



**KARAKTERISASI SIFAT FISIK DAN KIMIA NANOPARTIKEL
KITOSAN TERISI EKSTRAK KOPI ARABIKA SANGRAI
DENGAN METODE GELASI IONIK**

SKRIPSI

Oleh

**Maisaroh
141710101055**

**KEMENTRIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
JURASAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
2018**



**KARAKTERISASI SIFAT FISIK DAN KIMIA NANOPARTIKEL
KITOSAN TERISI EKSTRAK KOPI ARABIKA SANGRAI
DENGAN METODE GELASI IONIK**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S-1) dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

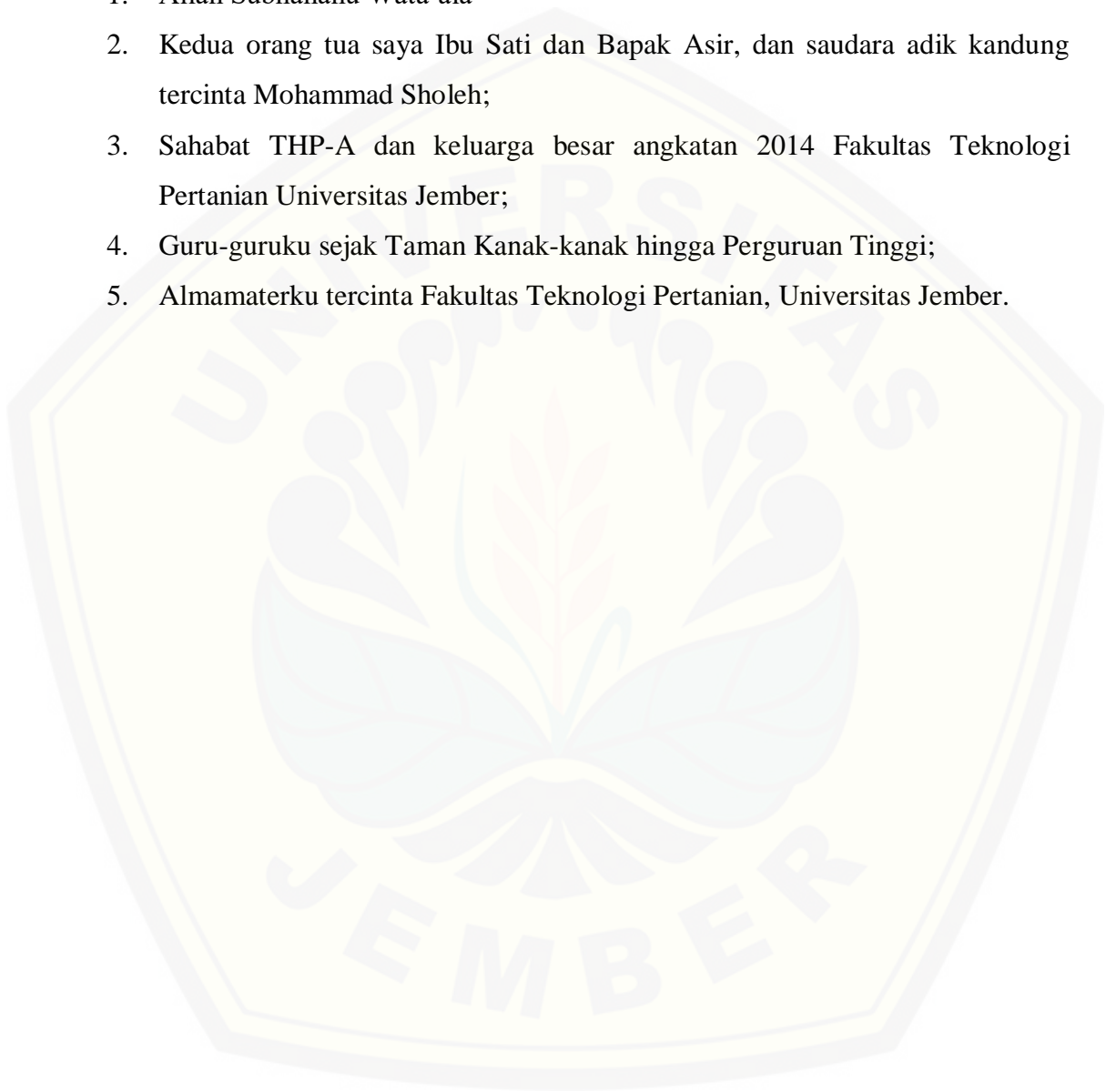
**Maisaroh
NIM 141710101055**

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
JURASAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
2018**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan sebagai rasa terima kasih yang tidak terkira kepada:

1. Allah Subhanahu Wata'ala
2. Kedua orang tua saya Ibu Sati dan Bapak Asir, dan saudara adik kandung tercinta Mohammad Sholeh;
3. Sahabat THP-A dan keluarga besar angkatan 2014 Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
4. Guru-guruku sejak Taman Kanak-kanak hingga Perguruan Tinggi;
5. Almamaterku tercinta Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.



