



**SINTESIS DAN KARAKTERISASI
NANOPARTIKEL KALSIMUM PEKTINAT MENGANDUNG
XILOOLIGOSAKARIDA DENGAN METODE GELASI IONIK**

SKRIPSI

Oleh
Delsy Ironie
NIM 171810301010

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS JEMBER

2023



**SINTESIS DAN KARAKTERISASI
NANOPARTIKEL KALSIMUM PEKTINAT MENGANDUNG
XILOOLIGOSAKARIDA DENGAN METODE GELASI IONIK**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
dalam menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh
Delsy Ironie
NIM 171810301010

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER

2023

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang selalu memberikan rahmat
2. Ayah dan ibu yang tercinta
3. Keluarga penulis yang senantiasa memberikan dukungan moril dan finansial
4. Ibu Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si, M.Si. dan Ibu Dr. apt. Budipratiwi Wisudyaningsih, S.Farm., M.Sc. selaku dosen pembimbing yang selalu berkenan memberikan saran kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penyusunan skripsi.
5. Guru-guruku sejak Taman Kanak-Kanak sampai dengan Perguruan Tinggi.
6. Almamater tercinta Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
7. Teman teman seperjuangan selama kuliah yaitu PLATINUM 2017.

MOTTO

“Success is not the end, failure is not fatal: what matters is the courage to continue.”

(Sukses bukanlah akhir, kegagalan tidaklah fatal: yang terpenting adalah keberanian untuk melanjutkan.) – **Winston Churchill**



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Delsy Ironie

NIM : 171810301010

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Kalsium Pektinat Mengandung Xilooligosakarida dengan Metode Gelasi Ionik” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan benarnya tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun dan bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 26 Juli 2023

Yang menyatakan,

Delsy Ironie

NIM. 171810301010

SKRIPSI

**SINTESIS DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL KALSIMUM
PEKTINAT MENGANDUNG XILOOLIGOSAKARIDA DENGAN
METODE GELASI IONIK**

Oleh
Delsy Ironie
NIM 171810301010

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. apt. Budipratiwi Wisudyaningsih, S.Farm., M.Sc.

PENGESAHAN

Skripsi dengan judul “Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Kalsium Pektinat Mengandung Xilooligosakarida dengan Metode Gelasi Ionik” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada :

Hari, tanggal :

Tempat :

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

Dr. A. A. I. Ratnadewi, S.Si., M.Si.
NIP. 197012251997022001

Dr. apt. B. Wisudyaningsih, S.Farm., M.Sc.
NIP. 198112272006042003

Anggota II,

Anggota III,

Drs. Zulfikar, Ph.D.
NIP. 196310121987021001

Tanti Haryati, S.Si., M.Si.
NIP. 198010292005012002

Mengesahkan,
Dekan FMIPA Universitas Jember

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D.
NIP 195910091986021001

RINGKASAN

Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Kalsium Pektinat Mengandung Xilooligosakarida dengan Metode Gelasi Ionik; Delsy Ironie, 171810301010; 2023: 78 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Masalah keamanan pangan yang sering ditemukan dalam produk pangan menginspirasi penelitian ini. Salah satu upaya untuk memperbaiki gangguan pencernaan yang disebabkan oleh pangan tercemar adalah dengan memberikan bahan aktif seperti xilooligosakarida (XOS) sebagai prebiotik. XOS dapat merangsang pertumbuhan dan aktivitas bakteri spesifik dalam usus. Efektivitas prebiotik dapat ditingkatkan dengan teknologi enkapsulasi nanopartikel. Dalam penelitian ini, dilakukan enkapsulasi XOS menggunakan nanopartikel pektin-kalsium dengan penambahan Tween 80. Nanopartikel pektin-kalsium akan disintesis dengan variasi pH untuk mempelajari karakteristik fisiknya. Efisiensi enkapsulasi XOS dan kestabilan nanopartikel dalam pH saluran pencernaan juga akan dievaluasi. Rumusan masalah meliputi karakteristik fisik nanopartikel, efisiensi enkapsulasi XOS, dan kestabilan nanopartikel dalam pH saluran pencernaan secara *in-vitro*.

Dalam penelitian ini, dilakukan pembuatan nanopartikel pektin-kalsium-tween 80-xilooligosakarida dengan menggunakan metode gelasi ionik dengan menambahkan CaCl_2 dan Tween 80 pada larutan pektin. Nanopartikel tersebut kemudian diuji ukurannya menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) dan sifat elektrokinetiknya diukur menggunakan *zeta analyzer*. Selanjutnya, dilakukan scanning panjang gelombang untuk menentukan panjang gelombang maksimum xilooligosakarida dan penentuan konsentrasi xilooligosakarida dari kadar gula pereduksinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. menentukan efisiensi penyerapan xilooligosakarida dan dilakukan penentuan persentase pelepasan xilooligosakarida secara *in vitro* yang diinkubasi pada larutan buffer pH simulasi yang telah disesuaikan pada saluran pencernaan tubuh.

Hasil karakterisasi menggunakan metode PSA menunjukkan ukuran nanopartikel pada sampel dengan pH 7 dan pH 8 masing-masing adalah 47,27 nm dan 46,27 nm. Selain itu, uji menggunakan *Zeta Analyzer* mengungkapkan muatan partikel pada sampel dengan pH 7 dan pH 8 berturut-turut adalah -30,83 mV dan -29,20 mV. Hasil dengan muatan negatif yang tinggi menunjukkan kedua sampel yang disintesis memiliki kestabilan yang baik. Efisiensi enkapsulasi xilooligosakarida yang paling baik yaitu pada sampel pH 7 dengan efisiensi mencapai 95,50%. Efisiensi tinggi dalam enkapsulasi XOS oleh nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 dapat dicapai disebabkan interaksi ikatan hidrogen antara pektin dan XOS. Pelepasan xilooligosakarida pada larutan buffer simulasi pH 2 dan 5,6 secara *in-vitro* untuk kedua sampel tidak lebih dari 2%. Pelepasan xilooligosakarida pada larutan simulasi pH 7,4 secara *in-vitro* pada sampel pH 7 dan 8 sebesar 13,489% dan 20,188% pada jam ke-8. Hasil ini menunjukkan bahwa pelepasan xilooligosakarida pada simulasi pH kolon tidak terjadi secara maksimal.

Penelitian ini berhasil mensintesis nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 menggunakan metode gelas ionik dengan ukuran dan muatan partikel yang stabil. Nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 menghasilkan tingkat efisiensi enkapsulasi yang tinggi dalam mengenkapsulasi xilooligosakarida terutama pada variasi pH 7 namun, pelepasan xilooligosakarida pada kondisi simulasi pH kolon masih belum mencapai tingkat maksimal untuk setiap sampel nanopartikel pektin.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT. Yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Kestabilan Alginat-Pektin Boraks sebagai Enkapsulan Xilooligoskarida dari Ampas Singkong pada pH Sistem Pencernaan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

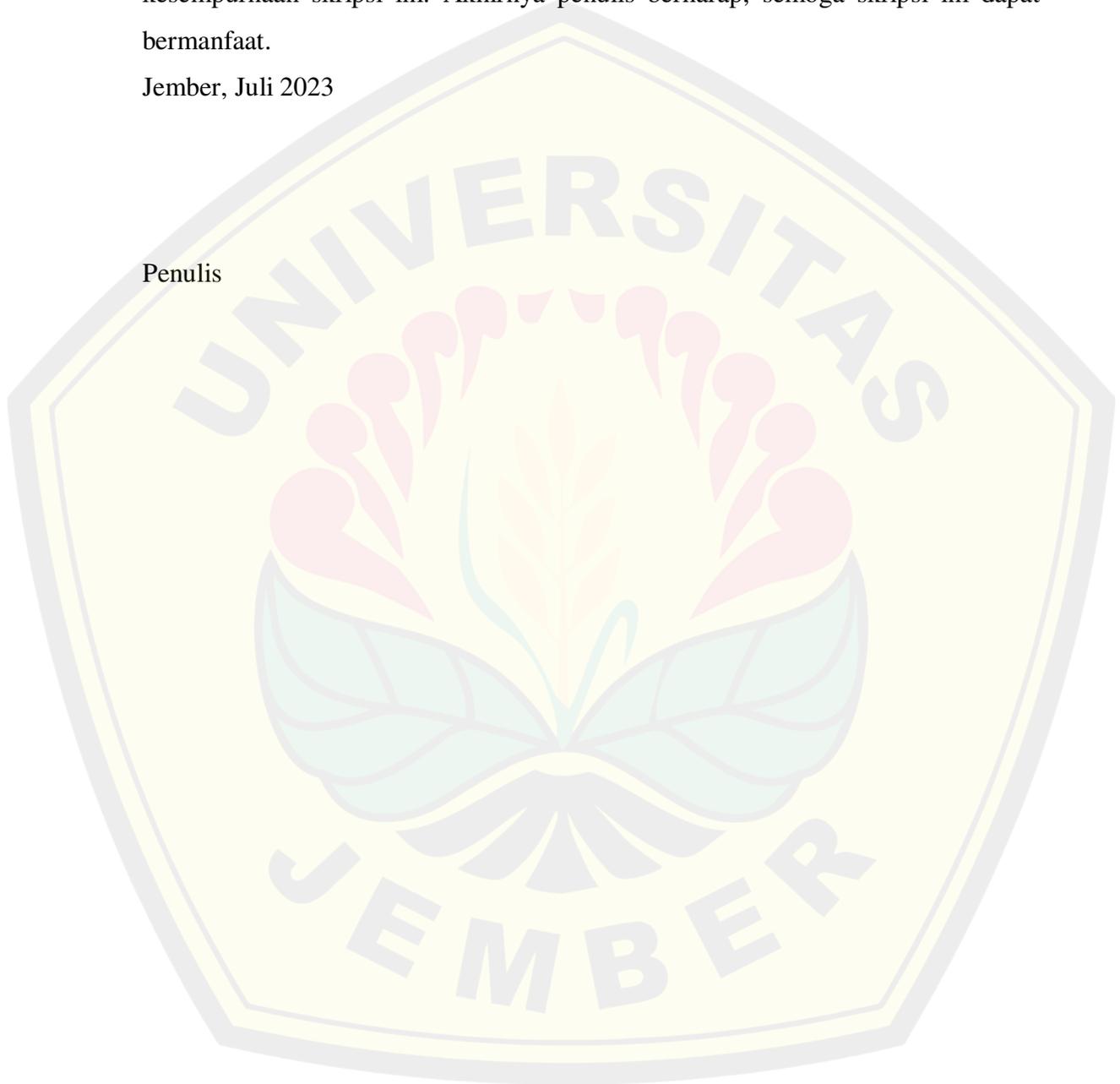
1. Ibu Dr. A. A. I. Ratnadewi, S.Si., M.Si. selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
2. Ibu Dr. A. A. I. Ratnadewi, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan ibu Dr. apt. Budipratiwi Wisudyaningsih, S.Farm., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan perhatian dalam penelitian serta penulisan skripsi ini.
3. Bapak Drs. Zulfikar, Ph.D., selaku Dosen Penguji Utama dan Tanti Haryati, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktunya guna menguji, serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.
4. drh. Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa.
5. Bapak/Ibu dosen FMIPA khususnya dosen Jurusan Kimia Universitas Jember yang telah memberikan ilmu pengetahuan.
6. Teman-teman seperjuangan dilaboratorium CDAST dan laboratorium Biokimia jurusan Kimia FMIPA, terima kasih atas ilmu dan pengalamannya selama menjalani penelitian.
7. Teman-teman PLATINUM angkatan 2017 terimakasih sudah menemani, mendukung dan membantu sejak menjadi mahasiswa.

8. Teman-teman Kos *Executive 66*, terimakasih sudah menemani begadang selama proses penulisan naskah ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juli 2023

Penulis



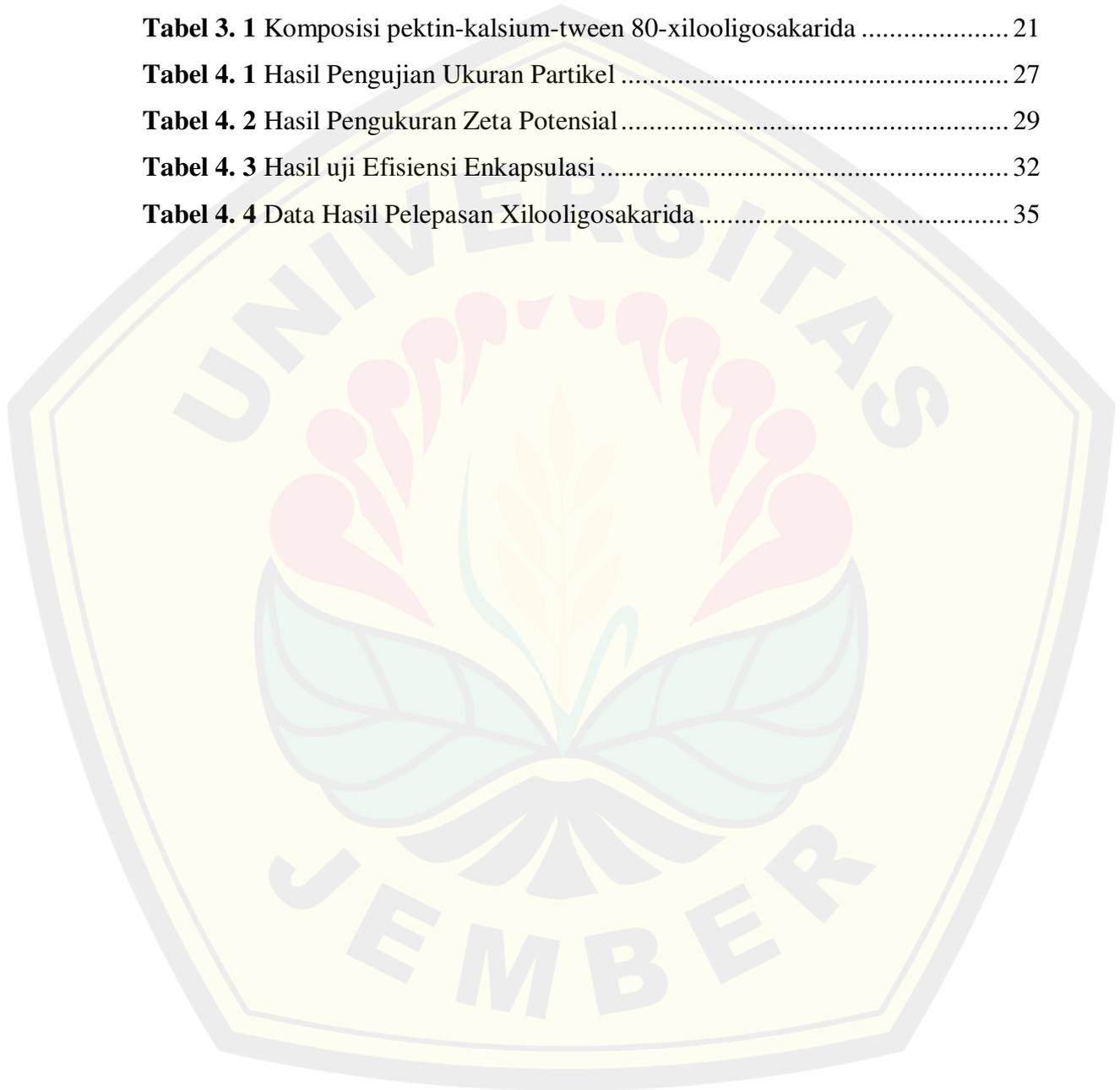
DAFTAR ISI

HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Batasan Masalah	4
1.5 Manfaat	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Pektin	6
2.2 Nanopartikel sebagai Sistem Penghantar Obat	8
2.3 Prebiotik	11
2.4 Xilooligosakarida	12
2.5 Gelasi Ionik	13
2.6 Sifat dan Karakterisasi Fisik Nanopartikel Sambung Silang	15
2.6.1 Persen Efisiensi Penjerapan	15
2.6.2 Ukuran Partikel	15
2.6.3 Potensial Zeta	16
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan	19

3.2.1 Alat	19
3.2.2 Bahan	19
3.3 Diagram Percobaan	20
3.3.1 Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel	20
3.4 Prosedur Penelitian	21
3.4.1 Pembuatan Nanopartikel pektin-kalsium Tween 80 konsentrasi 1% (v/v)	21
3.4.2 Penetapan Ukuran Nanopartikel pektin-kalsium-tween 80-xilooligosakarida	21
3.4.3 Penetapan Potensial Zeta.....	21
3.4.4 Scanning Panjang Gelombang Xilooligosakarida (X ₃)	22
3.4.5 Penentuan Konsentrasi Xilooligosakarida (X ₃)	22
3.4.6 Pengukuran Efisiensi Penjerapan (%) Xilooligosakarida (X ₃)	22
3.4.7 Penentuan % Pelepasan Xilooligosakarida (X ₃) secara <i>In Vitro</i>	23
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Hasil Sintesis Nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 Mengandung Xilooligosakarida.....	24
4.2 Karakterisasi Fisik Nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 Mengandung Xilooligosakarida	26
4.2.1 Penentuan Ukuran Nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 Mengandung Xilooligosakarida	26
4.2.2 Penentuan Zeta Potensial Nanopartikel pektin-kalsium- tween 80 Mengandung Xilooligosakarida	28
4.3 Efisiensi Enkapsulasi Xilooligosakarida	31
4.4 Pelepasan Xilooligosakarida secara <i>In-Vitro</i>	34
BAB 5. PENUTUP	38
5.1 Kesimpulan	38
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	46
LAMPIRAN 1.....	46
LAMPIRAN 2.....	48
LAMPIRAN 3.....	50
LAMPIRAN 4.....	53
LAMPIRAN 5.....	56

