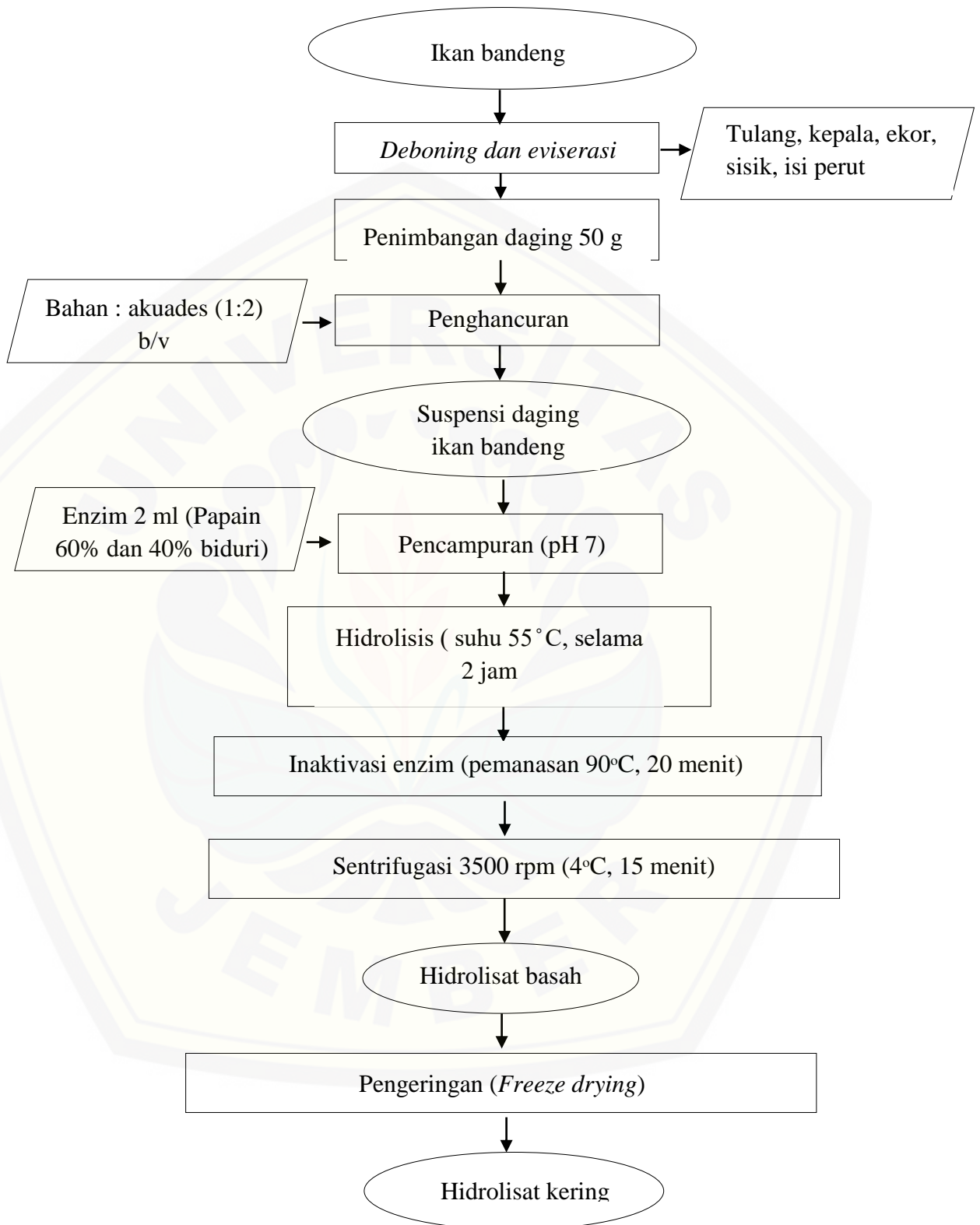
3.3.3 Ekstraksi Getah Biduri dan Pepaya

Persiapan penelitian dimulai dengan pembuatan enzim protease biduri dan pepaya. Tahap pertama dalam ekstraksi getah biduri dan pepaya yaitu pengambilan getah tanaman biduri yang masih muda serta getah pepaya. Kemudian dilanjutkan dengan penambahan buffer fosfat 0,05 M dengan pH 7. Penambahan larutan buffer dilakukan dengan perbandingan antara getah tanaman biduri atau pepaya dengan buffer fosfat sebesar 1:1. Larutan hasil

pencampuran dikocok dan lakukan pemisahan antar supernatan serta endapan. Fungsi dilakukan penambahan buffer fosfat yaitu bertujuan untuk mempertahankan pH dan kondisi optimum getah biduri serta pepaya. Pemisahan supernatan dan endapan dilakukan menggunakan suhu dingin yaitu sebesar 4°C pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang didapatkan dari proses sentrifugasi disebut dengan ekstrak kasar enzim protease biduri dan pepaya. Ekstrak kasar tersebut digunakan untuk menghidrolisis protein ikan bandeng.

3.3.4 Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Bandeng

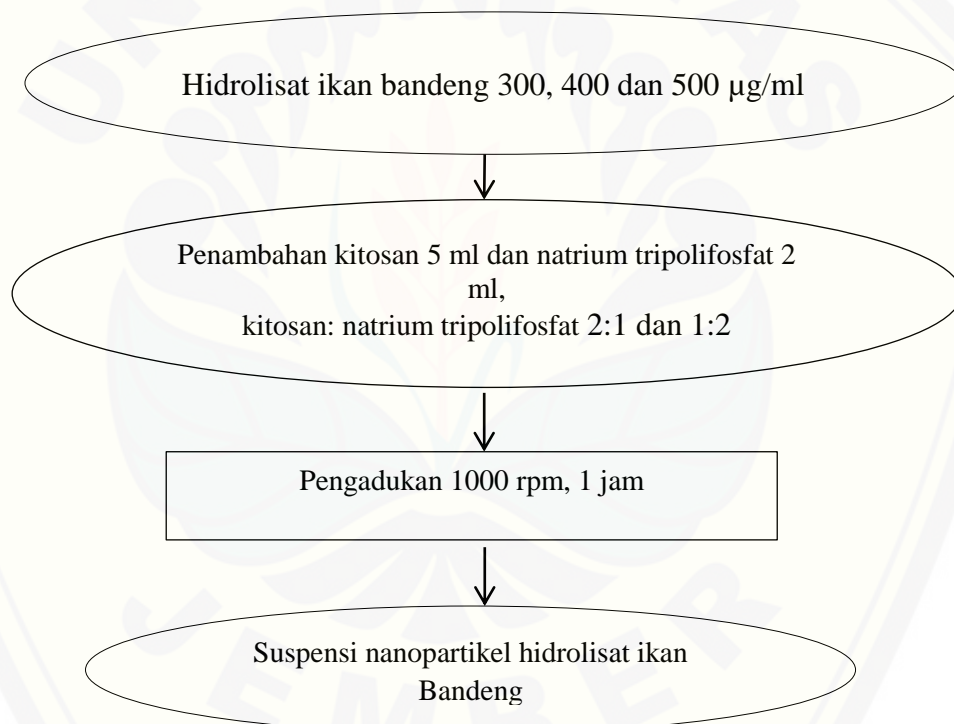
Ikan bandeng yang telah disiapkan dilakukan proses *deboning* dan *eviserasi*. Tujuan proses tersebut untuk menghilangkan bagian tulang, kepala, ekor, sisik dan isi perut. Daging yang diperoleh dibersihkan terlebih dahulu menggunakan air mengalir, selanjutnya ditimbang sebanyak 50 g. Daging yang telah ditimbang, ditambah akuades dengan perbandingan antara bahan dan akuades 1:2 (b/v) dan dihancurkan dengan blender. Suspensi daging ikan yang diperoleh ditambahkan dengan enzim 2 ml (Papain 60% dan biduri 40%) Hidrolisis dilakukan menggunakan *waterbath* dengan suhu 55°C selama 2 jam, selanjutnya lakukan inaktivasi enzim dengan cara pemanasan 90°C selama 20 menit dan diperoleh hidrolisat basah. Hidrolisat yang diperoleh kemudian disaring dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm, suhu 4°C selama 15 menit dan dikeringkan dengan *freeze dryer* sehingga diperoleh hidrolisat kering. Diagram alir pembuatan hidrolisat ikan bandeng dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram alir prosedur pembuatan hidrolisat protein ikan bandeng modifikasi metode Hidayat (2005).