MOTTO

“Salah satu pengkerdilan terkejam dalam hidup adalah membiarkan pikiran yang cemerlang menjadi budak bagi tubuh yang malas, yang mendahulukan istirahat sebelum lelah”

(Buya Hamka)

“Kami akan menguji kamu dengan keburukan dan kebaikan sebagai cobaan (yang sebenar-benarnya). Dan hanya kepada Kamilah kamu dikembalikan”

(QS. Al-Anbiya 35)

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

(QS. Al-Insyirah 5-6)

“Orang yang berdoa tanpa diiringi dengan ikhtiar sama halnya seperti pemanah tanpa busur”

(Ali bin Abi Thalib)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Maisaroh

NIM : 141710101055

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Nanopartikel Kitosan terisi Ekstrak Kopi Arabika Sangrai dengan Metode Gelasi Ionik” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya. Saya bertanggungjawab atas keabsahan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 24 Juli 2018

Yang menyatakan,

Maisaroh

NIM 141710101055

SKRIPSI

**KARAKTERISASI SIFAT FISIK DAN KIMIA NANOPARTIKEL
KITOSAN TERISI EKSTRAK KOPI ARABIKA SANGRAI
DENGAN METODE GELASI IONIK**

Oleh

**Maisaroh
NIM 141710101055**

Dosen Pembimbing Utama : **Dr. Puspita Sari, S.TP., M.Ph**
Dosen Pembimbing Anggota : **Dr. Ir. Maryanto, M.Eng**

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Nanopartikel Kitosan terisi Ekstrak Kopi Arabika Sangrai dengan Metode Gelasi Ionik” karya studi Maisaroh, NIM 141710101055 telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Selasa, 24 Juli 2018

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

Dosen Pemimbing Utama

Dosen Pemimbing Anggota

Dr. Puspita Sari, S.TP., M.Ph
NIP. 19720301 199802 2 001

Dr. Ir. Maryanto, M.Eng
NIP. 19541010 198303 1 004

Penguji Utama

Penguji Anggota

Dr. Ir. Jayus
NIP. 19680516 199203 1 004

Dr. Maria Belgis, S.TP., M.P
NIP. 760016850

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

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

RINGKASAN

Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Nanopartikel Kitosan terisi Kopi Arabika Sangrai dengan Metode Gelasi Ionik; Maisaroh, 141710101055, 2018, 66 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Kopi merupakan minuman yang banyak digemari oleh masyarakat karena memiliki rasa dan aroma yang khas. Jenis kopi yang terkenal di Indonesia terdapat 3 macam yaitu kopi arabika, robusta dan liberika. Kopi arabika lebih banyak dikonsumsi oleh masyarakat dunia karena memiliki rasa yang tidak terlalu pahit dan lebih dominan ke asam. Kopi arabika juga menimbulkan aroma *fruity* karena adanya senyawa aldehid, asetaldehida, dan propanal. Kopi mengandung berbagai senyawa aktif seperti asam nikotianat, trigonelin, asam quinolinat, asam tanat, asam pirogalat dan kafein. Senyawa polifenol pada kopi adalah asam kafeat, asam klorogenat, asam koumarat, asam ferulat dan asam sinapat (Hecimovic *et al.*, 2011). Senyawa polifenol tersebut memiliki sifat yang tidak stabil, sehingga mempengaruhi bioavailabilitas atau penyerapan di dalam tubuh. Alternatif solusi untuk mempertahankan senyawa aktif tersebut dapat dilakukan enkapsulasi partikel kopi menjadi nanokapartikel. Metode yang digunakan dalam sintesis nanopartikel adalah gelasi ionik karena metode yang paling sederhana dengan biaya yang relatif murah. Bahan yang digunakan dalam sintesis nanopartikel kitosan adalah kitosan, STPP serta ekstrak kopi arabika sangrai. Formulasi antara konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi arabika sangrai sampai saat ini belum diketahui, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai pembuatan nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai dengan perbedaan konsentrasi kitosan serta penambahan ekstrak kopi arabika sangrai. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui karakterisasi sifat fisik dan kimia ekstrak kopi arabika sangrai; serta karakterisasi sifat fisik dan kimia nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai dari hasil formulasi terbaik pada berbagai konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi arabika.