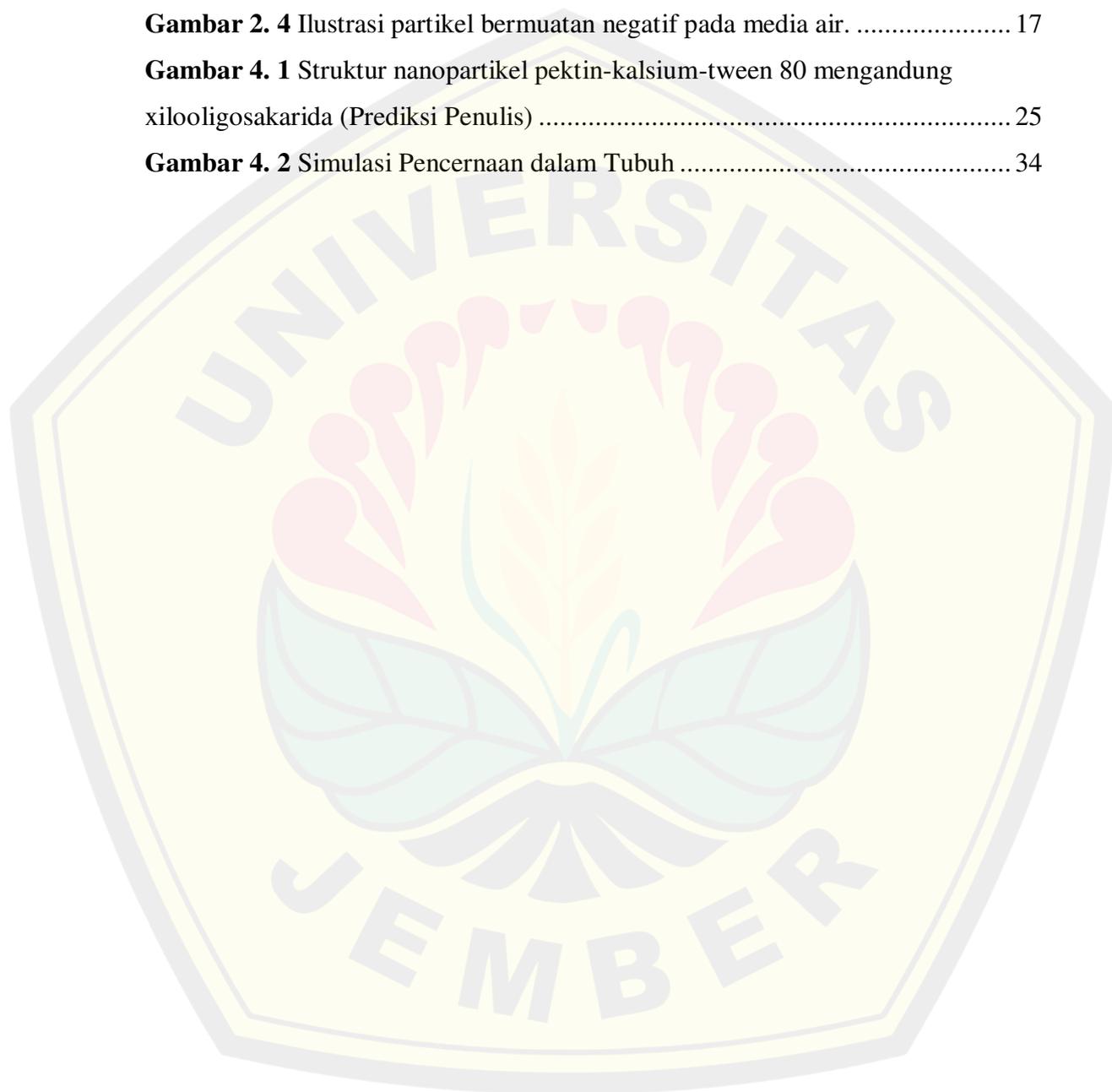
DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Prebiotik oligosakarida, komposisi dan metode produksi	12
Tabel 2. 2 Jenis xilooligosakarida berdasarkan jumlah monomernya	12
Tabel 3. 1 Komposisi pektin-kalsium-tween 80-xilooligosakarida	21
Tabel 4. 1 Hasil Pengujian Ukuran Partikel	27
Tabel 4. 2 Hasil Pengukuran Zeta Potensial	29
Tabel 4. 3 Hasil uji Efisiensi Enkapsulasi	32
Tabel 4. 4 Data Hasil Pelepasan Xilooligosakarida	35



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur Kimia Pektin.....	6
Gambar 2. 2 Mekanisme Gelasi HM-Pektin dengan Crosslinker	7
Gambar 2. 3 Struktur dasar xilooligosakarida	13
Gambar 2. 4 Ilustrasi partikel bermuatan negatif pada media air.	17
Gambar 4. 1 Struktur nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 mengandung xilooligosakarida (Prediksi Penulis)	25
Gambar 4. 2 Simulasi Pencernaan dalam Tubuh	34



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Masalah keamanan pangan masih banyak ditemukan pada produk pangan yang beredar di masyarakat, seperti pangan yang mengandung cemaran biologis, pangan yang mengandung bahan kimia sintetis yang berbahaya, dan cemaran fisik atau benda asing. Konsumsi produk pangan yang tercemar dengan waktu yang lama dapat menyebabkan rusaknya pertumbuhan dan aktivitas bakteri dalam usus sehingga proses pencernaan akan terganggu. Upaya dalam memperbaiki proses pencernaan yang terganggu dapat dilakukan pemberian suatu bahan aktif seperti xilooligosakarida (XOS) sebagai prebiotik untuk memperbaiki pertumbuhan dan aktivitas spesifik bakteri dalam usus khususnya pada kolon.

Prebiotik adalah bahan hasil fermentasi selektif yang dapat mempengaruhi perubahan secara spesifik pada komposisi serta aktivitas terhadap sejumlah mikroorganisme yang ada pada kolon (Antarini, 2011). Prebiotik dapat merangsang proses pertumbuhan dan aktivitas sejumlah bakteri didalam kolon. Banyak macam prebiotik yang sering dipelajari seperti fruktooligosakarida (FOS), galaktooligosakarida (GOS), inulin, isomaltooligosakarida (IMO), laktulosa, dan xilooligosakarida (XOS)(Gibson *et al.*, 2004).

Prebiotik xilooligosakarida (XOS) merupakan oligomer glukosa yang tersusun dari monomer-monomer xilosa yang dihubungkan oleh ikatan β -(1 \rightarrow 4) dengan berat molekul sebesar 282-810 (X_2 dan X_6)(Gupta, 2016). Xilooligosakarida dapat diperoleh dengan proses hidrolisis endo- β -1,4-D xilanase terhadap ampas dan kulit singkong. Xilooligosakarida merupakan kelompok oligosakarida yang banyak diaplikasikan dalam bidang kesehatan, teknologi, dan bermacam penelitian di bidang kesehatan (Gibson *et al.*, 2004). Fermentasi xilooligosakarida oleh mikroorganisme di dalam kolon dapat menghasilkan asam lemak rantai pendek yang memberikan dampak baik bagi tubuh seperti, mengurangi kanker usus, melindungi usus terhadap bakteri patogen, radang usus, serta penyakit Chrons (Gibson *et al.*, 2004).

Manfaat prebiotik yang diberikan akan lebih efektif apabila ditargetkan secara selektif dan spesifik di dalam kolon. Hal ini diperlukan teknologi yang dapat meningkatkan kestabilan xilooligosakarida agar tidak terdegradasi ketika melewati sistem pencernaan sebelumnya. Proses dalam meningkatkan kestabilan xilooligosakarida ini dapat dilakukan teknologi enkapsulasi berbasis nanopartikel.

Nanopartikel merupakan bagian studi *nanomedicine* dalam sistem penghantaran obat. Nanopartikel dapat bertindak sebagai sistem penghantaran obat dengan menjerap molekul obat dalam struktur interiornya, mengadsorpsi molekul obat di permukaan, atau terikat secara kovalen dengan suatu bahan *precursor* (Tiwari *et al.*, 2012). Teknologi nanopartikel menawarkan keuntungan besar di antaranya meningkatkan solubilisasi bahan aktif obat hidrofobik, meningkatkan bioavailabilitas, memperbaiki farmakokinetik bahan aktif obat, melindungi bahan aktif obat dari degradasi fisik, kimia atau biologis (Martien *et al.*, 2012) dan meningkatkan waktu retensi sediaan (Petros dan Desimone, 2010).

Saat ini sedang berkembang pembuatan nanopartikel dari polisakarida alam. Polisakarida yang terdapat di alam seperti pektin yang dapat diaplikasikan dalam sistem penghantaran obat sebagai nanopartikel (Racoviță *et al.*, 2009). Hal ini karena, sifat mukoadhesif pektin membuat nanopartikel berbasis polisakarida ini menjadi sistem penghantaran obat yang menjanjikan (Jonassen *et al.*, 2013). Pektin memiliki kelebihan diantaranya toksisitas rendah, biokompatibel, biodegradable (Balmayor *et al.*, 2011) dan biaya produksi yang rendah sehingga membuat pektin menjadi unsur penting dalam produk farmasi (Das *et al.*, 2010). Perbandingan dengan nanopartikel berbasis polisakarida lain, masih sedikit studi literatur mengenai nanopartikel pektin.

Pembuatan nanopartikel pektin didasarkan atas kemampuan pektin untuk membentuk gel dengan penyambung silang berupa kation divalen, umumnya kalsium dan zink. Gel terbentuk karena adanya ikatan ionik antara gugus karboksil yang bermuatan negatif dari pektin dengan ion divalen (Racoviță *et al.*, 2009). Kalsium klorida adalah penyambung silang yang biasa digunakan untuk preparasi nanopartikel pektin. Mekanisme sambung silang biasanya digambarkan oleh model *egg-box*, di mana Ca^{2+} yang bermuatan positif berinteraksi dengan dua

gugus asam yang terpisah pada rantai polimer secara paralel (Mardiyati *et al.*, 2012).

Berdasarkan pernyataan tersebut, maka dilakukan enkapsulasi xilooligosakarida berbasis polisakarida dengan menggunakan pektin-kalsium dan penambahan Tween 80. Enkapsulasi yang dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk menjerap xilooligosakarida sehingga distribusi dan pelepasan dapat terjadi pada target kolon. Penggunaan Tween 80 pada pembuatan nanopartikel pektin-kalsium dengan metode gelasi ionik merupakan salah satu solusi yang dapat digunakan dalam menstabilkan emulsi partikel dalam larutan dengan cara mencegah timbulnya penggumpalan. Hal lain dalam penggunaan Tween 80 sebagai stabilisator partikel juga dapat memperkecil ukuran partikel (Firdaus, 2016).

Nanopartikel pektin-kalsium akan disintesis yang diadopsi dari penelitian yang dilakukan oleh Krivorotova *et al.*, (2016) dengan menggunakan variasi pH, yaitu pH 4, 7, dan 8. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan karakteristik fisik nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 melalui variasi pH asam, netral, dan basa. Pemilihan variasi pH ini didasarkan pada pertimbangan penting dalam sintesis nanopartikel. pH dapat mempengaruhi struktur partikel, ukuran, distribusi, dan stabilitas dalam sintesis nanopartikel. Dengan memvariasikan pH dari asam, netral, hingga basa, penelitian ini dapat mengungkap pengaruh perubahan pH terhadap karakteristik fisik nanopartikel yang dihasilkan. pH asam (pH 4) dipilih untuk mewakili kondisi asam yang ekstrem. pH netral (pH 7) digunakan sebagai acuan karena merupakan pH netral yang mendekati kondisi lingkungan biasa. Selanjutnya, pH basa (pH 8) dipilih untuk menggali kondisi basa dan memahami perubahan karakteristik fisik nanopartikel ketika pH ditingkatkan.

Produk sintesis yang dikaji yaitu ukuran partikel, zeta potensial, efisiensi xilooligosakarida yang dienkapsulasi, kestabilan fisik enkapsulan terhadap pH asam dan pH basa yang disesuaikan pada kondisi pH saluran pencernaan dengan sistem *in vitro*. Kestabilan enkapsulan terhadap pH dilakukan dengan perendaman sampel kedalam larutan buffer KCl pH 2, buffer fosfat pH 5,6 dan 7,4. Parameter

efisiensi dan kestabilan enkapsulasi dapat ditentukan dengan mengetahui kadar gula pereduksi dari xilooligosakarida. Kadar gula pereduksi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metode Miller menggunakan reagen DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat). Formulasi komposisi nanopartikel pektin-kalsium-tween 80-xilooligosakarida dilakukan secara eksperimental.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah berdasarkan latar belakang diatas yaitu:

- 1.2.1 Bagaimana karakteristik fisik nanopartikel pektin-kalsium-tween 80?
- 1.2.2 Bagaimana efisiensi enkapsulasi prebiotik xilooligosakarida dalam enkapsulan pektin-kalsium-tween 80 ditinjau dari kadar gula pereduksi xilooligosakarida (X_3)?
- 1.2.3 Bagaimana kestabilan enkapsulan pektin-kalsium secara in vitro dalam berbagai pH saluran pencernaan ditinjau berdasarkan kadar gula pereduksi xilooligosakarida (X_3)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini antara lain:

- 1.3.1 Mengetahui karakteristik fisik nanopartikel pektin-kalsium-tween 80
- 1.3.2 Untuk mengetahui efisiensi enkapsulasi prebiotik xilooligosakarida dalam enkapsulan pektin-kalsium-tween 80 ditinjau dari kadar gula pereduksi xilooligosakarida (X_3)
- 1.3.3 Untuk mengetahui kestabilan enkapsulan pektin-kalsium secara in vitro dalam berbagai pH saluran pencernaan ditinjau berdasarkan kadar gula pereduksi xilooligosakarida (X_3).

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

- 1.4.1 Xilooligosakarida (X_3) yang digunakan berasal dari komersil
- 1.4.2 Variabel karakteristik fisik nanopartikel yang akan dilakukan yaitu ukuran partikel dan zeta potensial.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini diharapkan menjadi informasi mengenai potensi pektin dalam bidang farmasetik terutama dalam sistem penghantaran obat berbasis nanopartikel, enkapsulasi xilooligosakarida dalam pektin-kalsium-tween 80 dan memberikan informasi efisiensi enkapsulasi dan kestabilan nanopartikel sebagai peluang terhadap penelitian lebih lanjut mengenai formulasi sediaan berbasis nanopartikel pektin sebagai pengantar obat secara oral.

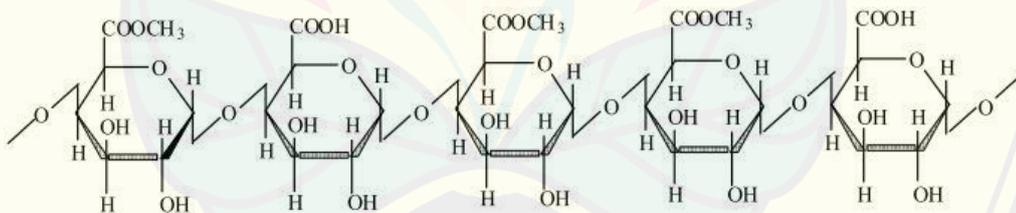


BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pektin

Pektin adalah polisakarida anionik alami yang diperoleh melalui ekstraksi kulit jeruk dan apel menggunakan asam mineral encer panas pada $\text{pH} \pm 2$ (Jung *et al.*, 2013). Pektin adalah polisakarida alami yang sering digunakan sebagai agen pengental dan pembentuk gel dalam industri makanan. Sifat hidrofilik pektin memungkinkannya digunakan sebagai matriks hidrofilik dalam sistem pengiriman obat oral dan formulasi pelepasan terkontrol (Bhatia *et al.*, 2008).

Pektin memiliki struktur yang sangat sulit ditetapkan karena dapat mengalami perubahan selama proses isolasi, penyimpanan, dan pengolahan dari bahan tanaman (Chakraborty *et al.*, 2012). Komposisi utama pektin terdiri dari unit asam D-galakturonik (GalA) yang membentuk rantai dengan ikatan α -(1,4) glikosidik. Asam uronat ini memiliki kelompok gugus karboksil seperti metil ester dan gugus lainnya yang dapat bereaksi dengan amonia untuk menghasilkan gugus karboksiamida. Terdapat ratusan hingga ribuan sakarida dengan konfigurasi rantai yang berbeda, dan berat molekulnya sekitar lima puluh ribu Dalton (Shukla *et al.*, 2011).

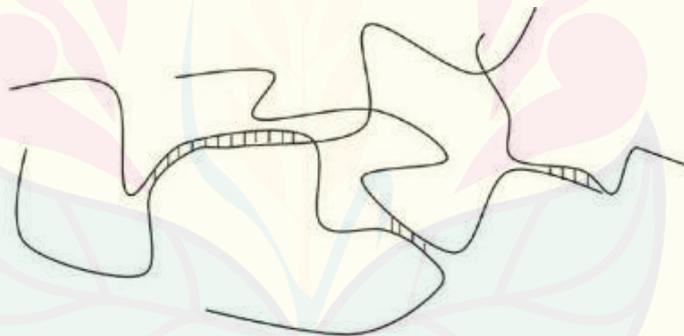


Gambar 2. 1 Struktur Kimia Pektin
(Sumber : Racoviță *et al.*, 2009)

Rantai asam poligalakturonat dapat sebagian teresterifikasi dengan gugus metil, dan gugus asam bebas dapat dinetralkan dengan ion natrium, kalium, atau amonium. Rasio gugus GalA yang teresterifikasi terhadap total gugus GalA dikenal sebagai DE (derajat esterifikasi). Pektin dapat dibagi menjadi dua kelas berdasarkan DE, yaitu *high methoxyl* (HM) pektin dan *low methoxyl* (LM) pektin yang dapat terdemetilasi secara konvensional atau dimodifikasi dengan amidasi menjadi *amidated low methoxyl* (AM) pektin. Biasanya, nilai DE untuk HM-

pektin komersial berkisar antara 60-75%, sedangkan LM-pektin berkisar antara 20-40%. Meskipun kedua kelompok pektin dapat membentuk gel, mekanisme pembentukan gel dari keduanya berbeda (Iijima *et al.*, 2000).

HM-pektin membentuk gel pada pH rendah (<4.0) dan dalam kehadiran sejumlah besar padatan terlarut ($>55\%$), yang biasanya berupa sukrosa. Gel HM-pektin stabil karena adanya ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik yang secara individual lemah, tetapi kuat pada zona sambungan kumulatif. Sebaliknya, LM-pektin membentuk jaringan gel stabil secara elektrostatis dengan atau tanpa gula, dan dengan kation logam divalen, biasanya kalsium. Model *egg-box* dari gel LM-pektin tergantung pada distribusi gugus karboksilat negatif dan struktur rantai samping rhamnose (Morris *et al.*, 2010). Kemampuan pektin untuk membentuk gel dengan kation divalen mirip dengan yang ditemukan pada alginat, dengan urutan kemampuan sebagai berikut: $Mg^{2+} \ll Ca^{2+}, Sr^{2+} < Ba^{2+}$. Sedangkan, Na^{+} dan K^{+} tidak memiliki kemampuan untuk membentuk gel (Morris *et al.*, 2010).