3.3.5 Sintesis Nanopartikel Hidrolisat Protein Ikan Bandeng

Bubuk hidrolisat ikan bandeng sebanyak 300, 400 dan 500 μg dilarutkan dalam akuades 1 ml. Bubuk kitosan sebanyak 10 mg dan 5 mg dilarutkan dalam asam asetat 5 ml dengan konsentrasi 0,1%. Bubuk natrium tripolifosfat 2 mg dan 4 mg dilarutkan dalam akuades 2 ml. Larutan hidrolisat protein ikan bandeng ditambahkan dengan kitosan dan natrium tripolifosfat. Perbandingan antara kitosan dan natrium tripolifosfat yaitu 2:1 dan 1:2. Pengadukan dilakukan dengan kecepatan 1000 rpm selama satu jam sehingga diperoleh suspensi nanopartikel hasil hidrolisis ikan bandeng. Diagram alir pembuatan sintesis nanopartikel hidrolisat ikan bandeng disajikan pada Gambar 3.2

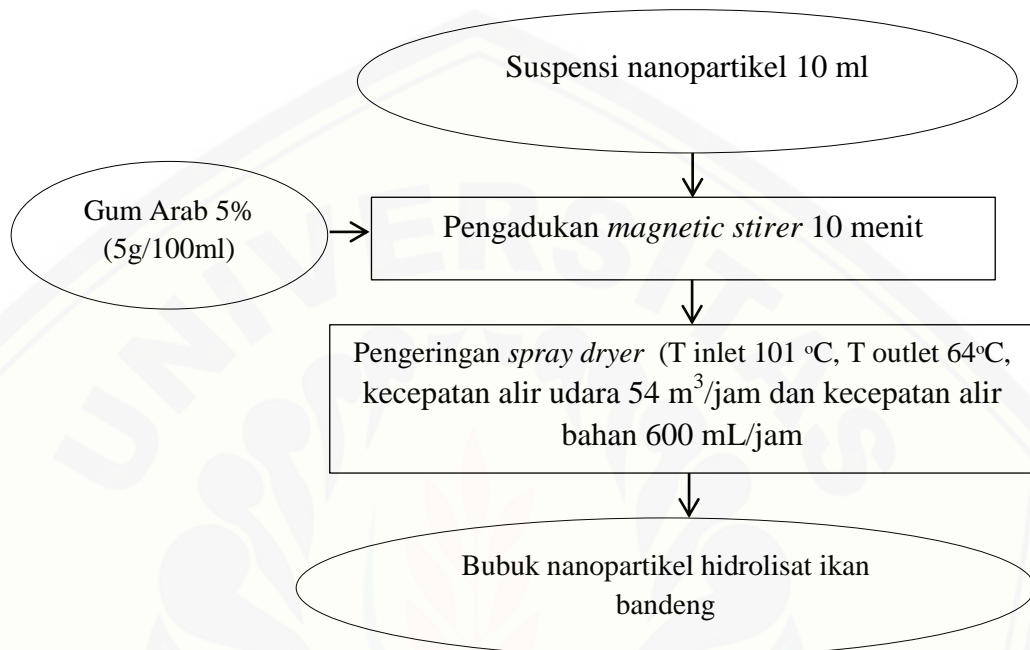


Gambar 3.2 Diagram alir sintesis nanopartikel hidrolisat ikan bandeng (Dounighi *et al*, 2012)

3.3.6 Pembuatan Bubuk Nanopartikel Hidrolisat Ikan Bandeng

Suspensi yang berisi hidrolisat ikan bandeng ditambahkan bahan pengisi berupa gum arab sebanyak 5% (5g/100ml) menggunakan *spray dryer*. Suspensi nanopartikel sebanyak 10 ml ditambah gum arab 5% (5g/100ml) dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit. Suspensi dikeringkan pada suhu

inlet 101°C, outlet 64°C, kecepatan alir udara 54 m³/jam dan kecepatan alir bahan 600 mL/jam dan diperoleh bubuk nanopartikel hidrolisat ikan bandeng. Diagram alir pembuatan nanopartikel hidrolisat ikan bandeng menggunakan *spray dryer* terdapat pada Gambar 3.3



Gambar 3.3 Diagram Alir Pembuatan Bubuk Nanopartikel

3.4 Parameter Analisis

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu:

1. pH (AOAC,1995)
2. Efisiensi Nanoenkapsulasi (Rao *et al.*, 2016)
3. Ukuran Nanopartikel dan Distribusi Partikel (Sharman *et al.*, 2012)
4. Zeta Potensial (Jonassen *et al.*, 2013)
5. FTIR (Hendayana 1994 diacu dalam Elizabeth 2011)
6. Aktivitas Antioksidan
 - a. DPPH (Brand *et al.*, 1995)
 - b. *Reducing Power* (Kanbargi *et al.*, 2017)
7. *Transmision Elektron Microscopy* (TEM) (Laili *et al.*, 2014)

3.5 Prosedur Analisis

3.5.1 pH (AOAC, 1995)

Penentuan pH mengacu pada metode AOAC (1995). pH meter adalah alat yang digunakan untuk mengukur pH yang distandarisasi oleh buffer pH 4 dan 7. Elektroda pH meter dibilas dengan larutan buffer atau akuades kemudian dikeringkan dengan kertas tisu. Elektroda dicelupkan pada larutan buffer, pH meter diatur pada pengukuran pH. pH meter didiamkan beberapa saat sampai jarum stabil. Tombol kalibrasi diputar sampai jarum pH menunjukkan angka yang sama dengan larutan buffer. Pengukuran dilakukan dengan cara mencelupkan elektroda pH meter ke dalam 10 ml suspensi nanopartikel hidrolisat ikan bandeng.

3.5.2 Efisiensi Nanoenkapsulasi (Rao *et al*, 2016)

Penentuan efisiensi enkapsulasi nanopartikel mengacu pada metode Rao *et al*. (2016), yang dihitung berdasarkan total kandungan protein pada hidrolisat ikan bandeng (*total protein content/TPC*) dikurangi dengan kandungan protein pada supernatan dari nanopartikel (*free protein content/FPC*) per total kandungan protein hidrolisat ikan bandeng. TPC dihitung dengan cara pengenceran hidrolisat ikan bandeng sebanyak 10 mg ke dalam 1 ml akuades kemudian dianalisis kandungan protein terlarut menggunakan metode *lowry*. Perhitungan FPC dilakukan dengan pengenceran nanopartikel hidrolisat ikan bandeng sebanyak 10 mg ke dalam 1 ml akuades dan dipisahkan dengan cara sentrifugasi kecepatan 4000 rpm selama 10 menit dan dianalisis menggunakan metode *lowry*.