Gambar 2. 2 Mekanisme Gelasi HM-Pektin dengan Crosslinker

(Sumber : Morris *et al.*, 2010)

Faktor-faktor seperti ukuran molekul, derajat esterifikasi, pH, konsentrasi, ion kalsium (*crosslinker*), kekuatan ionik larutan, dan suhu sangat mempengaruhi kemampuan pektin dalam membentuk gel. Oleh karena itu, pektin yang berasal dari sumber yang berbeda tidak selalu memiliki kemampuan yang sama dalam membentuk gel (Ovodov, 2009). Sifat pektin seperti kekuatan gel, kelarutan, dan viskositas dipengaruhi oleh faktor-faktor tersebut. Pektin memiliki struktur polianion linear (polikarboksilat) yang menyebabkan ionisasi yang tinggi dalam

larutan. Akibatnya, tolakan Coulomb mencegah rantai polimer pektin untuk beragregasi dan tetap dalam bentuk terentang (Dhalleine *et al.*, 2011).

Muatan negatif yang sama pada anion karboksilat mencegah terjadinya agregasi dari rantai polimer, di mana jumlah muatan negatif ditentukan oleh DE. Setiap rantai polisakarida, terutama kelompok karboksilat, sangat terhidrasi. Kekentalan larutan pektin sangat stabil karena setiap rantai polimer terhidrasi, diperpanjang, dan terpisah (Martien *et al.*, 2012).

Pada kondisi pH rendah, ionisasi dari gugus karboksilat akan berkurang sehingga hidrasi gugus asam karboksilat akan terpengaruh. Hal ini akan menyebabkan molekul polisakarida tidak lagi saling tolak di sepanjang rantai polimernya, sehingga antar rantai polimer dapat saling mengait dan membentuk gel (Fang dan Bhandari, 2012).

Pektin telah lama digunakan sebagai agen pembentuk gel, dan kini sedang diteliti untuk aplikasi baru dalam penghantaran obat terkontrol. Pektin dianggap sebagai bahan yang aman karena tidak bersifat toksik, biaya produksinya relatif rendah dan ketersediaannya tinggi. Pektin telah diusulkan untuk digunakan dalam penghantaran obat secara oral, nasal dan vaginal, dan umumnya diterima baik oleh pasien (Morris *et al.*, 2010). Pektin memiliki sifat yang luas dalam menjerap dan menghantarkan beberapa obat, protein, dan sel sebagai matriks (Ovodov, 2009).

2.2 Nanopartikel sebagai Sistem Penghantar Obat

Nanoteknologi adalah teknik untuk mendesain dan menyusun materi pada skala nano yang memungkinkan untuk memanfaatkan dan merekayasa struktur atom per atomnya (Yu *et al.*, 2009). Nanomedisin adalah salah satu bidang penelitian yang paling aktif dalam nanoteknologi, dimana diterapkan teknologi nano untuk intervensi medis yang sangat spesifik dalam pencegahan, diagnosis, dan pengobatan penyakit (Jong dan Paul, 2008). Penggunaan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat adalah salah satu aspek penelitian dalam nanomedisin.

Nanopartikel dapat didefinisikan sebagai partikel dengan berbagai bentuk yang ukurannya berkisar antara 1 hingga 1000 nm (Jonassen, 2014). Nanopartikel terdiri dari nanokapsul dan nanosfer. Nanokapsul adalah sistem vesikular di mana obat hanya berada pada rongga yang dikelilingi oleh membran polimer, sedangkan

nanosfer adalah sistem matriks di mana obat secara fisik tersebar merata dalam matriks polimer (Singh dan Lillard, 2009). Nanopartikel harus memenuhi beberapa kriteria penting, yaitu harus stabil, tidak beracun, tidak trombogenik, tidak imunogenik, tidak memicu inflamasi, biodegradable, mencegah penyerapan oleh sistem retikuloendotel, dan dapat diaplikasikan untuk berbagai molekul seperti obat, protein, vaksin, atau asam nukleat (Kumari *et al.*, 2010).

Nanopartikel dapat terbuat baik dari unsur anorganik maupun organik. Di bidang farmasi, nanopartikel lebih banyak dibuat dari polimer alam. Polimer hidrofilik alam digunakan luas dalam berbagai industri farmasi untuk pengembangan sistem penghantaran obat baru karena sifat toksisitasnya yang rendah, biokompatibilitas, dan biodegradasi (Chakraborty *et al.*, 2012). Polimer alam yang umum digunakan untuk nanopartikel penghantaran oral di antaranya adalah kitosan, dekstran, gelatin, alginat, dan agar, dan di antaranya kitosan adalah yang paling populer (Rani *et al.*, 2017).

Salah satu sifat dasar dari nanopartikel yang berbeda dengan material lain adalah besarnya rasio luas permukaan terhadap volume (Rabanel *et al.*, 2017). Sifat ini dapat dimanfaatkan dalam formulasi obat hidrofobik, dengan peningkatan luas permukaan yang akan meningkatkan laju disolusi dan penyerapan obat (Merisko-Liversidge dan Liversidge, 2008). Nanopartikel dapat diserap secara langsung oleh sel mukosa melalui endositosis (Fröhlich dan Roblegg, 2012).

Selain ukuran dan bentuk, karakteristik permukaan nanopartikel dapat menentukan masa hidup partikel selama sirkulasi dalam aliran darah. Sebuah kemajuan besar saat ini adalah temuan bahwa partikel yang dilapisi dengan molekul polimer hidrofilik, seperti PEG, dapat menahan adsorpsi protein serum dan memperpanjang sirkulasi sistemik partikel (Ahmad *et al.*, 2012). PEG memodifikasi muatan permukaan partikel, yang pada gilirannya mempengaruhi internalisasi oleh makrofag. Partikel bermuatan positif terbukti lebih mudah diinternalisasi oleh makrofag dan sel dendritik, dibandingkan dengan partikel netral atau bermuatan negatif (Ahmad *et al.*, 2012).

Teknologi nanopartikel dapat membantu meningkatkan stabilitas agen terapeutik tertentu, seperti protein dan peptida, yang mudah terdegradasi ketika

diberikan secara oral atau intravena. Bahan farmasetik tertentu seperti protein dan peptida mudah terdegradasi ketika diberikan secara oral dan sering cepat tereliminasi setelah injeksi intravena (Balmayor *et al.*, 2011). Dengan menggabungkan molekul obat dalam nanopartikel, maka dapat melindungi bahan aktif dari degradasi dan eliminasi fisiologis dini (Plapied *et al.*, 2011).

Selain itu, permukaan nanopartikel dapat dimodifikasi dengan ligan untuk pengiriman terarah. Sebagai contoh, nanopartikel dapat digabungkan dengan folat untuk menargetkan sel kanker manusia yang memiliki reseptor folat yang berlebihan. Selain itu, terdapat juga nanopartikel responsif rangsangan, yang dapat menargetkan atau melepaskan obat di lokasi yang diinginkan, atau setelah terpapar rangsangan seperti perubahan pH fisiologis atau medan magnet eksternal (Ding dan Ma, 2013).

Teknologi nanopartikel dapat memberikan manfaat dalam mengontrol profil pelepasan. Nanokapsul baru-baru ini menarik minat di bidang pelepasan terkontrol karena kemampuannya menggunakan berbagai polimer biokompatibel dan *biodegradable* sebagai pembawa obat berukuran nano. Dispersi polimer nanokapsul ini mampu mencapai pelepasan terkontrol serta penargetan obat yang efisien. Namun, stabilitas dispersi dan respon fisiologis dipengaruhi oleh jenis surfaktan dan sifat lapisan luar. Sifat pelepasan dan degradasi tergantung pada komposisi dan struktur dinding kapsul (Rani *et al.*, 2017).

Meskipun nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat memberikan banyak keuntungan, terdapat beberapa kelemahan sebagai *nanocarrier*. Beberapa keterbatasan *nanocarrier* meliputi:

- a. Pembuatan, penyimpanan, dan pemberian pembawa nano masih sulit karena rentan terhadap agregasi.
- b. *Nanocarrier* tidak cocok untuk obat yang efektivitasnya belum jelas.
- c. Hal utama yang menjadi perhatian dalam hal ukuran kecilnya sebagai *nanocarrier* adalah kemampuannya untuk masuk ke bagian tubuh yang tidak diinginkan dengan konsekuensi yang berbahaya, seperti menyeberangi membran inti sel dan menyebabkan kerusakan genetik dan mutasi yang tidak diinginkan (Shaikh *et al.*, 2012).

2.3 Prebiotik

Prebiotik adalah bahan pangan yang dapat mempengaruhi dan memicu pertumbuhan atau aktivitas dari sejumlah mikroorganisme yang ada di dalam kolon. Prebiotik dapat dihasilkan melalui proses fermentasi secara selektif yang mampu mengalami perubahan komposisi serta aktivitas dalam pencernaan, sehingga dapat memberikan manfaat untuk kesehatan (Gibson *et al.*, 2004). Syarat bahan pangan yang dapat digunakan sebagai prebiotik diantaranya:

- a. Tahan terhadap keasaman lambung
- b. Tidak terhidrolisis oleh enzim pada saluran pencernaan atas
- c. Tidak diserap dalam usus halus
- d. Dapat difermentasi oleh mikroorganisme pada usus besar
- e. Dapat menstimulasi pertumbuhan atau aktivitas mikroorganisme pada usus secara selektif sehingga mampu meningkatkan kesehatan

(Gibson dan Roberfroid, 2005).

Prebiotik dapat berasal dari jaringan dan karbohidrat, seperti dedak gandum, pati, inulin atau oligosakarida rantai pendek yang memiliki ikatan glikosida seperti galaktooligosakarida atau fruktooligosakarida. Galaktooligosakarida (GOS), fruktooligosakarida (FOS), dan laktulosa digolongkan sebagai jenis prebiotik yang sumbernya dari karbohidrat (Gibson *et al.*, 2004). Isomaltooligosakarida (IMO), laktitol, xilooligosakarida (XOS), dan kelompok oligosakarida rafinosa (RFO) juga sebagai sumber prebiotik (Macfarlane *et al.*, 2006).

Tabel 2. 1 Prebiotik oligosakarida, komposisi dan metode produksi

Nama	Komposisi kimia	Metode produksi	Derajat Polimerisasi
Inulin,	β (2-1)Fruktan	Ekstraksi akar tanaman sawi putih	11-65
Fruktooligosakarida (FOS)	β (2-1)Fruktan	Transfruktosilasi dari hidrolisis inulin sawi putih	2-10 3-5
Galaktooligosakarida (GOS)	Oligogalaktosa (85%), laktosa dan glukosa	Diproduksi dari laktosa oleh β – galaktosidase	2-5
Xilooligosakarida (XOS)	β (1-4) Xilosa	Hidrolisis enzimatis xilan	2-4
Isomaltooligosakarida (IMO)	α (1-4) glukosa dan bercabang α (1-6)glukosa	Transgalaktosilasi maltosa	2-8
Oligosakarida kacang kedelai	Campuran rafinosa (F-Gal-G) dan stasiosa (F-Gal-Gal-G)	Diekstrak dari biji kedelai	3-4

(Sumber: Macfarlane *et al.*, 2006)

2.4 Xilooligosakarida

Xilooligosakarida (XOS) adalah oligomer glukosa yang terdiri dari unit-unit xilosa yang dihubungkan oleh ikatan β -(1 \rightarrow 4). Xilooligosakarida adalah karbohidrat dengan berat molekul sebesar 282-810 (X2 hingga X6) yang berbentuk padatan kristal dengan warna sesuai dengan sumber xilan. Nama xilooligosakarida dapat dibedakan berdasarkan jumlah monomernya dari 2-6 (Gupta, 2016). Jenis xilooligosakarida berdasarkan jumlah monomernya sebagai berikut.

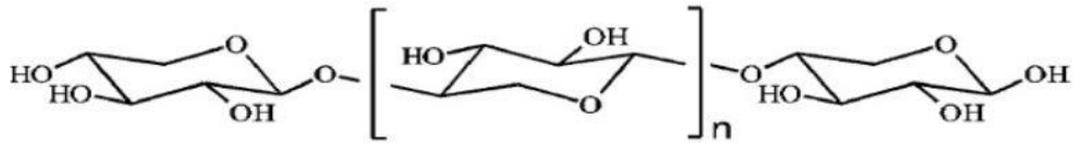
Tabel 2. 2 Jenis xilooligosakarida berdasarkan jumlah monomernya

Derajat Polimerisasi (DP)	Nama
2	Xilobiosa
3	Xilotriosa
4	Xilotetrosa
5	Xilopentosa
6	xiloheksosa

(Sumber: Samanta *et al.*, 2015).

Xilooligosakarida memiliki rasa pahit namun tidak berbau menyengat. Senyawa ini mempunyai titik pengurai pada suhu 120⁰C dan titik leleh pada suhu

134⁰C. Xilooligosakarida adalah jenis oligosakarida yang dihasilkan dari proses hidrolisis kacang kedelai. Struktur xilooligosakarida ditunjukkan pada gambar 2.1



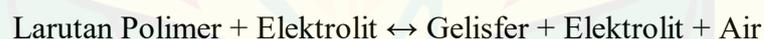
Gambar 2. 3 Struktur dasar xilooligosakarida

(Sumber:Gupta, 2016)

2.5 Gelasi Ionik

Gelasi ionik adalah metode pembuatan nanopartikel yang melibatkan sambungan silang antara polielektrolit dengan pasangan ion multivalennya. Metode ini sering diikuti dengan kompleksasi polielektrolit dengan polielektrolit yang berlawanan. Pembentukan ikatan sambung dapat meningkatkan kekuatan mekanis dari partikel yang terbentuk (Iswandana *et al.*, 2013).

Gelasi ionik adalah teknik yang sederhana dan cepat untuk pembuatan dispersi nanopartikel (Jonassen *et al.*, 2013). Penemu fenomena gelasi ionik adalah seorang ilmuwan koloid asal Jerman bernama Heinrich Thiele, yang mengagagas mekanisme pemisahan fase segregasi droplet. Proses gelasi sebagai berikut:



Gelisfer merupakan suatu kesatuan polimer hidrofilik sambung silang sferik yang mampu tergelasi dan mengembang di dalam cairan biologis simulasi serta dapat merilis obat melalui kesatuan tersebut yang dikendalikan oleh relaksasi polimer(Mardiyati *et al.*, 2012).

Metode gelasi ionik telah banyak diterapkan dalam proses enkapsulasi polisakarida alami seperti alginat, pektin, kitosan, dan karboksimetil selulosa (Nadia *et al.*, 2014). Penyatuan silang yang digunakan untuk gelasi ionik dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu penyatuan silang dengan berat molekul rendah seperti kalsium klorida, barium klorida, magnesium klorida, seng asetat, pirofosfat, tripolifosfat, dan tetrapolifosfat, serta penyatuan silang dengan berat molekul tinggi seperti lauril dan setilstearyl sulfat (Racoviță *et al.*, 2009).

Faktor-faktor yang mempengaruhi metode gelasi ionik:

a) Konsentrasi polimer dan elektrolit sambung silang.

Konsentrasi polimer dan elektrolit memiliki pengaruh besar pada formulasi partikel dengan metode gelas ionik. Konsentrasi keduanya harus dalam rasio tertentu yang dihitung dari jumlah unit sambung silang. Variasi persen efisiensi penjerapan berasal dari jenis elektrolit dan konsentrasi elektrolit.

b) Suhu

Suhu juga memainkan peran pada ukuran partikel yang dibentuk oleh metode gelas ionik. Selain itu, waktu reaksi juga berpengaruh, yaitu waktu yang dibutuhkan untuk terbentuk ikatan silang.

c) pH larutan sambung silang

pH larutan sambung silang juga faktor yang dipertimbangkan selama formulasi karena menunjukkan efek pada laju reaksi, bentuk dan ukuran partikel.

d) Konsentrasi Obat

Obat yang akan terperangkap dalam partikel harus dalam rasio yang tepat dengan polimer, karena konsentrasi obat sangat mempengaruhi efisiensi penjerapan, jika rasio obat-polimer melebihi kisaran maka dapat dilihat efek *bursting*, densitas partikel meningkat serta ukuran dan bentuk dari partikel juga meningkat.

e) Konsentrasi zat pembentuk gas

Agen pembentuk gas seperti kalsium karbonat dan natrium bikarbonat yang ditambahkan ke formulasi untuk menghasilkan partikel berpori sangat mempengaruhi ukuran dan bentuk gelisfer. Zat pembentuk gas membentuk partikel berpori, lapisan partikel rusak dan hasilnya permukaan tidak teratur (Chambin *et al.*, 2006).

Pektin memiliki kemampuan untuk membentuk gel dengan bantuan penyambung silang berupa kation divalen seperti ion kalsium atau ion zinc (Racoviță *et al.*, 2009). Kalsium klorida biasanya digunakan sebagai penyambung silang untuk mempersiapkan gel pektin yang makroskopis. Mekanisme penyambungan silang ini sering dijelaskan oleh model egg-box, di mana ion kalsium bermuatan positif berinteraksi dengan dua gugus asam yang terpisah pada

rantai polimer secara sejajar (Mardiyati *et al.*, 2012). Gel pektin terbentuk melalui dua mekanisme, yaitu reaksi penyambungan silang berdasarkan model egg-box dan ikatan hidrogen non-ionik. (Chambin *et al.*, 2006).

2.6 Sifat dan Karakterisasi Fisik Nanopartikel Sambung Silang

2.6.1 Persen Efisiensi Penjerapan

Istilah "efisiensi penjerapan" terkait dengan jumlah obat yang terkandung dalam nanopartikel. Kandungan obat dinyatakan sebagai persentase berat bahan aktif yang terjerap pada berat nanopartikel, sementara efisiensi penjerapan adalah rasio persentase eksperimen dari jumlah obat yang ditentukan dibandingkan dengan jumlah obat yang diberikan atau massa teoritis obat yang digunakan untuk pembuatan nanopartikel (Krivorotova *dkk.*, 2016).

Efisiensi penjerapan dipengaruhi oleh kombinasi polimer obat dan metode yang digunakan. Polimer hidrofobik menyerap jumlah obat hidrofobik yang lebih besar, sementara polimer hidrofilik menyerap jumlah obat hidrofilik yang lebih besar. Beberapa parameter formulasi seperti jenis emulsifier, rasio berat polimer terhadap obat, dan rasio organik fase berair akan mempengaruhi tingkat muatan obat (Asfari, 2015).

2.6.2 Ukuran Partikel

Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel merupakan faktor penting dalam nanopartikel, di mana nanopartikel dengan distribusi ukuran partikel luas menunjukkan variasi yang signifikan dalam pemuatan dan pelepasan obat, bioavailabilitas, serta efikasi (Krivorotova *et al.*, 2016). Partikel dapat disebut nanopartikel jika memiliki kisaran ukuran 10-1000 nm (Jonassen *et al.*, 2013).

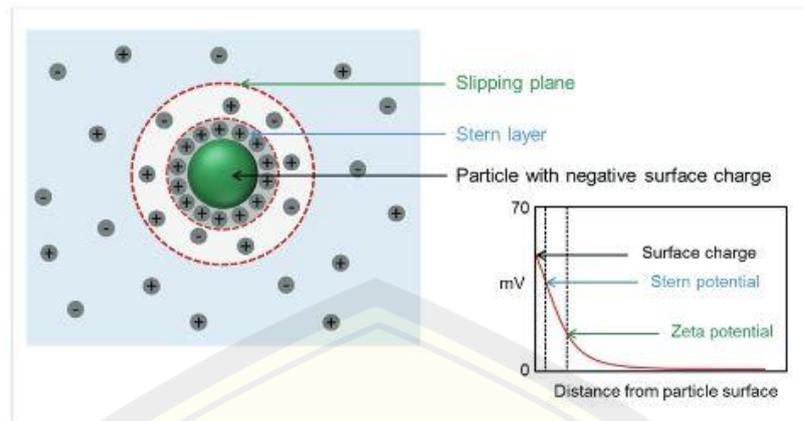
Indeks polidispersitas adalah parameter yang menyatakan distribusi ukuran partikel dari sistem nanopartikel (Opanasopit *et al.*, 2008), di mana rentang nilai 0,1-0,25 menunjukkan distribusi ukuran yang sempit, sementara nilai lebih dari 0,5 menunjukkan distribusi yang luas (Titus *et al.*, 2019). Nilai ini menunjukkan hasil perhitungan dari berat rata-rata berat molekul dibagi dengan jumlah rata-rata berat molekul. Semakin mendekati nol berarti distribusinya semakin baik (Mardiyati *et al.*, 2012).

Teknik hamburan cahaya dan transmisi atau pemindaian mikroskop elektron (Mardikasari dkk., 2020) dapat digunakan untuk menentukan ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel. Metode yang paling umum digunakan untuk karakterisasi partikel adalah hamburan cahaya dinamis (*Dynamic Light Scattering /DLS*). Teknik ini merupakan teknik non-invasif yang baik untuk mengukur ukuran dan distribusi ukuran partikel di wilayah submikron, dan juga dapat digunakan untuk mempelajari perilaku cairan kompleks seperti konsentrat larutan polimer (Cho dkk., 2013).

Ukuran partikel yang diukur menggunakan DLS dinyatakan sebagai nilai diameter lingkaran partikel yang terdifusi dengan kecepatan yang sama pada saat pengukuran. Diameter ini disebut juga diameter hidrodinamik. Ukuran partikel yang dihasilkan dengan teknik ini didasarkan pada asumsi bahwa partikel memiliki bentuk bola dan memiliki koefisien difusi translasi yang sama dengan partikel yang diukur (Asfari, 2015)

2.6.3 Potensial Zeta

Potensial zeta adalah ukuran umum dari muatan elektrostatik partikel dalam suatu dispersi, dan sangat penting dalam studi stabilitas suspensi nanopartikel. Potensial zeta yang tinggi, yaitu di atas nilai absolut 30 mV, dianggap penting untuk memastikan stabilitas koloid yang baik. Potensial zeta dapat memprediksi tingkat stabilitas suspensi dan kecenderungan partikel untuk mengendap atau menggumpal. Selain itu, potensial zeta juga dapat memberikan informasi tentang muatan permukaan partikel dan interaksi antarpartikel dalam suspensi (Morris *et al.*, 2010).



Gambar 2. 4 Ilustrasi partikel bermuatan negatif pada media air.

(Sumber : Jonassen, 2014)

Partikel bermuatan yang terdapat dalam suatu dispersi cair biasanya dikelilingi oleh ion dalam lapisan ganda listrik. Lapisan ganda cair ini terdiri dari bagian dalam yang disebut *stern layer*, yang berisi ion dengan muatan yang berlawanan dengan muatan partikel dan terikat kuat ke permukaan partikel, serta wilayah luar yang disebut *diffusive layer*, yang berisi ion dengan muatan yang kurang terikat. Potensial zeta pada partikel bermuatan adalah potensial listrik di bidang terluar lapisan cair ganda stationer, yang terletak pada permukaan lapisan cair ganda (Salgin *et al.*, 2012).

Selain berperan dalam stabilitas fisik, potensial zeta pada nanopartikel juga mempengaruhi efektivitasnya sebagai sistem penghantaran obat. Partikel bermuatan negatif dapat dengan cepat dibersihkan oleh sel-sel makrofag dalam tubuh. Oleh karena itu, keberadaan potensial zeta yang tinggi pada partikel bermuatan negatif dapat membantu mencegah penghapusan partikel oleh sel-sel makrofag, sehingga meningkatkan efektivitas sistem penghantaran obat. Namun, perlu diperhatikan bahwa sistem retikuloendotelial di hati dan limpa dapat menjadi kendala utama dalam pentargetan aktif karena kemampuannya untuk mengenali dan menghapus partikel bermuatan negatif dari sirkulasi sistemik, sehingga menghambat pengiriman efektif obat nano ke organ lain (Opanasopit *et al.*, 2008).

Muatan permukaan partikel dapat mempengaruhi perlekatan nanopartikel dengan membran sel. Partikel dengan muatan permukaan tinggi cenderung terikat

kuat pada membran sel dan menunjukkan penyerapan seluler yang tinggi. Interaksi elektrostatik antara membran anionik dan nanopartikel kationik memfasilitasi penyerapan ini. Setelah nanopartikel menempel pada membran sel, penyerapan dapat terjadi melalui beberapa mekanisme seperti pinositosis, endositosis, dan fagositosis. Senyawa kationik juga dapat memperbaiki permeasi kulit, karena jaringan kulit mengandung gugus bermuatan negatif seperti fosfatidil kolin dan karbohidrat (Titus *et al.*, 2019).

Nanopartikel bermuatan positif cenderung lebih mudah diserap oleh sel tumor dan memiliki waktu retensi yang lebih lama dibandingkan dengan partikel bermuatan negatif atau netral. Hal ini terjadi karena fosfatidil serin, residu bermuatan negatif, yang ditemukan pada sel kanker ditranslokasikan ke permukaan sel. Nanopartikel dengan muatan positif dapat ditranslokasikan oleh sel tumor melalui endositosis atau interaksi muatan dan penambatan ligan-reseptor (Martien *et al.*, 2012).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember dan *Center for Development of Advanced Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian terdiri dari alat gelas, alat bukan gelas dan instrumen. Alat gelas yang digunakan yaitu gelas beaker, tabung reaksi, gelas ukur, labu ukur, pipet volume, pipet Mohr, dan pipet tetes. Alat non gelas yang digunakan adalah mikropipet, tip, ball pipet, botol semprot, *dry block heater*, *hotplate* (Stuart UC-152), lemari asam (JAVVA FH180), *magnetic stirrer*, kulkas (Sharp), oven (Froilabo), pH-meter (Navih F-15), *Particel Size Analyzer* (PSA), *Zetasizer Nano ZS90*, Spektro uv-vis (Shimidzu 2900).

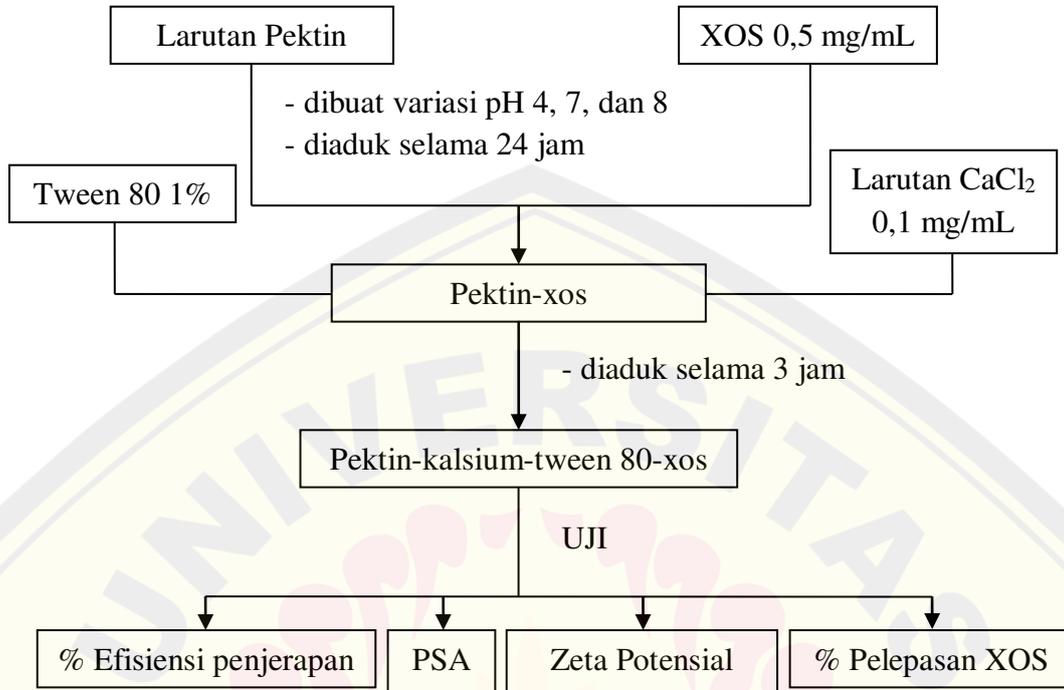
3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian terdiri dari bahan aktif, bahan kimia dan bahan pendukung. Bahan utama yang digunakan adalah xilooligosakarida (X_3).

Bahan kimia yang digunakan adalah Pektin (Himedia, Mr: 86.000), HCl 37% (E-Merck, Mr: 36,55g/mol), CaCl_2 2% (E-Merck, Mr: 111,0g/mol), $\text{KNaTartrat } \text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (E-Merck, Mr: 282,1 g/mol, ρ : 0,63 g/ml), asam 3,5-dinitrosalisilat (E-Merck, Mr: 228,12 gr/mol), NaOH (E-Merck, Mr: 39,99gr/mol), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (E-Merck, Mr: 177,99 g/mol), NaH_2PO_4 (E-Merck, Mr: 119,4g/mol), dan tween 80 (PT. Bratachem). Bahan pendukung berupa akuades, aquademineral, aluminium foil, tisu, kapas, label.

3.3 Diagram Percobaan

3.3.1 Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel



Gambar 3. 1 Diagram Percobaan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Nanopartikel pektin-kalsium Tween 80 konsentrasi 1% (v/v)

Sebanyak 10 mg pektin didispersikan dalam 80 mL aquademineral dengan menggunakan pengaduk *magnetic*. Preparasi larutan pembuatan nanopartikel pektin-kalsium diadopsi dari penelitian Krivorotova *et al.*, (2016). Larutan pektin dibuat pH 4, 7, dan 8 yang masing-masing dilakukan pengadukan dengan kecepatan 1000 rpm selama 24 jam pada suhu kamar. Pada wadah lain, CaCl₂ sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 100 mL aquademineral. Tabel 3.1 menunjukkan komposisi bahan dalam pembuatan nanopartikel pektin-kalsium-tween 80-xilooligosakarida.

Tabel 3. 1 Komposisi pektin-kalsium-tween 80-xilooligosakarida

Bahan	Fungsi	Volume (mL)	Konsentrasi
Xilooligosakarida	Bahan Aktif	0,25	0,5 mg/mL
Pektin	Polimer	30	0,125 mg/mL
CaCl ₂	Crosslink	6	0,1 mg/mL
Tween 80	Surfaktan	3,6	1% (v/v)

Nanopartikel dibuat dengan menambahkan xilooligosakarida (X₃) kedalam larutan pektin sambil diaduk menggunakan pengaduk *magnetic* dengan kecepatan 1000 rpm. Larutan CaCl₂ dan Tween 80 di teteskan menggunakan *syringe* 3 mL kedalam campuran pektin-xilooligosakarida (Wong dan Sumiran, 2014). Nanopartikel yang terbentuk di *stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 3 jam.

3.4.2 Penetapan Ukuran Nanopartikel pektin-kalsium-tween 80-xilooligosakarida

Sebanyak tiga tetes sampel nanopartikel pektin-kalsium-tween 80-xilooligosakarida ditentukan ukurannya dengan menggunakan alat *Particel Size Analyzer* (PSA) (Sharma *et al.*, 2012)

3.4.3 Penetapan Potensial Zeta

Penentuan potensial zeta dilakukan dengan menempatkan sebanyak 0,7 mL sampel nanopartikel pektin-kalsium-tween 80-xilooligosakarida ke dalam *flow cell* lalu dikarakterisasi sifat elektrokinetiknya pada 25⁰C menggunakan alat *zeta analyzer* (Jonassen *et al.*, 2013)

3.4.4 Scanning Panjang Gelombang Xilooligosakarida (X_3)

Penentuan panjang gelombang xilooligosakarida (X_3) dapat dilakukan dengan pengukuran konsentrasi larutan standar dengan menentukan kadar gula pereduksinya. Penentuan kadar pereduksi xilooligosakarida menggunakan metode Miller dengan menambahkan reagen DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat). Larutan stok xilooligosakarida (X_3) dilakukan *scanning* panjang gelombang untuk mendapatkan panjang gelombang yang sesuai. Xilooligosakarida (X_3) diambil sebanyak 250 μL lalu ditambah sebanyak 750 μL reagen Miller (DNS). Campuran dipanaskan menggunakan *dry block heater* pada suhu 100°C selama 5 menit, kemudian didinginkan selama 20 menit pada air es (Febriani *et al.*, 2014). Campuran yang telah dingin kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang dengan kisaran 400-600 nm. Panjang gelombang maksimum (panjang gelombang pada absorbansi tertinggi) yang diperoleh akan digunakan untuk perlakuan selanjutnya.

3.4.5 Penentuan Konsentrasi Xilooligosakarida (X_3)

Sampel dan blanko diambil sebanyak 250 μL dan ditambahkan dengan reagen DNS sebanyak 750 μL . Masing-masing larutan kemudian dipanaskan menggunakan *dry block heater* pada suhu 100°C selama 5 menit (Febriani *et al.*, 2014). Sampel kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang hasil *scanning* xilooligosakarida (X_3). Konsentrasi xilooligosakarida (X_3) didapat dari kurva standar xilooligosakarida (X_3) dengan variasi konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Data absorbansi yang diperoleh kemudian dicari persamaan regresi liniernya.

3.4.6 Pengukuran Efisiensi Penjerapan (%) Xilooligosakarida (X_3)

Pengukuran efisiensi penjerapan xilooligosakarida diadopsi dari penelitian Sahu *et al.*, (2014). Jumlah xilooligosakarida (X_3) bebas dalam supernatan hasil sentrifugasi dihitung dengan mengukur absorbansinya dalam spektrofotometer UV-Vis. Efisiensi penjerapan nanopartikel dihitung sebagai rasio xilooligosakaridayang terjerap ke dalam nanopartikel dibandingkan dengan jumlah total xilooligosakaridayang digunakan dalam pembuatan nanopartikel. Persen efisiensi penjerapan dapat dibuat persamaan sebagai berikut:

$$EE(\%) = \frac{\text{Jumlah XOS yang digunakan} - \text{Jumlah XOS bebas}}{\text{Jumlah XOS yang digunakan}} \times 100\%$$

dimana EE(%) adalah efisiensi penjerapan (%).

3.4.7 Penentuan % Pelepasan Xilooligosakarida (X₃) secara *In Vitro*

Penentuan % pelepasan xilooligosakarida secara *in vitro* dilakukan untuk mengetahui kestabilan nanopartikel pektin-kalsium pada kondisi pH sistem pencernaan. Kestabilan nanopartikel pada kondisi pH pencernaan dilakukan dengan sistem *in vitro*, dengan merendam sampel nanopartikel kedalam buffer pH yang disesuaikan dengan cairan di lambung digunakan buffer KCl pH 2 selama 2 jam pertama, kemudian untuk menyesuaikan cairan di usus halus digunakan buffer fosfat pH 5,6 untuk 2 jam, berikutnya untuk menyesuaikan pH kolon dilakukan dalam buffer fosfat pH 7,4 selama 5 jam. Pemilihan variasi pH didasarkan pada kondisi pH pencernaan (Chambin *et al.*, 2006). Persen pelepasan xilooligosakarida dapat dibuat persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{Pelepasan XOS} = \frac{[\text{XOS}] \text{ tiap jam selama inkubasi}}{[\text{XOS}] \text{ terenkapsulasi}} \times 100\%$$

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Sintesis Nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 Mengandung Xilooligosakarida

Metode sintesis nanopartikel pektin yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelasi ionik dengan menambahkan kation Ca^{2+} dan tween 80. Penggunaan Ca^{2+} sebagai *crosslinker* dan tween 80 sebagai surfaktan (Sun *et al.*, 2019). Proses pembentukan nanopartikel pektin ini melibatkan interaksi antara pektin, Ca^{2+} dan surfaktan tween 80.

Ikatan kimiawi yang terjadi antara pektin dengan CaCl_2 adalah ikatan ionik antara gugus karboksil pada pektin dengan ion Ca^{2+} yang berasal dari CaCl_2 . Pada proses ini, ion Ca^{2+} bertindak sebagai *crosslinker* yang membentuk ikatan silang antar rantai pektin. Ikatan silang ini memperkuat struktur pektin sehingga nanopartikel pektin yang terbentuk memiliki sifat mekanik yang lebih kuat dengan membentuk struktur “*egg-box*” dibandingkan pektin yang belum mengalami *crosslinking* (Opanasopit *et al.*, 2008).