Pengukuran kadar protein menggunakan *lowry* dilakukan dengan cara 250 μ L sampel, kemudian ditambah dengan 2 ml reagen *Lowry* B (50 ml 2% Na₂CO₃ + 0,1 N NaOH dengan 1 ml larutan 1% CuSO₄ + 1% *Sodium pottasium* ttrat dalam air). Suspensi dihomogenkan dan didiamkan selama 10 menit kemudian ditambah 250 μ L reagen *lowry* A (campuran *folin ciocalteau* dan aquadest 1:1). Suspensi dihomogenkan dan didiamkan selama 20 menit dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 550 nm. Nilai absorbansi yang

diperoleh kemudian dimasukkan dalam kurva standar BSA untuk memperoleh kandungan protein. Efisiensi enkapsulasi dapat dihitung dengan persamaan:

$$\text{Efisiensi Enkapsulasi} = \frac{TPC - FPC}{TPC} \times 100\%$$

3.5.3 Ukuran Nanopartikel dan Distribusi Partikel (Sharman *et al*, 2012)

Ukuran partikel diukur menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*). Prosedur pengukurannya yaitu 3 ml suspensi nanopartikel hidrolisat ikan bandeng dimasukkan dalam kuvet untuk analisa menggunakan PSA. Data yang diperoleh dikeluarkan oleh komputer berupa rerata ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel.

3.5.4 Zeta Potensial (Jonassen *et al*, 2013)

Sebanyak 3 ml suspensi nanopartikel diletakkan dalam *flow cell*, kemudian dikarakteristik sifat elektrokinetiknya pada suhu 25°C. Alat ukur zeta potensial yaitu *zeta analyzer* (Delsa Nano C, Beckman courter).

3.5.5 FTIR (Hendayana 1994 diacu dalam Elizabeth 2011)

Analisis gugus fungsi dilakukan menggunakan alat spektrofotometer *inframerah* untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam nanopartikel. Nanopartikel dikeringkan menggunakan *freeze dryer* hingga berbentuk serbuk. Sejumlah 1 mg serbuk nanopartikel ditambahkan dengan KBr hingga menjadi 50 mg untuk dibuat pelet dengan pencetak vakum. Pelet yang terbentuk dikenai sinar infra merah pada jangkauan bilangan gelombang 4000–400 cm^{-1} . Hasil FTIR berupa puncak yang terlihat dimonitor, puncak tersebut muncul sesuai dengan gugus fungsi yang khas pada sampel. Analisis FTIR dilakukan pada sampel nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng, natrium tripolifosfat dan kitosan sehingga diketahui adanya interaksi yang terjadi pada nanopartikel.

3.5.6 Aktivitas Antioksidan

1. DPPH (Brand *et al*, 1995)

Pengujian ini diawali dengan menyiapkan DPPH 0,1 mM dengan cara mengencerkan 0,00195 g DPPH ke dalam 50 ml etanol p.a. kemudian nanopartikel disiapkan dengan mengencerkan sampel 1000 ppm. Pengenceran dilakukan dengan cara melarutkan 0,01 g bubuk nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng dalam 10 ml etanol 70%. Langkah selanjutnya yaitu

mencampurkan 1,5 ml larutan nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng dengan 1,5 ml DPPH. Larutan tersebut divortek dan diamkan selama 30 menit pada suhu 37°C dalam keadaan gelap. Larutan diukur absorbansi menggunakan UV VIS spektrofotometer dengan panjang gelombang 515 nm. Uji DPPH pada blanko menggunakan etanol p.a sebagai pengganti nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng. Selama proses pengujian akan terjadi intraksi antara nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng dengan radikal bebas DPPH. Nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng yang memiliki sifat antioksidan akan mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga lebih stabil dan ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning. Cara menghitung aktivitas antioksidan sebagai berikut :

$$\text{DPPH \%} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ sampel}}{A \text{ blanko}} \times 100\%$$

2. *Reducing Power* (Kanbargi *et al*, 2017)

Sampel nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng diencerkan menjadi 1000 ppm (0,01g/10 ml). Nanopartikel hidrolisat protein ikan sebanyak 2 ml ditambahkan ke dalam 2 ml 0,2 mM *buffer fosfat* (pH 6,6) dan 2 ml *kalium ferricyanide* 1 %. Inkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit, selanjutnya ditambahkan 2 ml TCA 10%. Campuran yang telah terbentuk disentrifugasi dan didiamkan dalam kondisi gelap selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk kemudian di ambil 2 ml dan dicampurkan dengan 2 ml akuades serta 0,4 ml besi klorida 0,1 %. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 700 nm. Perbandingan uji *reducing power* yaitu asam askorbat dengan prosedur yang sama. Perlakuan awal yang diperlukan yaitu membuat larutan stok sebanyak 2000 ppm (0,02g/10 ml). Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan variasi 2, 4, 6, 8, 10, 12, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm.

3.5.7 *Transmission Electron Miscoscopy* (TEM) (Laili *et al*, 2014)

Analisa TEM bertujuan untuk mengetahui morfologi nanopartikel. Prosedur analisisnya yaitu nanopartikel diteteskan dalam grid tembaga dan dikeringkan pada suhu kamar, setelah kering lakukan *coating* menggunakan karbon untuk analisis dengan mikroskop transmisi elektron.