Surfaktan tween 80 juga berperan dalam pembentukan nanopartikel pektin. Tween 80 memiliki dua bagian utama yaitu kepala polar yang terdiri dari gugus hidroksil (-OH) dan ekor nonpolar yang terdiri dari rantai hidrokarbon. Gugus kepala polar tween 80 dapat berinteraksi dengan gugus hidroksil pada pektin melalui ikatan hidrogen, sedangkan ekor nonpolar dapat berinteraksi dengan molekul nonpolar di sekitarnya. Surfaktan tween 80 pada proses sintesis nanopartikel pektin berfungsi sebagai *stabilizer* untuk mencegah partikel pektin menggumpal atau bergerombol. Stabilisasi ini dicapai dengan mengurangi tegangan permukaan antara partikel pektin yang terdispersi dan medium sekitarnya (Nadia *et al.*, 2014).

Terdapat ikatan yang terjadi antara pektin dengan xilooligosakarida (XOS) yang terjerap pada sistem nanopartikel pektin-kalsium-tween 80. Ikatan ini terjadi melalui interaksi antara gugus hidroksil pada XOS dengan gugus hidroksil pada pektin, sehingga membentuk ikatan hidrogen yang stabil (Krivorotova *et al.*, 2016). Struktur nanopartikel dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Kesimpulan penelitian ini adalah sintesis nanopartikel pektin melibatkan interaksi kompleks antara pektin, Ca^{2+} , xilooligosakarida, dan surfaktan tween 80. Ikatan ionik antara pektin dan Ca^{2+} berperan sebagai *crosslinker* yang memperkuat struktur pektin, sedangkan surfaktan tween 80 berperan sebagai *stabilizer* untuk mencegah partikel pektin menggumpal atau bergerombol. Interaksi ini membentuk nanopartikel pektin yang stabil dan dapat menjerap senyawa XOS dengan efektif.

4.2 Karakterisasi Fisik Nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 Mengandung Xilooligosakarida

Nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 yang mengandung xilooligosakarida yang telah dibuat kemudian akan dilakukan karakterisasi dengan dua uji, yaitu *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk menentukan ukuran partikel nanopartikel pektin dan *Zeta Analyzer* untuk menentukan zeta potensial nanopartikel pektin. Uji PSA akan memberikan informasi tentang distribusi ukuran nanopartikel dan ukuran rata-rata. Uji *Zeta Analyzer* akan memberikan informasi tentang muatan permukaan partikel yang mempengaruhi stabilitas nanopartikel pektin tersebut.

4.2.1 Penentuan Ukuran Nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 Mengandung Xilooligosakarida

Ukuran nanopartikel sangat penting karena akan mempengaruhi sifat fisik dan kimia dari material tersebut. Nanopartikel biasanya memiliki ukuran antara 1 hingga 100 nanometer. Ukuran yang sangat kecil ini menyebabkan nanopartikel memiliki luas permukaan yang besar. Semakin kecil ukuran nanopartikel pektin, semakin besar luas permukaannya relatif terhadap volume nanopartikel. Hal ini dapat meningkatkan reaktivitas pektin karena lebih banyak atom permukaan yang tersedia untuk bereaksi dengan zat lain seperti protein atau gula maupun suatu bakteri tertentu. Selain itu, ukuran nanopartikel pektin juga dapat mempengaruhi sifat rheologis, solubilitas, dan stabilitas partikel (Raftari *et al*, 2015).

Nanopartikel pektin cenderung tidak stabil karena energi permukaannya yang lebih tinggi dan kecenderungan partikel untuk bergabung membentuk partikel yang lebih besar. Oleh karena itu, pada penelitian kali ini akan ditambahkan Tween 80 sebagai surfaktan. Tween 80 digunakan sebagai surfaktan yang dapat

membantu mengurangi tegangan permukaan antara partikel sehingga mencegah nanopartikel pektin bergabung membentuk partikel yang besar. Hal ini dapat mempermudah pembentukan nanopartikel pektin dengan ukuran yang kecil dan homogen (Sun *et al.*, 2019).

Metode karakterisasi nanopartikel yang digunakan adalah *Particle Size Analyzer* (PSA). PSA digunakan untuk mengukur ukuran partikel dalam larutan. Metode ini menggunakan prinsip hamburan cahaya untuk mengukur ukuran partikel dengan membandingkan intensitas cahaya yang dihamburkan oleh partikel dengan ukuran yang diketahui (Majhi *et al.*, 2017). Hasil pengujian ukuran partikel dapat dilihat pada Table 4.1

Tabel 4. 1 Hasil Pengujian Ukuran Partikel

Sampel	Ukuran Partikel (nm)			Rata-rata \pm SD
	H.1	H.2	H.3	
pH 7	46	48	47,8	47,27 \pm 1,101
pH 8	42,7	49,7	47	46,47 \pm 3,530

Hasil pengukuran ukuran nanopartikel pektin pada sampel pH 7 dan pH 8 menunjukkan bahwa ukuran partikel bervariasi antara 42,7 hingga 49,7 nm. Rata-rata ukuran partikel pada kedua sampel tidak jauh berbeda, yaitu sekitar 47 nm. Hasil ini mengindikasikan bahwa variasi pH dari pH 7 ke pH 8 tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap ukuran partikel nanopartikel pektin. Sintesis nanopartikel pektin dengan penambahan Tween 80 sebagai surfaktan, menunjukkan bahwa variasi pH dalam rentang yang diteliti tidak mempengaruhi secara drastis ukuran partikel yang dihasilkan.

Ukuran nanopartikel pada setiap variasi pH tersebut menunjukkan hasil yang berbeda dari penelitian yang dilakukan oleh Smith *et al.*, (2018). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ukuran partikel pektin bervariasi dengan perubahan pH, dan ukuran partikel meningkat saat pH ditingkatkan dari pH asam ke pH netral atau pH basa. Pada variasi pH 7, ukuran partikel rata-rata adalah sekitar 50 nm, sedangkan pada pH 8, ukuran partikel rata-rata meningkat menjadi sekitar 60 nm.

Hasil lain menunjukkan hal yang sama pada penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa ukuran partikel meningkat secara signifikan dengan peningkatan pH larutan. Pada pH asam (pH 4), ukuran partikel rata-rata sekitar 50 nm, sedangkan pada pH netral (pH 7), ukuran partikel rata-rata meningkat menjadi sekitar 150 nm, dan pada pH basa (pH 10), ukuran partikel rata-rata mencapai sekitar 400 nm.

Berdasarkan data yang telah didapatkan, dapat disimpulkan bahwa ukuran nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 mengandung xilooligosakarida dengan variasi pH 7 dan 8 menunjukkan bahwa penggunaan variasi pH pada proses sintesis nanopartikel pektin tidak mempengaruhi ukuran nanopartikel secara signifikan. Hal tersebut berbeda dengan penelitian sebelumnya bahwa kenaikan pH dapat mempengaruhi ukuran nanopartikel akibat tolakan elektrostatis antar gugus atom sehingga pada pH tinggi pektin berukuran besar dan berpotensi untuk terjadinya depolimerisasi.

4.2.2 Penentuan Zeta Potensial Nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 Mengandung Xilooligosakarida

Ukuran nanopartikel pektin memiliki pengaruh yang signifikan terhadap zeta potensialnya. Hal ini disebabkan oleh perubahan pada permukaan partikel pektin akibat variasi ukurannya yang memengaruhi nilai zeta potensialnya. Ukuran nanopartikel pektin sangat penting dalam memprediksi atau menentukan nilai zeta potensialnya secara lebih akurat. Selain itu, pemahaman mengenai nilai zeta potensial nanopartikel pektin juga sangat krusial dalam penggunaannya, karena dapat membantu dalam mengetahui stabilitasnya di dalam sistem dan kemampuannya dalam berinteraksi dengan bahan-bahan lainnya. Zeta potensial sendiri merupakan parameter elektrokimia yang mengukur muatan permukaan partikel, yang sangat berperan dalam menentukan stabilitas dan interaksi partikel pektin dengan bahan lain di dalam sistem.

Zeta potensial dapat digunakan untuk memprediksi stabilitas partikel, karena partikel yang memiliki zeta potensial yang tinggi cenderung memiliki stabilitas yang lebih baik. Dalam konteks pelepasan XOS di dalam kolon, zeta potensial juga dapat mempengaruhi efisiensi pelepasan. Penelitian yang dilakukan oleh L.

Zhang *et al*, (2020) membahas pengaruh zeta potensial terhadap pelepasan XOS oleh bakteri asam laktat di dalam kolon. Hasil penelitian menunjukkan bahwa partikel dengan zeta potensial yang lebih negatif cenderung memiliki efisiensi pelepasan yang lebih baik.

Metode karakterisasi zeta potensial umumnya dilakukan dengan menggunakan alat yang disebut *Zeta Sizer* atau *Zeta Potential Analyzer*. Alat ini menggunakan teknik elektroforesis untuk mengukur zeta potensial partikel dalam medium dispersi.

Dalam penelitian ini, zeta potensial dari nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 mengandung xilooligosakarida diukur menggunakan alat *Zetasizer Nano ZS90* (Malvern Instruments Ltd, UK). Sampel nanopartikel pektin yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam cuvette dan dimasukkan ke dalam alat untuk diukur zeta potensialnya. Hasil dari pengukuran tersebut, potensial zeta dari kedua sampel dapat dilihat pada Table 4.2

Tabel 4. 2 Hasil Pengukuran Zeta Potensial

Sampel	Zeta Potensial (mV)			Rata-rata \pm SD
	H.1	H.2	H.3	
pH 7	-30,4	-30,1	-32	-30,83 \pm 1,021
pH 8	-27,2	-28,2	-32,2	-29,20 \pm 2,646

Berdasarkan hasil pengukuran zeta potensial pada penelitian ini, didapatkan hasil zeta potensial nanopartikel pektin dengan pH 7 sebesar -30,4; -30,1; dan -32 mV, sedangkan pada pH 8 sebesar -27,2; -28,2; dan -32,2 mV. Hasil ini menunjukkan bahwa nanopartikel pektin memiliki muatan negatif yang cukup tinggi dan stabil dalam medium dispersi. Hasil zeta potensial nanopartikel pektin sampel pH 7 dan pH 8 menunjukkan angka yang negatif.

Pengaruh variasi pH terhadap nilai zeta potensial dapat dijelaskan oleh efek ionisasi pektin dan XOS pada pH yang berbeda. Pektin adalah polimer yang terdiri dari unit-unit gula dan memiliki gugus fungsional asam, sehingga pH dapat mempengaruhi muatan pektin. Pada pH rendah seperti sampel pH 4, gugus-gugus karboksilat pada pektin akan terprotonasi, sehingga jumlah muatan negatif pada permukaan partikel pektin akan berkurang. memungkinkan nilai zeta potensialnya

dapat mendekati nol atau lebih tinggi dari +30 mV. pada sampel pH 7, ionisasi asam pada pektin lebih rendah, dan ini dapat menghasilkan lebih banyak muatan negatif pada permukaan nanopartikel pektin. Hal ini dapat menjelaskan mengapa sampel dengan pH 7 memiliki nilai zeta potensial yang sedikit lebih rendah dari sampel pH 8.

Pada sampel pH 8, ionisasi asam pada pektin lebih tinggi. Ini mengarah pada peningkatan jumlah muatan negatif pada permukaan nanopartikel pektin. Oleh karena itu, sampel dengan pH 8 menunjukkan nilai zeta potensial yang sedikit lebih tinggi. hal ini juga berlaku untuk penggunaan pH yang lebih tinggi, tetapi dengan penggunaan pH yang tinggi dapat merugikan proses enkapsulasi dan pelepasan XOS yang tidak maksimal.

Nilai zeta potensial yang lebih tinggi (baik positif dan negatif) cenderung mencegah terjadinya agregasi karena gaya tolakan elektrostatis yang kuat antar nanopartikel dengan muatan yang serupa. ketika nilai zeta potensial sangat rendah atau mendekati nilai 0, maka tolakan elektrostatis akan menjadi lemah dan gaya *Van der Waals* menjadi lebih dominan sehingga nanopartikel pektin lebih mudah berinteraksi dan menggumpal (Murdock *et al*, 2008). Nilai zeta potensial yang negatif menunjukkan adanya muatan negatif pada permukaan nanopartikel pektin yang dapat menjaga kestabilan partikel dalam suspensi. Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Mun *et al*, (2019), zeta potensial nanopartikel pektin sebesar -38,3 mV, yang menunjukkan kestabilan partikel yang baik. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Dogan Ergin *et al.*, (2021), zeta potensial nanopartikel pektin sebesar -16,3 mV, yang menunjukkan kestabilan partikel yang sedikit lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian saat ini.

Selain itu, penelitian oleh Yener *et al.*, (2022) juga membahas zeta potensial dari nanopartikel pektin yang dihasilkan dengan metode yang serupa. Hasil pengukuran zeta potensial pada penelitian ini menunjukkan bahwa nanopartikel pektin memiliki muatan negatif yang cukup tinggi yaitu $-24,24 \pm 1,03$ mV.

Berdasarkan hasil yang telah didapatkan, dapat disimpulkan bahwa hasil zeta potensial dari nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 mengandung xilooligosakarida yang diperoleh sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan

oleh Yener *et al.*, (2022). Hal ini menandakan bahwa metode sintesis yang digunakan dalam penelitian kali ini dapat menghasilkan nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 mengandung xilooligosakarida yang cukup stabil.

4.3 Efisiensi Enkapsulasi Xilooligosakarida

Efisiensi enkapsulasi merupakan parameter penting dalam pengembangan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat. Efisiensi enkapsulasi dapat didefinisikan sebagai perbandingan antara jumlah XOS yang terenkapsulasi dengan jumlah XOS yang digunakan dalam proses pembuatan nanopartikel. Semakin tinggi efisiensi enkapsulasi, semakin banyak XOS yang terenkapsulasi dalam nanopartikel (Zhao *et al.*, 2021). Pada penelitian ini, efisiensi enkapsulasi XOS dalam nanopartikel pektin diukur dengan menentukan kadar gula pereduksinya menggunakan metode spektrofotometri *Visible*.

Gula pereduksi adalah kelompok senyawa karbohidrat yang memiliki gugus aldehida atau keton yang dapat mengalami reaksi oksidasi dan mereduksi senyawa pereduksi lainnya. Gula pereduksi umumnya memiliki struktur monosakarida atau oligosakarida yang memiliki gugus fungsi pereduksi. Contoh umum gula pereduksi termasuk glukosa, fruktosa, laktosa, dan maltosa (Pedersen *et al.*, 2003).

Gula pereduksi dalam sampel dapat diukur dengan menggunakan metode spektrofotometri berbasis reagen DNS. Reagen DNS (3,5-dinitrosalisilat) digunakan dalam reaksi yang mengubah gula pereduksi menjadi senyawa berwarna merah terkondensasi yang dapat diukur secara spektrofotometri. Dalam reaksi ini, gugus pereduksi pada gula pereduksi bereaksi dengan reagen DNS membentuk senyawa berwarna merah (Pedersen *et al.*, 2003).

Xilooligosakarida adalah jenis gula pereduksi yang menjadi fokus dalam penelitian ini. XOS adalah oligosakarida yang terdiri dari unit-unit xilosa yang terikat bersama. Xilosa adalah monosakarida yang memiliki gugus pereduksi, sehingga XOS dapat digolongkan sebagai gula pereduksi. Pengukuran kadar gula pereduksi XOS dilakukan dengan mengubah XOS menjadi senyawa berwarna merah terkondensasi menggunakan reagen DNS. Selanjutnya, absorbansi cahaya yang dihasilkan oleh senyawa berwarna tersebut diukur menggunakan spektrofotometri *visible*.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mengukur efisiensi enkapsulasi XOS dalam nanopartikel pektin dengan menentukan kadar gula pereduksinya. Penentuan kadar gula pereduksi XOS menggunakan metode spektrofotometri *Visible* pada panjang gelombang maksimal 492 nm. Hasil perhitungan nilai % efisiensi enkapsulasi dapat dilihat pada Table 4.4

Tabel 4. 3 Hasil uji Efisiensi Enkapsulasi

Sampel	Efisiensi Enkapsulasi (%)			Rata-rata ± SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
pH 7	95,29	95,82	95,42	95,50 ± 0,278
pH 8	88,71	88,55	87,86	88,37 ± 0,449

Berdasarkan data tersebut, hasil efisiensi enkapsulasi XOS dalam nanopartikel pektin pada sampel pH 7 dan pH 8 secara berurutan adalah 95,29%, 95,82%, dan 95,42% serta 88,71%, 88,55%, dan 87,86%. Hasil % efisiensi enkapsulasi XOS dalam nanopartikel pektin pada sampel pH 7 memiliki nilai rata-rata sebesar 95,50%. Pada sampel pH 8, efisiensi enkapsulasi sedikit lebih rendah dengan nilai rata-rata sebesar 88,37%. Penurunan efisiensi enkapsulasi pada pH 8 disebabkan oleh adanya perubahan sifat kimia pektin dan XOS akibat perubahan pH larutan (Wang dan Zhang, 2019).

Pada sampel pH 7, efisiensi enkapsulasi XOS dalam nanopartikel pektin menghasilkan nilai rata-rata sebesar 95,50%. pH asam hingga pH 7 yang merupakan pH netral dapat mendukung stabilitas struktural pektin dan XOS. Pada kondisi ini, pektin akan berada dalam bentuk yang lebih terionisasi dan dapat membentuk matriks yang lebih stabil untuk mengenkapsulasi XOS.

Saat pH ditingkatkan pada sampel pH 8, efisiensi enkapsulasi XOS dalam nanopartikel pektin menurun menjadi 88,37%. Peningkatan pH menyebabkan sejumlah gugus asam pada pektin menjadi terdeprotonasi, yang dapat mempengaruhi kekuatan ikatan dan struktur matriks pektin. Selain itu, perubahan pH juga dapat mempengaruhi kelarutan XOS, yang dapat mempengaruhi distribusi XOS dalam matriks pektin.

Hasil penelitian ini konsisten dengan penelitian lain yang menguji pengaruh variasi pH terhadap efisiensi enkapsulasi dalam sistem nanopartikel polimer. Misalnya, sebuah jurnal penelitian oleh Chen *et al.*, (2021) menyelidiki pengaruh pH pada efisiensi enkapsulasi kurkumin dalam nanopartikel pektin-kaseinat. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa efisiensi enkapsulasi kurkumin cenderung menurun dengan peningkatan pH larutan. Hal ini disebabkan oleh perubahan sifat kimia pektin dan kaseinat pada kondisi pH yang lebih tinggi.

penelitian lain yang dilakukan oleh Liu *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa peningkatan pH larutan dari 6 menjadi 8 dalam enkapsulasi nanopartikel selulosa dapat mengurangi efisiensi enkapsulasi zat aktif. Hal ini dikaitkan dengan perubahan ikatan hidrogen dan kelarutan bahan pembentuk nanopartikel selulosa.

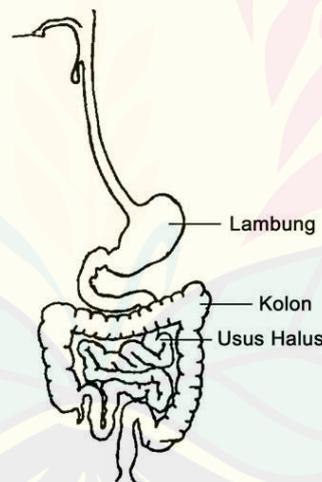
Efisiensi tinggi dalam enkapsulasi XOS oleh nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 dapat dicapai disebabkan interaksi ikatan hidrogen antara pektin dan XOS. Interaksi ini memungkinkan XOS terperangkap dengan efektif di dalam struktur nanopartikel (Deng *et al.*, 2018). Selain itu, proses pembentukan nanopartikel pektin menggunakan metode gelas ionik dengan penambahan CaCl_2 sebagai *crosslinker* memiliki peran penting dalam meningkatkan efisiensi XOS untuk terenkapsulasi. Pada saat proses sintesis, muatan negatif pada pektin berinteraksi dengan muatan positif pada kation Ca^{2+} membentuk struktur yang dikenal sebagai "egg-box". Struktur *egg-box* membentuk lapisan pelindung di sekitar XOS, menjaga dari interaksi dengan lingkungan eksternal hingga nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 ini terdegradasi pada target yang ditentukan (Wang dan Zhang, 2019).

Ukuran nanopartikel pektin juga dapat mempengaruhi efisiensi enkapsulasi XOS. Ukuran partikel yang kecil dapat meningkatkan luas permukaan dan interaksi antara pektin dan senyawa lain, sehingga meningkatkan kemampuan pektin untuk mengenkapsulasi XOS. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Merisko-Liversidge dan Liversidge (2008), yang menunjukkan bahwa ukuran partikel nanopartikel pektin yang kecil dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi.

Berdasarkan hasil yang telah didapatkan, disimpulkan bahwa data efisiensi enkapsulasi nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa kenaikan pH pembentuk nanopartikel pektin dapat mempengaruhi hasil efisiensi enkapsulasi xos.

4.4 Pelepasan Xilooligosakarida secara *In-Vitro*

Pelepasan Xylooligosakarida (XOS) dari sistem nanopartikel pektin pada kondisi simulasi pencernaan secara *in-vitro* dilakukan untuk memahami aplikasi nanopartikel pektin dalam menghantarkan XOS ke saluran pencernaan manusia. Penelitian ini dilakukan dengan merendam sampel pada pH buffer simulasi pencernaan tubuh yang mencakup lambung (pH 2), usus halus (pH 5,6), dan kolon (pH 7,4) selama periode waktu tertentu dan menentukan jumlah XOS yang terlepas dari sistem nanopartikel pada setiap waktu inkubasi (Suwarno *et al*, 2021) bertujuan untuk mengevaluasi pelepasan XOS dari sistem nanopartikel pektin pada berbagai pH lingkungan yang mensimulasikan kondisi pencernaan manusia.



Gambar 4. 2 Simulasi Pencernaan dalam Tubuh

Pada penelitian ini, metode pelepasan XOS dalam nanopartikel pektin secara *in-vitro* dilakukan dengan merendam sampel pada pH buffer. Sampel pH 7 dan pH 8 direndam pada buffer pH simulasi pada pencernaan tubuh (lambung pH 2, usus halus pH 5,6, dan kolon pH 7,4). Perendaman sampel pada buffer pH lambung selama 2 jam, pH usus halus selama 2 jam, dan pH kolon selama 5 jam. Sampel tersebut ditentukan konsentrasi XOS yang terlepas dari sistem nanopartikel dengan mengukur gula pereduksi menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis

pada panjang gelombang maksimum XOS yaitu 492 nm. Hasil perhitungan % pelepasan xilooligosakarida dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 4. 4 Data Hasil Pelepasan Xilooligosakarida

pH Simulasi	Waktu (Jam)	Sampel pH 7	Sampel pH 8
pH Lambung (2)	1	0,261%	0,688%
	2	0,431%	1,606%
pH Usus Halus (5,6)	1	1,380%	0,994%
	2	1,388%	1,751%
pH Kolon (7,4)	1	1,396%	2,201%
	2	1,936%	4,539%
	3	6,682%	7,709%
	4	8,890%	10,183%
	5	13,489%	20,188%

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH buffer simulasi pencernaan tubuh memiliki pengaruh yang signifikan pada pelepasan XOS dari sistem nanopartikel pektin. %pelepasan XOS sampel pH 7 pada lambung di inkubasi jam ke-1 sebesar 0,261%, inkubasi jam ke-2 sebesar 0,431%. %pelepasan XOS sampel pH 8 pada lambung di inkubasi jam ke-1 sebesar 0,688%, inkubasi jam ke-2 sebesar 1,606%. %pelepasan XOS sampel pH 7 pada usus halus di inkubasi jam ke-1 sebesar 1.380%, inkubasi jam ke-2 sebesar 1.388%. %pelepasan XOS sampel pH 8 pada usus halus di inkubasi jam ke-1 sebesar 0,994%, inkubasi jam ke-2 sebesar 1,751%. %pelepasan XOS maksimal di pH kolon untuk sampel pH 7 dan pH 8 pada inkubasi jam ke-5 sebesar 13,489% dan 20,188%.

Pelepasan XOS dapat dipengaruhi oleh variasi pH pembentukan nanopartikel pektin. pH pembentukan nanopartikel pektin dapat mempengaruhi sifat fisikokimia nanopartikel, seperti ukuran partikel, muatan permukaan. Pada pH pembentukan nanopartikel pektin yang lebih rendah, nanopartikel pektin tersebut cenderung memiliki muatan permukaan positif. Hal ini dapat menghasilkan tarikan elektrostatik antara muatan permukaan positif pada nanopartikel pektin

dan XOS yang memiliki muatan negatif. Akibatnya, pelepasan XOS dari nanopartikel pektin pada pH rendah cenderung menjadi lebih terbatas.

Sebaliknya, pada pH pembentukan nanopartikel yang lebih tinggi, nanopartikel pektin dapat memiliki muatan permukaan negatif. Ini dapat menyebabkan tolakan elektrostatik antara muatan permukaan negatif nanopartikel pektin dan XOS yang juga memiliki muatan negatif. Sebagai hasilnya, pelepasan XOS dari nanopartikel pektin pada pH tinggi cenderung menjadi lebih meningkat.

Pada pH Pembentukan nanopartikel pektin yang tinggi seperti pada sampel 7 dan 8, muatan permukaan pada nanopartikel pektin akan menjadi positif akibat protonasi dari gugus karbonil pada asam galakturonat ketika diinkubasi pada simulasi lambung yaitu pH 2. Hal tersebut dapat menghasilkan tarikan elektrostatik pada nanopartikel pektin dan XOS sehingga mencegah pelepasan XOS terjadi. Hal berbeda akan terjadi pada sampel pH 7 dan 8 yang memiliki pH pembentukan nanopartikel yang tinggi. Ketika kedua sampel tersebut diinkubasi pada saluran pencernaan bawah yaitu pada kolon, proses tolakan elektrostatik antara nanopartikel pektin dan XOS akan semakin kuat, sehingga pelepasan XOS akan terjadi secara maksimal.

Penelitian tentang pelepasan bahan aktif dari sistem nanopartikel pektin secara *In-vitro* juga dilakukan oleh Yener *et al.*, (2022). Penelitian tersebut menunjukkan pelepasan melatonin dari sistem nanopartikel pektin sebesar $84.0 \pm 0.7\%$ yang dilakukan inkubasi selama 8 jam pada kolon. Studi terkait pelepasan zat aktif dari sistem nanopartikel pektin juga telah dilakukan oleh Tan *et al.*, (2018) menggunakan metode yang serupa untuk menguji pelepasan probiotik dari nanopartikel pektin pada lingkungan usus manusia. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pelepasan probiotik dapat dipengaruhi oleh pH dan waktu inkubasi.

Kesimpulan dari penelitian pelepasan XOS dari sistem nanopartikel pektin secara *In-Vitro* dipengaruhi oleh simulasi pH lingkungan pencernaan tubuh. Pada pH yang lebih rendah (seperti pH lambung), pelepasan XOS sangat sedikit, sedangkan pada pH yang lebih tinggi (seperti pH kolon), pelepasan XOS

meningkat. Pola pelepasan XOS dari sistem nanopartikel pektin ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan pada pH yang berbeda.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Karakteristik fisik nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 pada sampel pH 7 dan pH 8 menunjukkan ukuran rata-rata yang tidak berbeda signifikan, yaitu sebesar 47,27 nm dan 46,27 nm, serta zeta potensial rata-rata pada sampel pH 7 yaitu -30,83 dan pH 8 sebesar -29,20.
2. Efisiensi enkapsulasi prebiotik xilooligosakarida dalam enkapsulan pektin-kalsium-tween 80 pada sampel pH 7 lebih tinggi daripada pada sampel pH 8, yaitu masing-masing sebesar 95,508% dan 88,37%.
3. Kemampuan enkapsulan pektin-kalsium-tween 80 dalam pelepasan xilooligosakarida terhadap target kolon secara *in-vitro* menunjukkan bahwa pelepasan paling tinggi terjadi pada pH 7,4 (kolon) untuk sampel pH 7 dan pH 8 pada jam ke-5, dengan masing-masing pelepasan sebesar 13,489% dan 20,188%.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya agar dilakukan penelitian lebih lanjut terkait pengaruh berbagai parameter pada pembuatan nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 untuk meningkatkan karakteristik fisiknya. Mengkaji pengaruh variasi konsentrasi pektin, kalsium, dan tween 80 terhadap karakteristik fisik nanopartikel serta efisiensi enkapsulasi dan pelepasan xilooligosakarida. Penelitian selanjutnya juga dapat dilakukan dengan mempertimbangkan faktor-faktor seperti aktivitas enzim dan kemampuan antioksidan nanopartikel pektin-kalsium-tween 80 saat dilakukan uji *in-vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, M. Z., Akhter, S., Ahmad, I., Singh, A., Anwar, M., Shamim, M., & Ahmad, F. J. (2012). In vitro and in vivo evaluation of Assam Bora rice starch-based bioadhesive microsphere as a drug carrier for colon targeting. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 9(2), 141–149
- Balmayor, E. R., Azevedo, H. S., & Reis, R. L. (2011). Controlled delivery systems: From pharmaceuticals to cells and genes. *Pharmaceutical Research*, 28(6), 1241–1258
- Bhatia, M. S., Choudhari, P., Bhatia, N. M., & Deshmukh, R. (2008). Chemical modification of pectins, characterization and evaluation for drug delivery. *Scientia Pharmaceutica*, 76(4), 775–784
- Chakraborty, S., Nayak, P., Krishna, B. M., Khandai, M., & Ghosh, A. K. (2012). Preparation and preclinical evaluation of aceclofenac loaded pectinate mucoadhesive microspheres. *Drugs and Therapy Studies*, 2(1), 8
- Chambin, O., Dupuis, G., Champion, D., Voilley, A., & Pourcelot, Y. (2006). Colon-specific drug delivery: Influence of solution reticulation properties upon pectin beads performance. *International Journal of Pharmaceutics*, 321(1–2), 86–93
- Chen, L., Liu, X., Li, X., Xu, T., Lu, Y., Hu, X., ... & Jiang, Q. (2021). Preparation of pH-responsive nanoparticles based on pectin-k-casein for oral delivery of curcumin. *Food & function*, 12(10), 4528–4539.
- Das, S., Ng, K. Y., & Ho, P. C. (2010). Formulation and optimization of zinc-pectinate beads for the controlled delivery of resveratrol. *AAPS PharmSciTech*, 11(2), 729–742
- Deng, Q., Zhong, Q., Yang, B., & Sun, J. (2018). Formation and characterization of pectin nanoparticles for improved drug delivery. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(17), 4458–4465
- Dhalleine, C., Assifaoui, A., Moulari, B., Pellequer, Y., Cayot, P., Lamprecht, A., & Chambin, O. (2011). Zinc-pectinate beads as an in vivo self-assembling system for pulsatile drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*,

414(1–2), 28–34

- Ding, H. M., & Ma, Y. Q. (2013). Controlling cellular uptake of nanoparticles with pH-sensitive polymers. *Scientific Reports*, 3, 3–8
- Dogan Ergin, A., Bayindir, Z. S., Ozcelikay, A. T., & Yuksel, N. (2021). A novel delivery system for enhancing bioavailability of S-adenosyl-L-methionine: Pectin nanoparticles-in-microparticles and their in vitro - in vivo evaluation'. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61(t formulation parameters on physicochemical characteristics of pectin nanoparticles prepared by ionic-gelation method were estimated by a factorial design. The studied formulation variables were different amounts of drug, pectin and crosslinking agent. NI).
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2012). Spray drying, freeze drying and related processes for food ingredient and nutraceutical encapsulation. In *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals*. Elsevier Masson SAS
- Febriani, N. I., Ridlo, A., & Susanto, A. B. (2014). *POTENSI YEAST DALAM FERMENTASI ALGINOFIT Sargassum polycystum C . A Agardh DENGAN HIDROLISIS ASAM SULFAT UNTUK PEMBUATAN BIOETANOL. 2.*
- Fröhlich, E., & Roblegg, E. (2012). Models for oral uptake of nanoparticles in consumer products. *Toxicology*, 291(1–3), 10–17.
- Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. Van, Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17(2), 259–275.
- Gupta, P. K. (2016). *A review on xylooligosaccharides. August 2012.*
- Iijima, M., Nakamura, K., Hatakeyama, T., & Hatakeyama, H. (2000). Phase transition of pectin with sorbed water. *Carbohydrate Polymers*, 41(1), 101–106.
- Iswandana, R., Zufri, M., & Elfionora Anwar. (2013). Formulasi Nanopartikel Verapamil Hidroklorida dari Kitosan dan Natrium Tripolifosfat dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 6: 4(April 2014), 201–210.
- Jonassen, H. (2014). *Polysaccharide based nanoparticles for drug delivery*

applications.

- Jonassen, H., Treves, A., Kjøniksen, A. L., Smistad, G., & Hiorth, M. (2013). Preparation of ionically cross-linked pectin nanoparticles in the presence of chlorides of divalent and monovalent cations. *Biomacromolecules*, *14*(10), 3523–3531.
- Jong, W. H. De, & Paul, J. B. (2008). Drug delivery and nanoparticles : Applications and hazards. *International Journal of Nanomedicine*, *3*(2), 133–149.
- Jung, J., Arnold, R. D., & Wicker, L. (2013). Pectin and charge modified pectin hydrogel beads as a colon-targeted drug delivery carrier. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *104*, 116–121.
- Krivorotova, T., Cirkovas, A., Maciulyte, S., Staneviciene, R., Budriene, S., Serviene, E., & Sereikaite, J. (2016). Nisin-loaded pectin nanoparticles for food preservation. *Food Hydrocolloids*, *54*, 49–56.
- Kumari, A., Yadav, S. K., & Yadav, S. C. (2010). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *75*(1), 1–18.
- Liu, R., Li, Y., Yang, M., Zhang, J., Zhang, Y., & Feng, N. (2019). Self-assembled pectin nanoparticles for improving oral absorption of oleanolic acid: in vitro and in vivo evaluations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *67*(15), 4175–4183.
- Liu, R., Zou, Y., Hong, Y., Luo, C., Deng, L., & Deng, J. (2020). pH-Sensitive Cellulose Nanoparticles for Drug Delivery: Enzymatic Hydrolysis, Drug Release, and Stability Study. *Carbohydrate Polymers*, *230*, 115658.
- Macfarlane, S., Macfarlane, G. T., & Cummings, J. H. (2006). *Review article : prebiotics in the gastrointestinal tract. June*, 701–714.
- Majhi, S.M., Mishra, R., Mahapatra, U.K., Mishra, B.K., Behera, B. (2017). Pectin nanoparticles as an intelligent carrier for curcumin delivery to cancer cells. *Carbohydrate Polymers*, *174*, 37–48.
- Mardiyati, E., Muttaqien, S. El, & Setyawati, D. R. (2012). Sintesis Nanopartikel Kitosan- Trypoly Phosphate Dengan Metode Gelasi Ionik : Pengaruh

- Konsentrasi Dan Rasio Volume Terhadap Karakteristik Partikel. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan Dan Teknologi Bahan*, 90–93.
- Martien, R., Adhyatmika, Irianto, I. D. K., Farida, V., & Sari, D. P. (2012). Perkembangan teknologi nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat. *Majalah Farmaseutik*, 8(1), 133–144.
- Martien, R., Sa'adah, N., & Saifullah, T. N. S. (2016). Formulation and characterization insulin nanoparticle using low molecular weight chitosan and pectin polymers with ionic gelation method. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(5).
- Merisko-Liversidge, E. M., & Liversidge, G. G. (2008). Drug Nanoparticles: Formulating Poorly Water-Soluble Compounds. *Toxicologic Pathology*, 36(1), 43–48.
- Morris, G. A., Kök, S. M., Harding, S. E., & Adams, G. G. (2010). Polysaccharide drug delivery systems based on pectin and chitosan. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 27(1), 257–284.
- Muhtadi, W. K., Novitasari, L., Martien, R., & Danarti, R. (2019). Factorial design as the method in the optimization of timolol maleate-loaded nanoparticle prepared by ionic gelation technique. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11(5).
- Mun, S. P., Seo, J. Y., Kim, H. J., Hwang, J. K., & Yang, H. S. (2019). Preparation and characterization of pectin nanoparticles for intestinal delivery of quercetin. *Journal of food science and technology*, 56(7), 3299–3307.
- Murdock, R. C., Braydich-Stolle, L., Schrand, A. M., Schlager, J. J., & Hussain, S. M. (2008). Characterization of nanomaterial dispersion in solution prior to in vitro exposure using dynamic light scattering technique. *Toxicological sciences*, 101(2), 239–253.
- Nadia, L. M. H., Suptijah, P., & Ibrahim, B. (2014). Production and Characterization Chitosan Nano from Black Tiger Shrimp with Ionic Gelation Methods. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(2), 119–126.
- Opanasopit, P., Apirakaramwong, A., Ngawhirunpat, T., Rojanarata, T., &

- Ruktanonchai, U. (2008). Development and characterization of pectinate micro/nanoparticles for gene delivery. *AAPS PharmSciTech*, 9(1), 67–74.
- Ovodov, Y. S. (2009). Current views on pectin substances. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 35(3), 269–284.
- Petros, R. A., & Desimone, J. M. (2010). Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9(8), 615–627.
- Plapied, L., Duhem, N., des Rieux, A., & Pr at, V. (2011). Fate of polymeric nanocarriers for oral drug delivery. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 16(3), 228–237.
- Rabanel, J. M., Latreille, P. L., Lalloz, A., Hildgen, P., & Banquy, X. (2017). Nanostructured nanoparticles for improved drug delivery. In *Nanostructures for Drug Delivery*. Elsevier Inc.
- Racovi a,  ., Vasiliu, S., Popa, M., & Luca, C. (2009). Polysaccharides based on micro- and nanoparticles obtained by ionic gelation and their applications as drug delivery systems. *Revue Roumaine de Chimie*, 54(9), 709–718.
- Raftari, M., Jafari, S.M., Mortazavian, A.M., Koushki, M.R., Khomeiri, M. (2015). Nanotechnology in food science: Functionality, applicability, and safety assessment. *Journal of Food Science*, 80(6), R1316-R1327.
- Rani, S., Sharma, A. K., Khan, I., Gothwal, A., Chaudhary, S., & Gupta, U. (2017). Polymeric Nanoparticles in Targeting and Delivery of Drugs. In *Nanotechnology-Based Approaches for Targeting and Delivery of Drugs and Genes*. Elsevier Inc.
- Sahu, A. K., Kumar, T., & Jain, V. (2014). Formulation optimization of erythromycin solid lipid nanocarrier using response surface methodology. *BioMed Research International*, 2014.
- Salgin, S., Salgin, U., & Bahadir, S. (2012). Zeta potentials and isoelectric points of biomolecules: The effects of ion types and ionic strengths. *International Journal of Electrochemical Science*, 7(12), 12404–12414.
- Shaikh, R. P., Pillay, V., Choonara, Y. E., Toit, L. C. D., Ndesendo, V. M. K., Kumar, P., & Khan, R. A. (2012). The application of a crosslinked pectin-based wafer matrix for gradual buccal drug delivery. *Journal of Biomedical*

Materials Research - Part B Applied Biomaterials, 100 B(4), 1029–1043.