3.6 Analisis Data

Data hasil penelitian dihitung rata-rata dan standar deviasinya. Hasil yang diperoleh kemudian disajikan dalam bentuk diagram dan tabel. Semua hasil pengolahan data yang telah tersaji dalam bentuk diagram atau tabel dianalisis secara deskriptif.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Nilai pH nanopartikel berkisar antara 1-2. Pada perbandingan kitosan tripolifosfat 2:1 dengan hidrolisat 300 hingga 500 µg/ml memiliki efisiensi enkapsulasi rentang 87,10 hingga 89,49%, ukuran partikel 182,70 hingga 208,36 nm, nilai indek polidispersitas 0,354 hingga 0,564, zeta potensial 29,43 hingga 33,26 mv, aktivitas antioksidan metode DPPH berkisar 48,95 hingga 51,85%, metode *reducing power* 0,16 hingga 0,17. Perbandingan kitosan tripolifosfat 1:2 dengan hidrolisat 300 hingga 500 µg/ml memiliki efisiensi enkapsulasi sebesar 89,74 hingga 90,03%, ukuran partikel 13.370 hingga 15.090 mikro, indek polidispersitas 0,188 hingga 0,436, zeta potensial berkisar 2,48 hingga 5,33, antioksidan metode DPPH sebesar 42,72 hingga 52,27% dan metode *reducing power* sebesar 0,08 hingga 0,16. Gugus fungsi yang mengalami pergeseran pada semua perlakuan yaitu N-H, P=O, CH, OH dan -C-NO₂. Morfologi partikel 2:1(500) memiliki bentuk bulat sedangkan 1:2(300) berbentuk kurang bulat.
2. Formulasi nanopartikel terpilih yaitu 2:1(500) berdasarkan ukuran partikel 208,36 nm, nilai indek polidispersitas 0,564, efisiensi enkapsulasi 87,10%, zeta potensial 31,7 mv, aktivitas antioksidan DPPH 48,95%, *reducing power* sebesar 0,17 dan memiliki bentuk bulat atau sferis.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Perlu dilakukannya sintesis nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng menggunakan metode lain sehingga dapat membandingkan hasil yang diperoleh dan mendapat ukuran nanopartikel lebih kecil.
2. Perlu dilakukan pengujian stabilitas pada nanopartikel hidrolisat protein ikan bandeng.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiputra Y.T., J.L. Chuang, J.C. Gwo. 2012. Genetic diversity of Indonesia milkfish (*Chanos chanos*) using amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis. *African Journal of Biotechnology*. 11(13): 3055-3060.
- [AOAC Association of Official Analytical Chemyst]. 1995. Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemyst. Arlington, Virginia, Association of Official Analytical Chemyst. Inc., USA
- Andasari, S. D. 2017. Formulasi Nanopartikel Zerumbon dari Rimpang Lempuyung Gajah (*Zingiber zerumbet L*) Enkapsulasi dengan Kitosan dan Aktivitas Sitotoksiknya Terhadap Sel Kanker T47D. *Tesis*. Surakarta. Program Study Magister Farmasi Sekolah Pasca Sarjana Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Avadi, M. R., A. M. M. Sagedhi, N. M. Pour, S. Abedin, F. Aytabi, R. Dinarvand, M. R. Tehrari. 2010. Preparation and Characterization of Insulin Nanoparticles Using Chitosan and Arabic Gum with Ionic Gelation Method. *Nanomedicine*. 6: 58-63.
- Bhumkar, D.R., dan V. B. Pokharkar. 2006. Studies on Effect of pH on Crosslinking of Chitosan with Natrium Tripolyphosphate: A Technical Note. *AAPS PharmSeciTech* 7(2) Article 50
- Brand, W. W., M. E. Cuvelier, C. Berset. 1995. Use of a Free Radical Merhod to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebens. Wiss. U. Technol*. 28: 25-30.
- Buzea, C., R. Pacheco. 2007. Nanomaterial and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biophase*. 2(4): 17-71.
- Chabib, L., R. Viren, A. P. Dimas, I. Zullies, M. Ronny, I. Hilda. 2012. Formulasi Snedds (Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System) Gamavuton ; Uji Aktivitas Penurunan Sitokinin TNF- α . *Prosiding Penelitian Seminar Nasional Seri 6*. 200-2009
- Citra, A. 2018. Pengaruh Konsentrasi Kitosan-Tripolifosfat Terhadap Karakteristik Fisik Nanogel Asiklovir Yang Dibuat Dengan Metode Gelasi Ionik. *Skripsi*. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Couvreur, P., G. Barrat, E. Fattal, P. Legrand, C. Vauthier. 2002. Nanocapsule Technology: a Review. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 19: 99-134.

- Dounighi, M., R. Eskandaro, M.R. Avadi, H. Zolfagharian, A. M. M. Sadeghi, M. Razayat. 2012. Preparation and in vitro characterization of chitosan nanoparticles containing Mesobuthus eupeus scorpion venom as an antigen delivery system. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 18: 44-52.
- Dewantari, K.T., S. Yuliani, S. Yasni. 2013. Ekstraksi dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Sirih Merah (*Piper crocatum*). *Jurnal Pascapanen*.10(2): 58-65.
- Elizabeth, I. R. 2011. Biosintesis Nanopartikel Silika (SiO₂) dari Sekam oleh *Fusarium oxysporum*. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Elzoghby, A.O., M. W. Helmy, W. M. Samy, N. A. Elgindy. 2013. Novel Ionically Crosslinked Casein Nanoparticles for Flutamide Delivery: Formulation Characterization, and *In Vivo* Pharmacokinetics. *International Journal*.8: 1721-1732.
- Fatmawati, Hikmah, W. Puspitasari, R. Pujiarti, S. Ardianti, I. Fatimah. 2018. Pengaruh Berat CaO Dari Cangkang Keong Sawah (*Pilla ampullacea*) Pada Aktivasinya Sebagai Katalis Heterogen Pada Konversi Biodiesel Dari Minyak Bekatul, Eksakta: *Jurnal Imu-Ilmu MIPA*, 18(1), 64–73.
- García-Moreno, P. J., Batista, I., Pires, C., Bandarra, N. M., Espejo-Carpio, F. J., Guadix, A., & Guadix, E. M. (2014). Antioxidant Activity of Protein Hydrolysates Obtained From Discarded Mediterranean Fish Species. *Food Research International Journal*. Volume 65: 469–476.
- Gilbert, B., K. O. Reyn, A. C. Kristen, S. K. Christopher. 2009. The Effects Of Nanoparticle Aggregation Processes On Aggregate Structure And Metal Uptake. *Journal of Colloid and Interface Science*. 285–295.
- Goerge, M., T. E. Abrahan. 2006. Polyionic Hidrocoloids for the Intestinal Delivery of Protein drugs : *Alginat and Chitosan a review*. *J. Cont Rel*.
- Halliwel, B., J. M. C. Gutteridge, O. I. Aruoma. 1987. The Deoxyribose Method: A Simple Test Tube Assay For Determination Of Rate Constans For Reaction Of Hydroxyl Radicals. *Journal Anaalysisl Biochemical*. 165:215-219.
- Hasnaliza, H., M.Y. Maskat, A. W. M. Wan, S. Mamot. 2010. Effect of Enzyme Concentration, Temperature and Incubation Time on Nitrogen Content and Degree of Hydrolysis of Protein Precipate From Cockle (*Anadara*

- Granosa*) Meat Wash Water. *Internasional Food Reasearch journal*. Volume 12: 147-152.
- Hidayat, T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein Dari Ikan Selar Kuning (*Caranx Leptolepis*) Dengan Menggunakan Enzim Papain. *Skripsi*. Fakultas Perikanan Dan Kelautan IPB.
- Iswandana, R., E. Anwar, M. Jufri. 2013. Formulasi Nanopartikel Verapamil Hidroklorida dari Kitosan dan Natrium Tripolifosfat dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 6(4).
- Jaikumar, M., C. S. Kumar, R. S. Robin, P. Karthikeyan, A. Nagarjuna. 2013. Milkfish culture alternative revenue for Mandapam fisherfolk, palk bay. Southeast coast of India. *International Journal of Fisheries and Aquaculture Sciences*. 3(1):31-43
- Jarudilokkul, S., A. Tongthammachat, V. Boonamnuayvittaya. 2011. Preparation Of Chitosan Nanoparticles For Encapsulation And Release Of Protein. *Korean J. Chem. Eng.* 28(5): 1247-1251.
- Jonassen, H., A. Treves, A. L. Kjoniksen, G. Smistad, M. Hiorth. 2013. Preparation of Lonically Croos-Linked Pectin Nanoparticles in the Presence of Chlorides of Divalent and Monovalent Cations. *Biomacromolecules 2013*. (14) 3523-3531.
- Joseph, J. K. M. Son, R. Vittal, W. Lee, K. J. Kim. 2006. Quasi-Solid-State Dye Sensitized Solar Cells with Siloxane Poly(ethylene glycol) Hybrid Gel Electrolyte. *Semicond. Sci. Technol.* 21:697-701
- Kafshgari, M. H., M. Khorram, M. Khodadoast, S. Khavari. 2011. Reinforcement of Chitosan nanoparticles Obtained by anionic Cross-linking Process. *Journal Polimer*. 20(5): 445-456.
- Kalisapathy, K. 2002. Mikroenkapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and Potential application. *curr.Issues Intest Microbiol*.13: 39-48.
- Kumalaningsih, S. 2006. Antioksidan Alami: Penangkal Radikal Bebas, Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan. Surabaya: Trubus Agrisarana
- Laili, H. N., W. Lina, O.R.K.S. Lusia. 2014. Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan-Naringenin dengan Variasi Rasio Massa KitosanNatrium Tripolifosfat. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2(2).
- Lin., Y. J., Le. G.W., Wang . J. Y., Li . Y. X, Y. H. Shi ., Jin Sun. 2010. Antioxidative Peptides Derived From Enzyme Hydrolysis of Bone Collagen After Microwave Assisted Acid Pre-Treatment And Nitrogen

- Protection. *International Journal of Molecular Science*. Volume 11: 4297-4308.
- Liu, H., C. Gao. 2009. Preparation and properties of ionically cross-linked chitosan nanoparticles. *Polymers for Advanced Technologies*. 20: 613-619
- Lopez, L. T., E. L. S Carvalho, B. Seijo, J. L. V. Ortega, D. G. Bastos. 2005. Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles: electrokinetic and stability behavior. *J Colloid Interrf Sci* 238: 344-351. DOI: 10.1016/j.jcis.2004.08.186
- Lovelyn C., A. A. Attama. 2011. Current State of Nanoemulsion in Drug Delivery. *Journal of Biomaterial and Nanobiotechnology*. 215: 626-639.
- Mardliyanti, E., S. E. Muttaqien, D. R. Setyawati. 2012. Sintesis Nanopartikel Kitosan-Tripoly Phosphate Dengan Metode Gelasi Ionik: Pengaruh Konsentrasi Dan Rasio Volume Terhadap Karakteristik Partikel. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan 2012*. 90-93
- Martien, R., A. Adhyatmika, V. Farida, D. P. Sari. 2012. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Majalah Farmasetik*. Vol. 8(1).
- Masarudin, M. J., S. M. Cutts, B. J. Evison, D. R. Phillips, P. J. Pigram. 2015. Factors determining the stability, size distribution, and cellular accumulation of small, monodisperse chitosan nanoparticles as candidate vectors for anticancer drug delivery: application to the passive encapsulation of [14C]-doxorubicin. *Nanotechnology, Science and Applications*. Vol. 8. 67-80.
- Mi, F.L., S.S. Shyu., S.T. Lee, dan T. B.Wong. 1999. Kinetic Study of Chitosan Tripolyphosphate Complex Reaction and Acid-Resistive Properties of The Chitosan-Tripolyphosphate Gel Beads Prepared by In-Liquid Curing Method. *Journal of Polymer Scient.:* 37.1551-1564.
- Mohanraj Chen, Y. 2006. Nanoparticles- A Review. *Trop Journal Pharm Res*. 5 :561-573.
- Mukti, L. Krisna. 2018. Aktifitas Antioksidan Hasil Hidrolisis Protein Ikan Bandeng (*Chanos chanos sp*) Secara Enzimatis Menggunakan Protease dari Tanaman Biduri. *Skripsi*. Jember : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember
- Muliawan I, A. Zamroni, F.N. Priyatna. 2016. Kajian keberlanjutan pengelolaan budidaya ikan bandeng di Gresik. *Jurnal Kebijakan Sosek KP*. 6(1): 25-35.

- Napsah, R dan Wahyuningsih, I. 2014. Preparasi Nanopartikel Kitosan-TPP/ Ekstrak Etanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleriamacrocampa (Scheef) Boerl*) Dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi dan Komunitas*. 11. (1). 7-12.
- Nusantari E, A. Abdul, R. M. Harmain. 2016. Ikan bandeng tanpa duri (Chanos chanos) sebagai peluang bisnis masyarakat Desa Mootinelo, Kabupaten Gorontalo Utara, Provinsi Gorontalo. *Agrokreatif*. 3(1): 78-87.
- Panda, S. K. 2012. Assay guided comparison for enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities with special reference to medicinal plants. In El-Missiry, M.A. (ed.). Antioxidant Enzyme. *IntechOpen*. Rijeka.
- Pigott, G. M., B. W. Tucker. 1990. Utiliyt Fish Flrsh Effectively Maintaining Nutritional Qualities. *Seafood Effects Of Techno;Ogy And Nutrition*. New York (US). Marcel Decker Inc
- Prabaharan, M. 2008. Review Paper: Chitosan Derivaties as Promising Material for Controlled Drug Delivery : *Journal Biomater Appl*.23(1): 5-36.
- Prior R.L., X. Wu., dan K. Schaich. 2005. Standarized Method for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agritulcural and Food Chemistry*. Vol. (53): 4290-4302.
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea Striata*). *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Rachmawati, A. L., S. Silvia. 2018. Formulasi dan Karakterisasi Nanopartikel Sambung Silang Gom Xantan dan Gom Akasia Untuk Penghantar Insulin Oral. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(3), 159 - 168
- Ramadan, L. O. A. N., C. L. Radiman, D. Wahyuningrum, V. Suendo, L. O. Ahmad, S. Valiyaveetil. 2010. Deasetilasi Kitin Secara Bertahap dan Pengaruhnya Terhadap Derajat Deasetilasi Serta Massa Molekul Kitosan. *Jurnal Kimia Indonesia*. Vol 5(1), 2010,17-21.
- Rawat, M., D. Singh, S. Saraf. 2006. Nanocarries: Promising Vehicle for Bioactive Drugs. *Biol Pharm Bull*.29 (9):1790-1798.
- Reis, C. P., R. J. Neufeld, A. J. Riberio, F. Veiga. 2005. Nanoencapsulation I Mrthods For Preparation of Drug Loaded Polymeric Nanoparticless, *Nanomed Nanotechnol, Biol Med 2* : 8-21

- Sahoo, S. K., V. Labhasetwar. 2006. Nanotech Approaches to Drug Delivery and Imaging. *Drug Discov.* 8 (24):1112–1120.
- Sahu, A. K., T. Kumar, V. Jain. 2014. Formulation Optimization of Erythromycin Solid Lipid Nanocarrier Using Response Surface Methodology. *BioMed Res. I.*
- Samaranayaka, A.G.P., and Li-Chan, E.C.Y. 2011. Food-derived Peptidic Antioxidants: Are View of Their Production, Assessment, and Potential Applications. *Journal of Functional Foods.* Volume 3(4) : 229–254.
- Schuh, T., N. de Jonge. 2014. Liquid scanning transmission electron microscopy: Nanoscale imaging in micrometers-thick liquids. *Comptes Rendus Phys.* 15, 214–223.
- Sharma, O.P., dan T.K. Bhat. 2009. Analytical methods DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry* 113: 1202–1205.
- Sharma, R., M. Ahuja, H. Kaur. 2012. Thiolated Pectin Nanoparticles: Preparation, Characterization and Ex-vivo Cornel Permeation Study. *Carbohydrate Polymers*, Vol. 87(2): 1606-1610.
- Singh, A., D. Amar. 2011. Formulation and Evaluation of Nanoparticles containing Losartan Potassium. *International Journal of Pharmacy Research and Technology.* Pages 17-20.
- Siow, H.-L., & Gan, C.-Y. 2013. Extraction of Antioxidative and Antihypertensive Bioactive Peptides From Parkia Speciosa Seeds. *Journal of Food Chemistry.* Volume 141(4): 3435–3442.
- Soebjakto, S. 2018. Laporan Kerja 2017 Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. www.djpb.kkp.go.id
- Stoica, R., R. Somoghi., R.M. Ion. 2013. Preparation of Chitosan – Tripolyphosphate Nanoparticles for The Encapsulation of Polyphenols Extracted from Rose Hips. *Dig J Nanomater Bios.* 8(3): 955-963.
- Tatiya, A.U, Tapadiya, G.G., Kotecha, S. And Surana, S.J. 2011. Effect of Solvents on Total Phenolics, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Bridelia Retusa Spreng. Stem Bark. *Indian Journal of Natural Products and Resources.* Volume 2(4): 442-447.
- Taurina, W., R. Martien, H. Ismail. 2013. Preparasi Nanopartikel Gamavuton0 Menggunakan Kitosan Rantai Pendek dan Tripolifospat Sebagai Cross Linker. *Jurnal Ilmiah Farmasi.* 10. (2)