Sharma, R., Ahuja, M., & Kaur, H. (2012). Thiolated pectin nanoparticles: Preparation, characterization and ex vivo corneal permeation study. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1606–1610.

Shukla, S., Verma, K., Jain, D., & Verma, S. (2011). Pectin-based colon-specific drug delivery. *Chronicles of Young Scientists*, 2(2), 83.

Singh, R., & Lillard, J. W. (2009). Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and Molecular Pathology*, 86(3), 215–223.

Sun, Y., Gao, J., Zhang, Y., Chen, X., Qian, Y., Zhang, L., Sun, X. (2019). Preparation of chitosan-pectin nanoparticles for curcumin encapsulation and their characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 207-215.

Suwarno, R. A., Manaf, A., & Hidayat, C. (2021). Synthesis and characterization of pectin nanoparticles as xylo-oligosaccharides carrier. *Journal of Physics: Conference Series*, 1818(1), 012047.

Titus, D., James Jebaseelan Samuel, E., & Roopan, S. M. (2019). Nanoparticle characterization techniques. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*. Elsevier Inc.

Tan, W., Li, Y., Chen, M., Wang, Y., & Chen, Y. (2018). pH-sensitive chitosan/pectin composite nanogels for controlled release of probiotics. *Carbohydrate Polymers*, 193, 1-8

Tiwari, G., Tiwari, R., Bannerjee, S., Bhati, L., Pandey, S., Pandey, P., & Sriwastawa, B. (2012). Drug delivery systems: An updated review. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 2(1), 2.

Wang, L., Li, X., & Zhang, L. (2019). Preparation and characterization of pectin nanoparticles for encapsulation of xylooligosaccharide. *Food Chemistry*, 289, 284-291.

Wang, Y., & Zhang, L. (2019). Encapsulation of Xylooligosaccharides (XOS) in Pectin Nanoparticles: Preparation, Characterization, and In Vitro Release Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(48), 13334-13343.

Wong, T. W., & Sumiran, N. (2014). Oral calcium pectinate-insulin nanoparticles:

Influences of alginate, sodium chloride and Tween 80 on their blood glucose lowering performance. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66(5), 646–657.

Yener, S., Akbulut, K. G., Karakuş, R., Erdoğan, D., & Acartürk, F. (2022). Development of melatonin loaded pectin nanoparticles for the treatment of inflammatory bowel disease: In vitro and in vivo studies. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 67.

Yu, C. Y., Cao, H., Zhang, X. C., Zhou, F. Z., Cheng, S. X., Zhang, X. Z., & Zhuo, R. X. (2009). Hybrid nanospheres and vesicles based on pectin as drug carriers. *Langmuir*, 25(19), 11720–11726.

Zhang, Y., Ma, S., Wu, T., Jiang, B., Liu, H., & Yin, X. (2020). Preparation and characterization of pectin/xylooligosaccharide nanoparticles for potential probiotics encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 238, 116157.

Zhao, L., Zhang, L., Chen, J., Tang, X., & Zhang, Z. (2021). Preparation and characterization of curcumin-loaded carboxymethyl chitosan nanoparticles with improved water solubility and sustained release properties. *International journal of biological macromolecules*, 173, 109-117.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1

Preparasi Larutan Buffer

1. Larutan Buffer Potasium Klorida pH 2

Konsentrasi KCl dan HCl yang digunakan adalah 0,2 M. Massa yang dibutuhkan untuk membuat KCl 0,2 M sebanyak 1,49 gram. Untuk mendapatkan pH 2 dengan tepat, sebanyak 50 mL KCl di dalam labu ukur 200 mL. kemudian ditambahkan sebanyak 13 mL larutan HCl 0,2 M dan dilanjutkan pengenceran hingga tanda batas labu ukur (sumber: [usp31nf26s1 buffer-solutions, Reagents: Buffer Solutions \(uspbpep.com\)](http://usp31nf26s1.buffer-solutions.Reagents.BufferSolutions.uspbpep.com))

$$\begin{aligned} \text{Massa KCl} &= \frac{[\text{KCl}] M \times Mr \text{ KCl} \times \text{volume pelarut (mL)}}{1000} \\ &= \frac{0,2 \text{ mol/L} \times 74,55 \text{ g/mol} \times 100 \text{ mL}}{1000 \text{ mL/L}} = 1,49 \text{ gram} \end{aligned}$$

2. Larutan Buffer Phospat pH 5.6

Konsentrasi NaH_2PO_4 dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ yang digunakan adalah 0,1 M. Massa yang dibutuhkan untuk membuat NaH_2PO_4 dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 M adalah masing-masing sebanyak 1,19 gram dan 1,78 gram. Untuk mendapatkan pH 5,6 dengan tepat, sebanyak 25 mL NaH_2PO_4 diteteskan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ hingga mencapai pH 5,6.

$$\begin{aligned} \text{Massa NaH}_2\text{PO}_4 &= \frac{[\text{NaH}_2\text{PO}_4] M \times Mr \text{ NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{volume pelarut (mL)}}{1000} \\ &= \frac{0,1 \text{ mol/L} \times 119,4 \text{ g/mol} \times 100 \text{ mL}}{1000 \text{ mL/L}} = 1,19 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa Na}_2\text{HPO}_4 &= \frac{[\text{Na}_2\text{HPO}_4] M \times Mr \text{ Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{volume pelarut (mL)}}{1000} \\ &= \frac{0,1 \text{ mol/L} \times 177,99 \text{ g/mol} \times 100 \text{ mL}}{1000 \text{ mL/L}} = 1,78 \text{ gram} \end{aligned}$$

3. Larutan Buffer Phosphat pH 7,4

Konsentrasi NaH_2PO_4 dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ yang digunakan adalah 0,1 M. Massa yang dibutuhkan untuk membuat NaH_2PO_4 dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 M adalah masing-masing sebanyak 1,19 gram dan 1,78 gram. Untuk mendapatkan pH 5,6 dengan tepat, sebanyak 25 mL $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ diteteskan NaH_2PO_4 hingga mencapai pH 5,6.

$$\begin{aligned} \text{Massa NaH}_2\text{PO}_4 &= \frac{[\text{NaH}_2\text{PO}_4] M \times Mr \text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{volume pelarut (mL)}}{1000} \\ &= \frac{0,1 \text{ mol/L} \times 119,4 \text{ g/mol} \times 100 \text{ mL}}{1000 \text{ mL/L}} = 1,19 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa Na}_2\text{HPO}_4 &= \frac{[\text{Na}_2\text{HPO}_4] M \times Mr \text{Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{volume pelarut (mL)}}{1000} \\ &= \frac{0,1 \text{ mol/L} \times 177,99 \text{ g/mol} \times 100 \text{ mL}}{1000 \text{ mL/L}} = 1,78 \text{ gram} \end{aligned}$$

LAMPIRAN 2

Pembuatan Kurva Standar Xilooligosakarida (X₃)

1. Pembuatan Larutan Standar Xilooligosakarida (X₃)

Pembuatan larutan standar xilooligosakarida dimulai dengan membuat larutan stok yaitu 500 ppm = 0,5 mg/mL, sehingga:

Stok xilooligosakarida 500 ppm = $\frac{0.005 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} = 0,005 \text{ gram}$ dilarutkan dalam 10 mL

akuadenim

Larutan standar dibuat dengan variasi konsentrasi larutan standar xilooligosakarida yaitu:

- a. Larutan standar xilooligosakarida 0,02 mg/mL = 20 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \cdot V_2}{M_1} = \frac{0.02 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \cdot 1 \text{ mL}}{0,5 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}} = 0,04 \text{ mL}$$

- b. Larutan standar xilooligosakarida 0,04 mg/mL = 40 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \cdot V_2}{M_1} = \frac{0.04 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \cdot 1 \text{ mL}}{0,5 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}} = 0,08 \text{ mL}$$

- c. Larutan standar xilooligosakarida 0,06 mg/mL = 60 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \cdot V_2}{M_1} = \frac{0.06 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \cdot 1 \text{ mL}}{0,5 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}} = 0,12 \text{ mL}$$

- d. Larutan standar xilooligosakarida 0,08 mg/mL = 80 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \cdot V_2}{M_1} = \frac{0.08 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \cdot 1 \text{ mL}}{0,5 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}} = 0,16 \text{ mL}$$

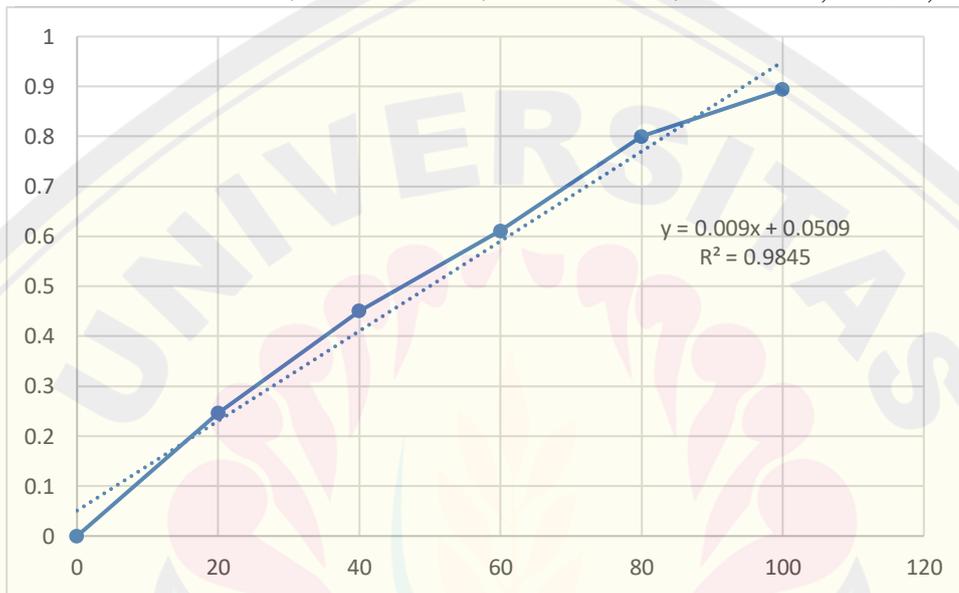
- e. Larutan standar xilooligosakarida 0,1 mg/mL = 100 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \cdot V_2}{M_1} = \frac{0.1 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \cdot 1 \text{ mL}}{0,5 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}} = 0,2 \text{ mL}$$

2. Kurva Standar Xilooligosakarida (X₃)

Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi			Rata-rata ± SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
0	0	0	0	0
20	0,254	0,245	0,24	0,246 ± 0,007
40	0,446	0,457	0,45	0,451 ± 0,005
60	0,609	0,612	0,612	0,611 ± 0,002
80	0,793	0,807	0,8	0,8 ± 0,007
100	0,889	0,897	0,912	0,899 ± 0,012



Gambar 1. Kurva Standar Xilooligosakarida

LAMPIRAN 3Efisiensi Enkapsulasi Xilooligosakarida (X₃)**1. Konsentrasi xilooligosakarida pada supernatan pH 7**

a. $y = mx + C$

$$y = 0,009x + 0,0509$$

$$0,263 = 0,009x + 0,0509$$

$$x = \frac{0,263 - 0,0509}{0,009} = 23,57 \text{ ppm}$$

b. $y = mx + C$

$$y = 0,009x + 0,0509$$

$$0,239 = 0,009x + 0,0509$$

$$x = \frac{0,239 - 0,0509}{0,009} = 20,90 \text{ ppm}$$

c. $y = mx + C$

$$y = 0,009x + 0,0509$$

$$0,257 = 0,009x + 0,0509$$

$$x = \frac{0,257 - 0,0509}{0,009} = 22,90 \text{ ppm}$$

2. Konsentrasi xilooligosakarida pada supernatant pH 8

a. $y = mx + C$

$$y = 0,009x + 0,0509$$

$$0,559 = 0,009x + 0,0509$$

$$x = \frac{0,559 - 0,0509}{0,009} = 56,46 \text{ ppm}$$

b. $y = mx + C$

$$y = 0,009x + 0,0509$$

$$0,566 = 0,009x + 0,0509$$

$$x = \frac{0,566 - 0,0509}{0,009} = 57,23 \text{ ppm}$$

c. $y = mx + C$

$$y = 0,009x + 0,0509$$

$$0,597 = 0,009x + 0,0509$$

$$x = \frac{0,597 - 0,0509}{0,009} = 60,68 \text{ ppm}$$

Sampel	Absorbansi Supernatan			[XOS] Supernatan (ppm)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
pH 7	0,263	0,239	0,257	23,57	20,90	22,90
pH 8	0,559	0,566	0,597	56,46	57,23	60,68

3. Efisiensi Enkapsulasi Xilooligosakarida (X₃) pH 7

$$a. EE(\%) = \frac{\text{Jumlah XOS yang digunakan} - \text{Jumlah XOS bebas}}{\text{Jumlah XOS yang digunakan}} \times 100\%$$

$$EE(\%) = \frac{500 \text{ ppm} - 23,57 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \times 100\% = 95,29\%$$

$$b. EE(\%) = \frac{\text{Jumlah XOS yang digunakan} - \text{Jumlah XOS bebas}}{\text{Jumlah XOS yang digunakan}} \times 100\%$$

$$EE(\%) = \frac{500 \text{ ppm} - 20,90 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \times 100\% = 95,82\%$$

$$c. EE(\%) = \frac{\text{Jumlah XOS yang digunakan} - \text{Jumlah XOS bebas}}{\text{Jumlah XOS yang digunakan}} \times 100\%$$

$$EE(\%) = \frac{500 \text{ ppm} - 22,90 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \times 100\% = 95,42\%$$

4. Efisiensi Enkapsulasi Xilooligosakarida (X₃) pH 8

$$a. EE(\%) = \frac{\text{Jumlah XOS yang digunakan} - \text{Jumlah XOS bebas}}{\text{Jumlah XOS yang digunakan}} \times 100\%$$

$$EE(\%) = \frac{500 \text{ ppm} - 56,46 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \times 100\% = 88,71\%$$

$$b. EE(\%) = \frac{\text{Jumlah XOS yang digunakan} - \text{Jumlah XOS bebas}}{\text{Jumlah XOS yang digunakan}} \times 100\%$$

$$EE(\%) = \frac{500 \text{ ppm} - 57,23 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \times 100\% = 88,55\%$$

$$c. EE(\%) = \frac{\text{Jumlah XOS yang digunakan} - \text{Jumlah XOS bebas}}{\text{Jumlah XOS yang digunakan}} \times 100\%$$

$$EE(\%) = \frac{500 \text{ ppm} - 60,68 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \times 100\% = 87,86\%$$

Sampel	[XOS] Supernatan (ppm)			Efisiensi Enkapsulasi (%)			Rata-rata ± SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
pH 7	23,57	20,9	22,9	95,29	95,82	95,42	95,508 ± 0,278
pH 8	56,46	57,23	60,68	88,71	88,55	87,86	88,37 ± 0,449



LAMPIRAN 4

Konsentrasi Xilooligosakarida (X_3) disetiap jam pada kondisi pH pencernaan

1. Sampel Nanopartikel pH 7 pada jam pertama di buffer pH 2

$$y = mx + C$$

$$y = 0,009x + 0.0509$$

$$0,241 = 0,009x + 0,0509$$

$$x = \frac{0,241-0,0509}{0,009} = 21,12 \text{ ppm}$$

Waktu Inkubasi (Jam)	Absorbansi XOS			[XOS] ppm			Rata-rata [XOS] ppm
	UL 1	UL 2	UL 3	UL 1	UL 2	UL 3	
1	0,241	0,244	0,244	21,12	21,46	21,46	21,34
2	0,255	0,248	0,248	22,68	21,90	21,90	22,16
3	0,273	0,264	0,267	24,68	23,68	24,01	24,12
4	0,277	0,271	0,269	25,12	24,46	24,23	24,60
5	0,275	0,267	0,279	24,90	24,01	25,34	24,75