- Thassu, D., Y. Pathak, dan M. Deleers. 2007. Nanoparticulate Drug-Delivery Systems: an Overview. Di dalam: Thassu D, Pathak Y, Deleers M, editor. Nanoparticulates Drug Delivery Systems. New York: *Information healthcare*. Hlm. 1–31.
- Tiyaboonchai, W. 2003. Chitosan Nanoparticles A Promising System for Drug Delivery. *Nareusan University Journal*, Pages: 51-66.
- Tungtong, S., S. Okonogi, S. Chowwanapoonpohn, W. Phutdhawong, S. Yotsawimonwat. 2012. Solubility, Viscosity and Rheological Properties of Water-Soluble Chitosan Derivatives. Maejo International. *Journal of Science and Technology*, 315-322.
- Varshosaz, J., S. Karimzadeh. 2007. Development of crosslinked chitosan films for oral musocal delivery of lidocaene. *Resarch in Pharmaceutical Sciences*, 2, 43-52
- Vaughn, J. M., R.O. William. 2007. Nanoparticle Engineering. Dalam: Swarbick, James. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology Third Edition Volume I*. New York: Informa Healthcare USA, 2384-2398.
- Wahyono, D. 2010. Ciri Nanopartikel Kitosan dan Pengaruhnya pada Ukuran Partikel dan Efisien Penyalutan Ketopren. *Tesis*. Program Pasca Sarjana IPB: Bogor.
- Wijayanti, A.T. 2009. Kajian Penyaringan Dan Lama Penyimpanan Dalam Pembuatan Fish Peptone dari Ikan Selar Kuning (*Caranx leptolepis*). *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Wijayanti, Ima, Romadhan, dan Laras, Rianingsih. 2015. Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain Terhadap Kadar Proksimat dan Nilai Rendamen Hidrolisat Protein Ikan Bandeng. *Jurnal Pena Akuantika Volime*. Volume 12(1).
- Wijayanti, I., Romadhan, L. Rianingsih. 2016. Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Bandeng (*Chanos chanos Forsk*) dengan Konsentrasi Enzim Bromelin yang Berbeda. *Indonesian Journal Science and Tecnology*. Volume 11 (2) 129-133
- Winarti, Sri. 2010. Makanan Fungsional. Surabaya: Graha Ilmu
- Witono, Y., M. Fauzi, Y. Praptiningsih, W. S. Windrati, A. D. Masahid, I. S. Arifyani. 2017. Seasoning Process From Enzymatic Milkfish Protein Hydrolysis With Variation Of Concentration And Hydrolysis Time By Using Biduri (*Calotropis Gigantea*) Protease. *Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan (PATPI) Sematera Selatan*, Palembang, 28 November 2017.

- Wu, Y., W. Yang, C. Wang, J. Hu, S. Fu. 2005. Chitosan Nanoparticles as a Novel Delivery System for Ammonium Glycyrrhizinate. *International Journal Of Pharmaceutical*. 295: 235-245.
- Yu Shin, L., S. Kirana, M. L. Kurt, H. J. Jyuhn, F. Long, Y. Han, W. S. Hsing. (2008). Multi ion crosslinked Nnonaparticles with pH responsive Characteristic for Oral Delivery of Protein Drugs. *J. Cont Rel*. 123,141-149
- Yuwono, T., B. Annas, P. Renni. 2015. Pengembangan Preparasi Nanopartikel Thymoniquinone-Kitosan dengan Metode Kosolven Menggunakan Isopropil Alkohol. *Jurnal Pharmaciaana*. 5(2):121-1130.
- Zhang, M., E. K. H. Salje, M. A. Carpenter, J. Y. Wang, L. A. Groat, A. Beran, U. Bismayer. 2007. Temperature Dependence of IR absorption of hydrous/hidro species in Minerals Syntetic Material. *American Minerologist*.92:1502-1517

LAMPIRAN A. DATA HASIL ANALISIS**A1. Data pH Nanopartikel Hidrolisat Ikan Bandeng**

Tabel A.1.1 Data pH Nanopartikel Hidrolisat Protein Ikan Bandeng

Sampel	Ulangan sampel	Nilai pH			Rata rata	STDEV
		1	2	3		
21 (300)	1	1,7	1,7	1,6	1,66	0,05
21 (400)	1	1,5	1,5	1,5	1,5	0
21 (500)	1	1,5	1,5	1,5	1,5	0
12 (300)	1	2	1,9	1,8	1,93	0,05
12 (400)	1	1,8	1,8	1,8	1,8	0
12 (500)	1	1,9	1,8	1,8	1,83	0,05

A2. Data Efisiensi Nanokapsulasi Nanopartikel Hidrolisat Protein Bandeng

Tabel A.2.1 Data Efisiensi Nanoenkapsulasi Nanopartikel Hidrolisat Protein Ikan Bandeng

Perlakuan	Ulangan sampel	Absorbansi			Protein terlarut			Rata rata protein larut	Efisiensi Enkapsulasi			Rata rata EE Analisa	Rata rata EE perlakuan	STDEV	
		1	2	3	1	2	3		1	2	3				
HPI	1	2,51	2,59	2,5	13,11	13,53	13,06	13,23							
21 (300)	1	0,13	0,17	0,18	1,02	1,25	1,27	1,18	92,20	90,75	90,22	91,06	89,49779	2,707676	
21 (300)	2	0,29	0,28	0,27	1,83	1,81	1,76	1,80	86,03	86,58	86,49	86,37			
21 (300)	3	0,19	0,17	0,12	1,33	1,23	0,98	1,18	89,83	90,86	92,48	91,06			
21 (400)	1	0,21	0,20	0,21	1,42	1,40	1,46	1,43	89,14	89,62	88,78	89,18	88,68386	0,567983	
21 (400)	2	0,23	0,28	0,20	1,54	1,80	1,39	1,58	88,24	86,65	89,29	88,06			
21 (400)	3	0,21	0,21	0,23	1,43	1,47	1,53	1,48	89,02	89,13	88,24	88,80			
21 (500)	1	0,27	0,20	0,21	1,51	1,41	1,43	1,45	88,48	89,51	89,02	89,00	87,10808	1,867406	
21 (500)	2	0,32	0,31	0,3	1,99	1,97	1,88	1,94	84,79	85,41	85,59	85,27			
21 (500)	3	0,27	0,29	0,23	1,76	1,85	1,53	1,71	86,54	86,31	88,28	87,04			
12 (300)	1	0,24	0,25	0,24	1,61	1,63	1,58	1,61	87,66	87,93	87,85	87,81	90,03848	2,203599	
12 (300)	2	0,10	0,17	0,11	0,90	1,24	0,95	1,03	93,13	90,82	92,71	92,22			
12 (300)	3	0,18	0,19	0,18	1,31	1,33	1,29	1,31	89,99	90,11	90,07	90,07			
12 (400)	1	0,22	0,22	0,2	1,50	1,48	1,37	1,45	88,55	89,02	89,48	89,02	89,94004	0,751099	
12 (400)	2	0,16	0,17	0,19	1,17	1,26	1,33	1,26	91,03	90,63	89,75	90,47			
12 (400)	3	0,17	0,19	0,18	1,23	1,33	1,28	1,28	90,61	90,15	90,18	90,31			
12 (500)	1	0,16	0,15	0,12	1,19	1,16	0,99	1,11	90,92	91,39	92,40	91,57	89,74998	2,885111	
12 (500)	2	0,29	0,28	0,27	1,84	1,82	1,72	1,79	85,96	86,54	86,76	86,42			
12 (500)	3	0,17	0,16	0,13	1,23	1,21	1,02	1,15	90,57	91,05	92,13	91,25			