2. Sampel Nanopartikel pH 7 pada jam pertama di buffer pH 5,6

$$y = mx + C$$

$$y = 0,009x + 0.0509$$

$$0,287 = 0,009x + 0.0509$$

$$x = \frac{0,287-0,0509}{0,009} = 26,90 \text{ ppm}$$

Waktu Inkubasi (Jam)	Absorbansi XOS			[XOS] ppm			Rata-rata [XOS] ppm
	UL 1	UL 2	UL 3	UL 1	UL 2	UL 3	
1	0,287	0,293	0,294	26,23	26,90	27,01	26,71
2	0,299	0,289	0,287	27,57	26,46	26,23	26,75
3	0,312	0,304	0,304	29,01	28,12	28,12	28,42
4	0,356	0,35	0,359	33,90	33,23	34,23	33,79
5	0,36	0,374	0,363	34,34	35,90	34,68	34,97

3. Sampel Nanopartikel pH 7 pada jam pertama di buffer pH 7,4

$$y = mx + C$$

$$y = 0,009x + 0.0509$$

$$0,294 = 0,009x + 0.0509$$

$$x = \frac{0,294-0,0509}{0,009} = 27,01 \text{ ppm}$$

Waktu Inkubasi (Jam)	Absorbansi XOS			[XOS] ppm			Rata-rata [XOS] ppm
	UL 1	UL 2	UL 3	UL 1	UL 2	UL 3	
1	0,294	0,289	0,293	27,01	26,46	26,90	26,79
2	0,316	0,313	0,317	29,46	29,12	29,57	29,38
3	0,516	0,523	0,522	51,68	52,46	52,34	52,16
4	0,616	0,621	0,61	62,79	63,34	62,12	62,75
5	0,817	0,813	0,813	85,12	84,68	84,68	84,83

4. Sampel Nanopartikel pH 8 pada jam pertama di buffer pH 2

$$y = mx + C$$

$$y = 0,009x + 0.0509$$

$$0,651 = 0,009x + 0.0509$$

$$x = \frac{0,651 - 0,0509}{0,009} = 66,68 \text{ ppm}$$

Waktu Inkubasi (Jam)	Absorbansi XOS			[XOS] ppm			Rata-rata [XOS] ppm
	UL 1	UL 2	UL 3	UL 1	UL 2	UL 3	
1	0,651	0,657	0,655	66,68	67,34	67,12	67,05
2	0,692	0,687	0,692	71,23	70,68	71,23	71,05
3	0,697	0,698	0,703	71,79	71,90	72,46	72,05
4	0,718	0,71	0,713	74,12	73,23	73,57	73,64
5	0,732	0,725	0,73	75,68	74,90	75,46	75,34

5. Sampel Nanopartikel pH 8 pada jam pertama di buffer pH 5,6

$$y = mx + C$$

$$y = 0,009x + 0.0509$$

$$0,666 = 0,009x + 0.0509$$

$$x = \frac{0,666 - 0,0509}{0,009} = 68,34 \text{ ppm}$$

Waktu Inkubasi (Jam)	Absorbansi XOS			[XOS] ppm			Rata-rata [XOS] ppm
	UL 1	UL 2	UL 3	UL 1	UL 2	UL 3	
1	0,666	0,671	0,662	68,34	68,90	67,90	68,38
2	0,692	0,698	0,698	71,23	71,90	71,90	71,68
3	0,712	0,715	0,711	73,46	73,79	73,34	73,53
4	0,735	0,733	0,733	76,01	75,79	75,79	75,86
5	0,789	0,785	0,793	82,01	81,57	82,46	82,01

6. Sampel Nanopartikel pH 8 pada jam pertama di buffer pH 7,4

$$y = mx + C$$

$$y = 0,009x + 0.0509$$

$$0,712 = 0,009x + 0.0509$$

$$x = \frac{0,712-0,0509}{0,009} = 73,46 \text{ ppm}$$

Waktu Inkubasi (Jam)	Absorbansi XOS			[XOS] ppm			Rata-rata [XOS] ppm
	UL 1	UL 2	UL 3	UL 1	UL 2	UL 3	
1	0,712	0,712	0,717	73,46	73,46	74,01	73,64
2	0,799	0,807	0,81	83,12	84,01	84,34	83,83
3	0,927	0,931	0,931	97,34	97,79	97,79	97,64
4	1,022	1,026	1,032	107,90	108,34	109,01	108,42
5	1,423	1,419	1,421	152,46	152,01	152,23	152,23

LAMPIRAN 5

Absorbansi Awal Sampel

Sampel Nanopartikel	Absorbansi XOS			[XOS] ppm			Rata-rata [XOS] ppm	[XOS] ppm Enkapsulasi
	UL 1	UL 2	UL 3	UL 1	UL 2	UL 3		
pH 7	0,225	0,239	0,231	19,34	20,90	20,01	20,09	479,91
pH 8	0,641	0,608	0,639	65,57	61,90	65,34	64,27	435,73

[XOS] yang terjerap:

$$[XOS]_{\text{terjerap}} = \text{Jumlah [XOS] yang digunakan} - \text{Jumlah [XOS] bebas}$$

1. Sampel pH 7

$$[XOS]_{\text{terjerap}} = \text{Jumlah [XOS] yang digunakan} - \text{Jumlah [XOS] bebas}$$

$$[XOS]_{\text{terjerap}} = 500 \text{ ppm} - 20,09 \text{ ppm} = 479,91 \text{ ppm}$$

2. Sampel pH 8

$$[XOS]_{\text{terjerap}} = \text{Jumlah [XOS] yang digunakan} - \text{Jumlah [XOS] bebas}$$

$$[XOS]_{\text{terjerap}} = 500 \text{ ppm} - 64,27 \text{ ppm} = 435,73 \text{ ppm}$$

Sampel pH 7

Buffer	Rata-rata [XOS] ppm per Jam	Rata-rata [XOS] ppm Mula-mula	Rata-rata [XOS] ppm Lepas
Buffer pH 2	21,34	20,09	1,25
	22,16	20,09	2,07
	24,12	20,09	4,03
	24,60	20,09	4,51
	24,75	20,09	4,66
Buffer pH 5,6	26,71	20,09	6,62
	26,75	20,09	6,66
	28,42	20,09	8,33
	33,79	20,09	13,70
	34,97	20,09	14,88
Buffer pH 7,4	26,79	20,09	6,70
	29,38	20,09	9,29
	52,16	20,09	32,07
	62,75	20,09	42,66
	84,83	20,09	64,74

Buffer	Rata-rata [XOS] ppm per Jam	Rata-rata [XOS] ppm Mula-mula	Rata-rata [XOS] ppm Lepas
Buffer pH 2	67,05	64,27	2,78
	71,05	64,27	6,78
	72,05	64,27	7,78
	73,64	64,27	9,37
	75,34	64,27	11,07
Buffer pH 5,6	68,38	64,27	4,11
	71,68	64,27	7,41
	73,53	64,27	9,26
	75,86	64,27	11,59
	82,01	64,27	17,74
Buffer pH7,4	73,64	64,27	9,37
	83,83	64,27	19,56
	97,64	64,27	33,37
	108,42	64,27	44,15
	152,23	64,27	87,96

% Pelepasan Xilooligosakarida

1. % Pelepasan XOS Enkapsulan pH 7

$$\% \text{Pelepasan XOS} = \frac{[\text{XOS}] \text{ tiap jam selama inkubasi}}{[\text{XOS}] \text{ terenkapsulasi}} \times 100\%$$

$$\% \text{Pelepasan XOS} = \frac{1,25 \text{ ppm}}{479,91 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,261\%$$

Buffer pH 2

Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata [XOS] ppm	[XOS] Enkap ppm	% Pelepasan ± SD
1	1,25	479,91	0,261 ± 0,192
2	2,07	479,91	0,431 ± 0,449
3	4,03	479,91	0,840 ± 0,509
4	4,51	479,91	0,941 ± 0,463
5	4,66	479,91	0,971 ± 0,679

Buffer pH 5,6

Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata [XOS] ppm	[XOS] Enkap ppm	% Pelepasan ± SD
1	6,62	479,91	1,380 ± 0,421
2	6,66	479,91	1,388 ± 0,714
3	8,33	479,91	1,735 ± 0,513
4	13,70	479,91	2,854 ± 0,509
5	14,88	479,91	3,101 ± 0,819

Buffer pH 7,4

Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata [XOS] ppm	[XOS] Enkap ppm	% Pelepasan ± SD
1	6,70	479,91	1,396 ± 0,294
2	9,29	479,91	1,936 ± 0,231
3	32,07	479,91	6,682 ± 0,357
4	42,66	479,91	8,890 ± 0,449
5	64,74	479,91	13,489 ± 0,401

2. % Pelepasan XOS Enkapsulan pH 8

$$\% \text{Pelepasan XOS} = \frac{[\text{XOS}] \text{ tiap jam selama inkubasi}}{[\text{XOS}] \text{ terenkapsulasi}} \times 100\%$$

$$\% \text{Pelepasan XOS} = \frac{3,00 \text{ ppm}}{435,73 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,688\%$$

Buffer pH 2

Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata [XOS] ppm	[XOS] Enkap ppm	% Pelepasan ± SD
1	3,00	435,73	0,688 ± 0,339
2	7,00	435,73	1,606 ± 0,321
3	8,00	435,73	1,836 ± 0,357
4	9,59	435,73	2,201 ± 0,449
5	11,29	435,73	2,592 ± 0,401

Buffer pH 5,6

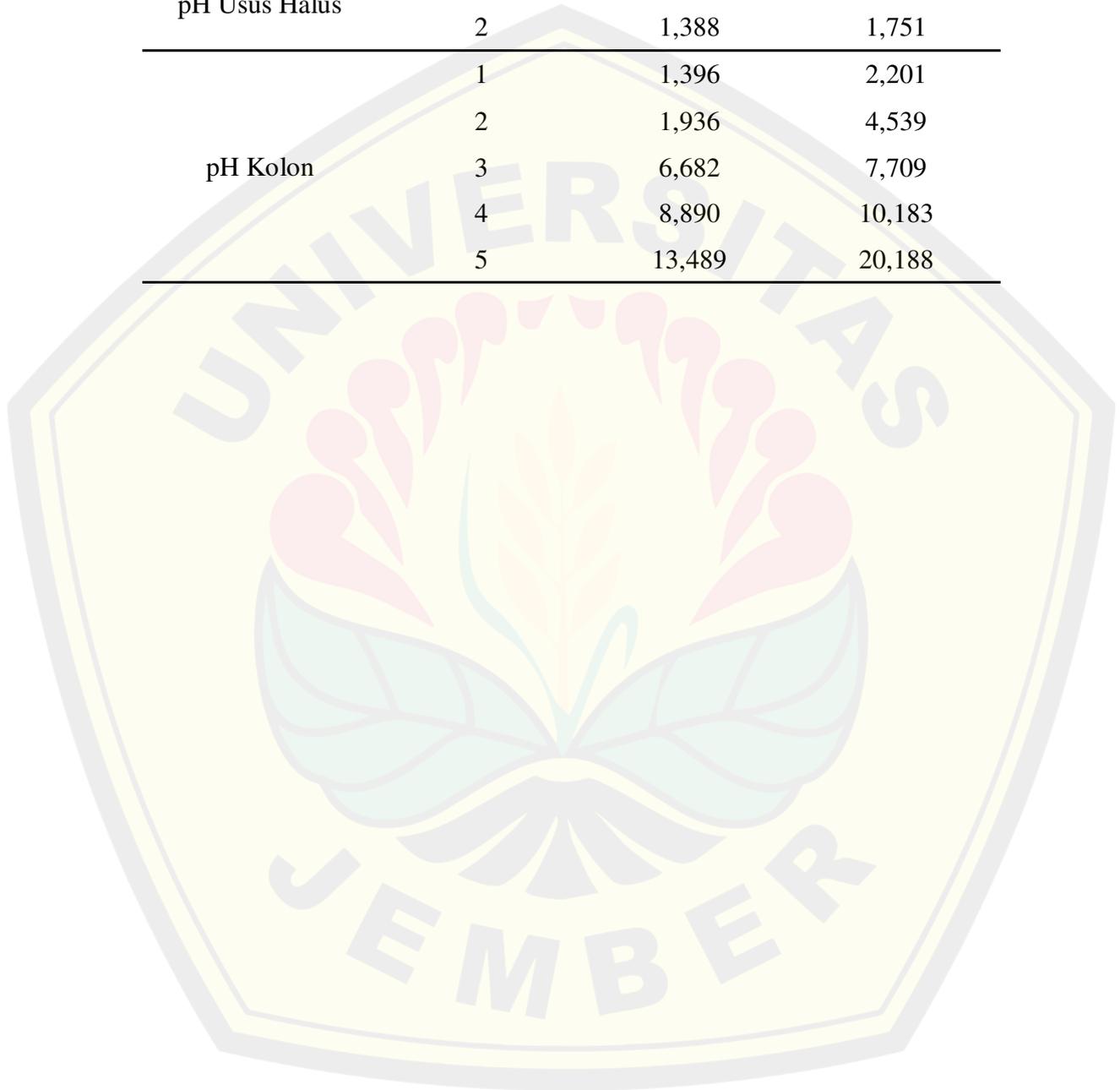
Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata [XOS] ppm	[XOS] Enkap ppm	% Pelepasan ± SD
1	4,33	435,73	0,994 ± 0,501
2	7,63	435,73	1,751 ± 0,385
3	9,48	435,73	2,176 ± 0,231
4	11,81	435,73	2,711 ± 0,128
5	17,96	435,73	4,122 ± 0,444

Buffer pH 7,4

Waktu Inkubasi (Jam)	Rata-rata [XOS] ppm	[XOS] Enkap ppm	% Pelepasan ± SD
1	9,59	435,73	2,201 ± 0,321
2	19,78	435,73	4,539 ± 0,632
3	33,59	435,73	7,709 ± 0,257
4	44,37	435,73	10,183 ± 0,559
5	87,96	435,73	20,188 ± 0,222

Grafik % Pelepasan XOS

pH Simulasi	Waktu (Jam)	Sampel pH 7	Sampel pH 8
pH Lambung	1	0,261	0,688
	2	0,431	1,606
pH Usus Halus	1	1,380	0,994
	2	1,388	1,751
pH Kolon	1	1,396	2,201
	2	1,936	4,539
	3	6,682	7,709
	4	8,890	10,183
	5	13,489	20,188





LABORATORIUM PENGUJIAN OBAT, MAKANAN DAN KOSMETIK
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
Jl. Kalirang KM. 14,5 Sleman Yogyakarta - Telp. (0274) 898444 ext. 3037 - Fax. (0274) 896439

SERTIFIKAT PENGUJIAN
TEST CERTIFIED

Nomor: 151/LPOMK/XI/2021
Number
Halaman: 1 dari 2
Page

Dibuat untuk : Delsy Ironie
Certified to

Alamat: Yogyakarta
Address

Jenis>Nama Sampel : Terlampir
Type/Name of sample

Asal Sampel :Pelanggan
Origin of sample

Jumlah Sampel : 2 (Dua) buah
Amount of sample

Kode Sampel :Terlampir
Sample code

Parameter: Nano Partikel
Parameters

Tanggal Pengambilan Sampel :--
Sample taken on

Tanggal Penerimaan Sampel : Oktober 2021

Tanggal Pengujian Sampel : Oktober 2021
Sample tested on
UM



LABORATORIUM PENGUJIAN OBAT, MAKANAN DAN KOSMETIK
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
 Jl. Kaliurang KM. 14,5 Sleman Yogyakarta - Telp. (0274) 898444 ext. 3037 - Fax. (0274) 896439

SERTIFIKAT PENGUJIAN

TEST CERTIFIED

Nomor: 151/LPOMK/XI/2021

Number

Halaman: 2 dan 2

Page

HASIL PENGUJIAN

TEST RESULT

No	Nama Sampel	Kode	Label	Parameter	Satuan	Hasil Uji*	Metode Uji
1	pH 7	001/C/PSA/XI/2021	L1R1	Nano Partikel	nm	46,0	Dynamic light scattering menggunakan alat PSA
			L1R2			48,0	
			L1R3			47,8	
2	pH 8	002/C/PSA/XI/2021	L1R1	Nano Partikel	nm	42,7	
			L1R2			49,7	
			L1R3			47,0	

Keterangan * :

Yogyakarta, 5 November 2021

Manajer Teknis

apt. Annisa Fitriah, S.Farm., M.Sc.

NIP. 126130401.



LABORATORIUM PENGUJIAN OBAT, MAKANAN DAN KOSMETIK
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
 Jl. Kalirang KM. 14,5 Sleman Yogyakarta - Telp. (0274) 898444 ext. 3037 - Fax. (0274) 896439

SERTIFIKAT PENGUJIAN
TEST CERTIFIED

Nomor: 136/LPOMK/IV/2022
Number
Halaman: 1 dari 2
Page

Dibuat untuk : Delsy Ironi
Certified to

Alamat: Jember
Address

Jenis>Nama Sampel : Terlampir
Type/Name of sample

Asal Sampel : Pelanggan
Origin of sample

Jumlah Sampel : 2 (Dua) buah
Amount of sample

Kode Sampel: Terlampir
Sample code

Parameter: Terlampir
Parameters

Tanggal Pengambilan Sampel :--
Sample taken on

Tanggal Penerimaan Sampel : April 2022

Tanggal Pengujian Sampel : April 2022
Sample tested on



LABORATORIUM PENGUJIAN OBAT, MAKANAN DAN KOSMETIK
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
 Jl. Kalurung KM. 14,5 Sieman Yogyakarta - Telp. (0274) 898444 ext. 3037 - Fax. (0274) 896439

SERTIFIKAT PENGUJIAN

TEST CERTIFIED

Nomor: 136/LOMK/IV/2022
 Number
 Halaman: 2 dari 2
 Page

HASIL PENGUJIAN
TEST RESULT

No	Nama Sampel	Kode	Label	Parameter	Satuan	Hasil Uji*	Metode Uji
1	PCIX 7	017/C/PSA/IV/2022	L1	Zeta Potensial	mV	-30,4 -30,1 -32,0	Dinamic light scattering menggunakan alat PSA
2	PCIX 8	018/C/PSA/IV/2022	L2			-27,2 -28,8 -32,0	

Keterangan * :

Yogyakarta, April 2022
 Manajer Teknis

Annisa
apt. Annisa Fitria, S.Farm., M.Sc.
 NIP. 126130401.