Contoh Perhitungan

$$\begin{aligned}
 \% \text{ EE} &= \frac{AC-AK}{AC} \times 100\% \\
 &= \frac{13,23-1,18}{13,23} \times 100\% \\
 &= 92,20 \%
 \end{aligned}$$

A3. UKURAN NANOPARTIKEL DAN DISTRIBUSI PARTIKEL

Tabel A.3.1 Data Ukuran Nanopartikel HPI Bandeng

Sampel	Ulangan			Rata rata	STDEV
	1	2	3		
2 1 (300)	190	186,2	185	187,06	2,61
2 1 (400)	183	182	183	182,7	0,51
2 1 (500)	212	205	208,2	208,36	3,65
1 2 (300)	13.700	14.400	17.170	15.090	1835,02
1 2 (400)	11.910	12.880	15.350	13.380	1773,66
1 2 (500)	13.540	12.300	14.270	13.370	995,94

Tabel A.3.2 Distribusi Partikel Nanopartikel HPI Bandeng

Sampel	Ulangan			Rata rata	STDEV
	1	2	3		
2 1 (300)	0,477	0,416	0,415	0,436	0,03
2 1 (400)	0,358	0,356	0,349	0,354	0,004
2 1 (500)	0,553	0,586	0,553	0,564	0,01
1 2 (300)	0,573	0,381	0,354	0,436	0,11
1 2 (400)	0,218	0,267	0,079	0,188	0,09
1 2 (500)	0,445	0,401	0,438	0,426	0,02

A4. ZETA POTENSIAL

Tabel A.4.1 Zeta Potensial Nanopartikel HPI Bandeng

Sampel	Ulangan			Rata rata	STDEV
	1	2	3		
2 1 (300)	33,3	33,5	33	33,26	0,25
2 1 (400)	29,3	29,2	29,8	29,43	0,32
2 1 (500)	32,7	30,8	31,6	31,7	0,95
1 2 (300)	4,61	4,43	4,56	4,53	0,09
1 2 (400)	5,82	5,04	5,15	5,33	0,42
1 2 (500)	2,68	2,51	2,51	2,48	0,20

A.5 AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Tabel A.5.1 Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Sample	Aktivitas Antioksidan (% RSA)			Rata-rata	STDEV
	1	2	3		
2:1(300)	39,32	54,61	61,61	51,85	11,40
2:1(400)	44,73	45,38	61,61	50,57	9,56
2:1(500)	47,33	36,96	62,54	48,95	12,86
1:2(300)	50,87	44,13	61,79	52,27	8,913
1:2(400)	45,72	20,48	61,96	42,72	20,90
1:2(500)	46,96	44,98	62,86	51,60	9,79

Contoh Perhitungan

Diketahui :

Absorbansi blanko ($\lambda = 515 \text{ nm}$) = 1,177

Absorbansi sampel ($\lambda = 515 \text{ nm}$) = 0,714

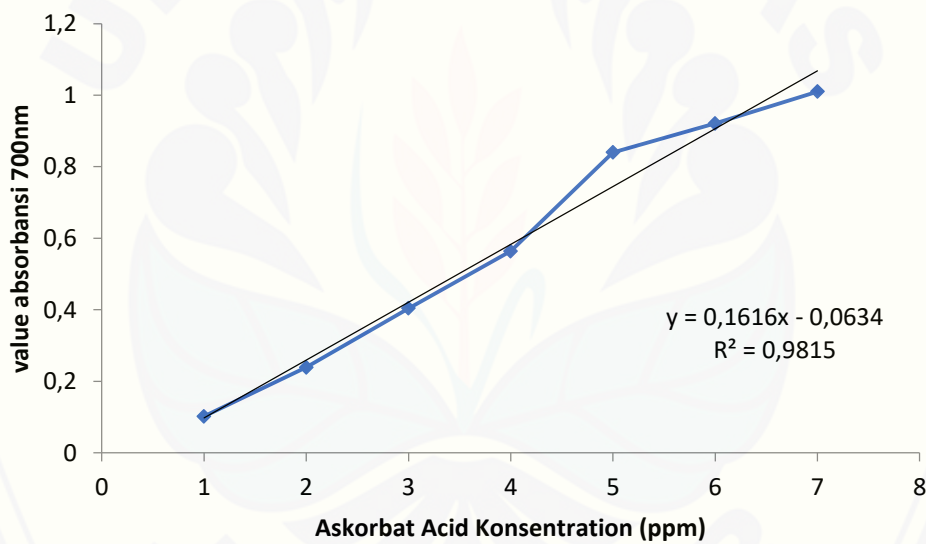
$$\begin{aligned} \% \text{ RSA} &= \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{1,177 - 0,714}{1,177} \times 100\% \\ &= 39,32 \% \end{aligned}$$

Tabel A.5.1 Metode Reducing Power Nanopartikel HPI Bandeng

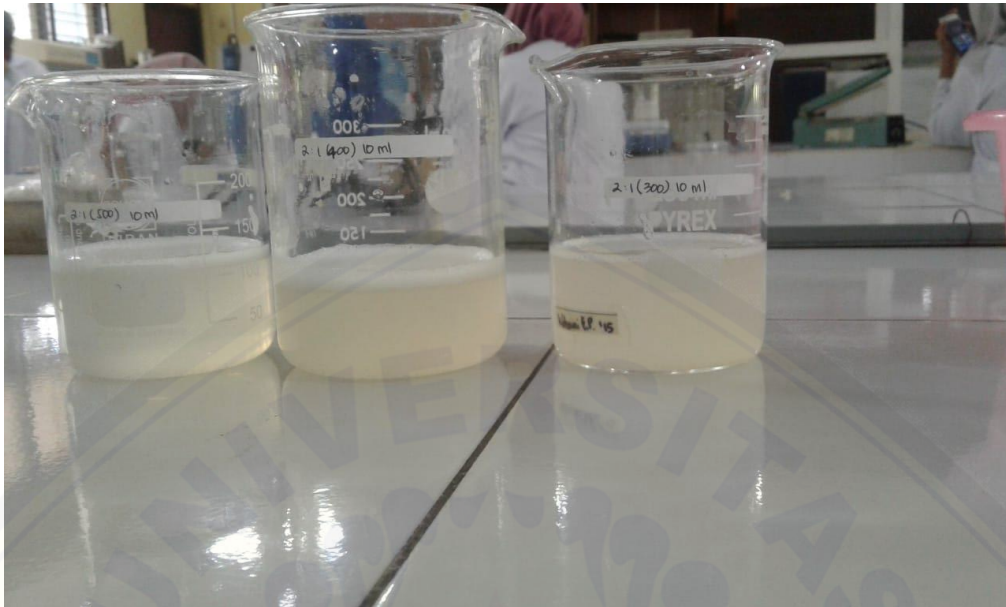
Sample	Panjang gelombang (700 nm)			Rata-rata	STDEV
	1	2	3		
2:1(300)	0,09	0,36	0,06	0,17	0,16
2:1(400)	0,09	0,34	0,06	0,16	0,15
2:1(500)	0,10	0,35	0,05	0,17	0,16
1:2(300)	0,08	0,12	0,06	0,08	0,02
1:2(400)	0,09	0,24	0,06	0,13	0,09
1:2(500)	0,08	0,34	0,07	0,16	0,15

Tabel A.5.3 Nilai Kurva Standart Asam Askorbat

Sampel (ppm)	nilai absorbansi			rata-rata
	1	2	3	
Blanco	0,106	0,100	0,100	0,102
10	0,233	0,240	0,244	0,239
20	0,412	0,400	0,400	0,404
40	0,555	0,560	0,578	0,564
60	0,856	0,862	0,804	0,840
80	0,970	0,929	0,940	0,921
100	1,003	1,030	1,010	1,014

Kurva standar asam askorbat

LAMPIRAN A. GAMBAR



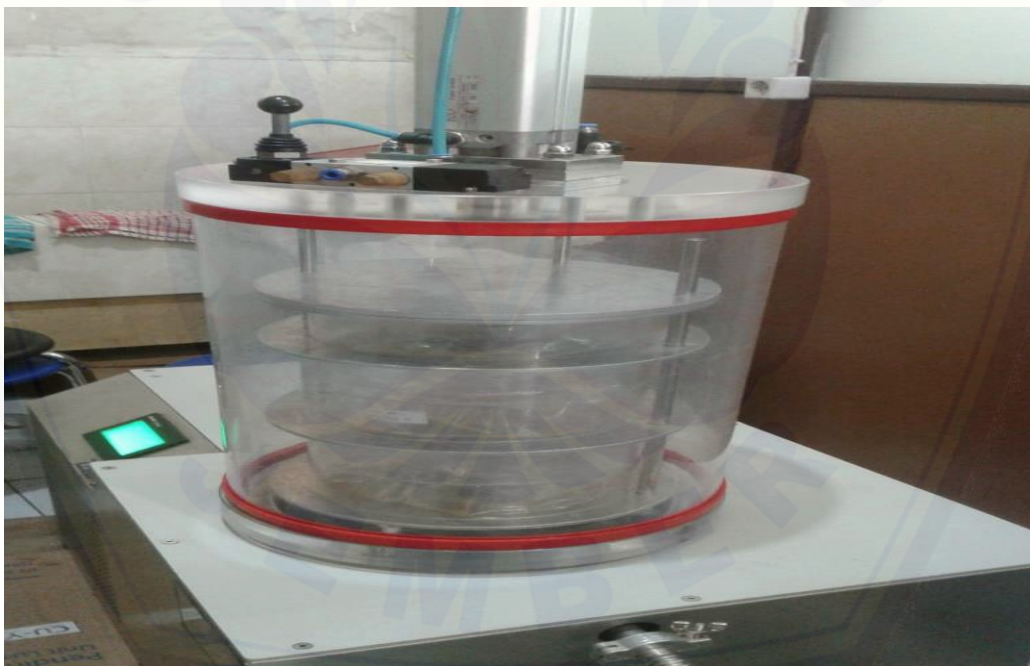
Suspensi nanopartikel HPI Bandeng



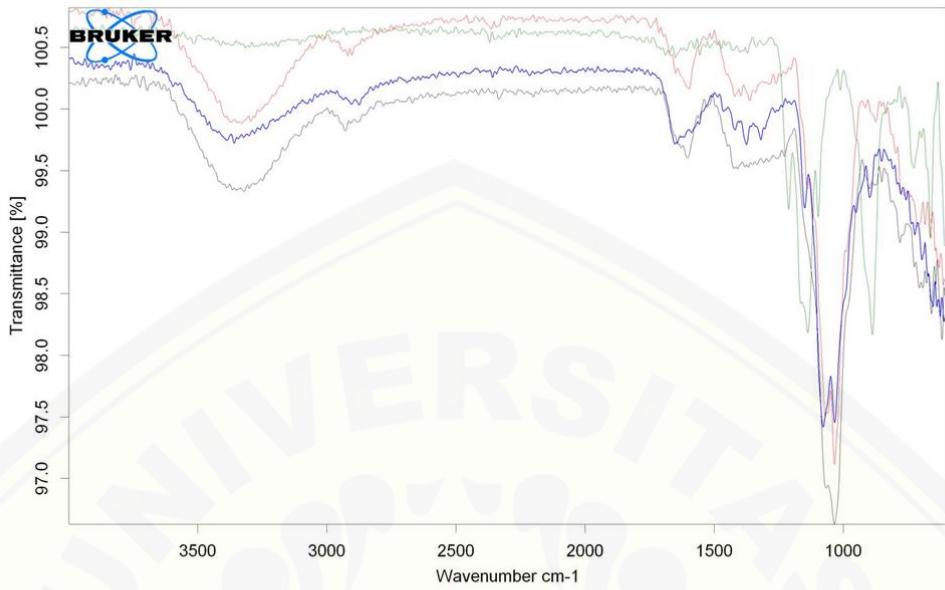
Pengujian antioksidan menggunakan metode reducing power



Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH



Pengeringan HPI Bandeng menggunakan *freeze dryer*

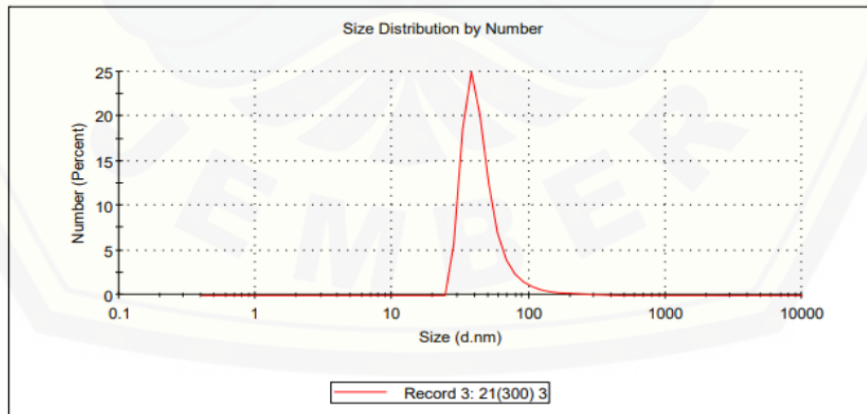


D:\Layanan Analisis\2019\Chitosan.0	Chitosan	Instrument type and / or accessory	12/20/2019
D:\Layanan Analisis\2019\Gom Arab.0	Gom Arab	Instrument type and / or accessory	12/20/2019
D:\Layanan Analisis\2019\STTP.0	STTP	Instrument type and / or accessory	12/20/2019
D:\Layanan Analisis\2019\C.0	C	Instrument type and / or accessory	12/5/2019

Page 1/1

Hasil pengujian FTIR

Pdl: 0.416 **Peak 2:** 0.000 0.0 0.000
Intercept: 0.958 **Peak 3:** 0.000 0.0 0.000
Result quality Good



Hasil pengujian ukuran nanopartikel menggunakan PSA