Penelitian ini terdiri dari 4 tahap yaitu 1) proses ekstraksi kopi arabika sangrai, 2) pengujian karakteristik ekstrak kopi arabika sangrai, 3) sintesis nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai, 4) pengujian fisik dan kimia nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai. Ekstrak kopi arabika sangrai yang dihasilkan dilakukan karakterisasi meliputi pengukuran total padatan terlarut, pH, rendemen, total polifenol, antioksidan metode DPPH dan melanoidin. Nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai yang dihasilkan dilakukan pengujian efisiensi enkapsulasi, ukuran partikel, distribusi partikel dan zeta potensialnya dengan menggunakan PSA, morfologi partikel menggunakan TEM, FTIR, melanoidin, total polifenol dan aktivitas antioksidan metode DPPH, FRAP dan radikal hidroksil.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kopi arabika sangrai memiliki total padatan terlarut sebesar 29,00°Brix, rendemen (basis basah) 27,60 % dan (basis kering) 11,58 %; pH sebesar 5,87; pigmen coklat melanoidin 1,34 AU; total

polifenol 12, 12 mg GAE/ ml; dan aktivitas antioksidannya sebesar 5,434 mmol TE/ ml. Hasil karakterisasi nanopartikel kitosan terisi kopi arabika sangrai dengan perbedaan konsentrasi kitosan 0,1% serta penambahan ekstrak kopi arabika sangrai 0,1 ml hingga 0,4 ml memiliki total polifenol berkisar antara 0,202 hingga 0,780 mg GAE/ ml, sedangkan pada kitosan dengan konsentrasi 0,2% memiliki total polifenol berkisar antara 0,212 hingga 0,872 mg GAE/ ml. Nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai memiliki efisiensi enkapsulasi berkisar antara 22,288 hingga 10,245 % pada konsentrasi kitosan 0,1% dan 16,546% hingga 9,726% pada konsentrasi kitosan 0,2%. Kandungan melanoidin yang terdapat pada nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai dengan konsentrasi kitosan 0,1% berkisar antara 0,296 hingga 1,008 AU dan pada konsentrasi kitosan 0,2% berkisar antara 0,311 hingga 1,117 AU. Nanopartikel memiliki kenampakan yang keruh pada konsentrasi kitosan 0,1% dan penambahan ekstrak kopi 0,1 ml hingga 0,3 ml, sedangkan pada penambahan ekstrak kopi 0,4 ml terjadi pemisahan antara larutan bening dengan endapan. Nanopartikel kitosan terisi kopi arabika dengan konsentrasi kitosan 0,2% memiliki kenampakan yang keruh serta adanya endapan. Ukuran partikel yang dimiliki oleh nanopartikel dengan kitosan 0,1% dan penambahan ekstrak kopi 0,2 ml dan 0,3 ml sebesar 286,567 hingga 297,267 nm, sedangkan pada kitosan konsentrasi 0,2% ukuran partikelnya sebesar 412,833 hingga 436,1 nm.

Hasil formulasi terbaik dari karakterisasi nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai dengan perbedaan konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi arabika sangrai adalah nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 0,1% dan penambahan ekstrak kopi 0,3 ml. Nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai memiliki pH sebesar 5,290; nilai efisiensi enkapsulasi sebesar 15,731%; ukuran partikel sebesar 297,267 nm dan distribusi partikelnya sebesar 0,559 dan zeta potensialnya sebesar 25,470 mV. Kandungan melanoidin yang dimiliki oleh nanopartikel tersebut sebesar 0,759 AU serta total polifenol sebesar 0,619 mg GAE/ mL. Aktivitas antioksidan dari nanopartikel kitosan terisi kopi arabika dengan metode DPPH sebesar 0,085 mmol TE/ mL, metode FRAP sebesar 0,089 mmol TE/ mL dan metode radikal OH sebesar 0,032 mmol TE/ mL. Hasil analisis FTIR pada nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika menunjukkan adanya interaksi elektrostatik antara kelompok fosfat STTP dengan kelompok amino dari kitosan. Nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika memiliki morfologi bentuk bulat karena adanya senyawa aktif yang terjerap dalam kitosan.

SUMMARY

Characterization of Chemical and Physical Properties Chitosan Nanoparticle Filled Extract Arabica Coffee Roasted with Ionic Gelation Method; Maisaroh, 141710101055, 2018, 66 pages; Department of Agricultural Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Coffee is a drink favored by public because it has a distinctive flavor and aroma. Type of coffee is famous in Indonesia there are 3 sorts of arabica robusta and liberika. Arabica coffee more consumed by the world community because it has flavor that is not too bitter and sour to the more dominant. Arabica coffee also raises the aroma fruity due to the pillars of compound, acetaldehyde, and propanol. Coffee contains a variety of active compounds such as nikotianic acid, trigoneline acid, quinolinic acid, pirogalic acid, tanic and caffeine. Polyphenol compounds in coffee is kafeic acid, chlorogenic acid, coumaric acid, cinapic acid and ferulic acid (Hecimovic et al., 2011). The polyphenol compounds have inherently unstable, thus affecting bioavaibility or absorption in the body. Alternative solutions to maintain the active compounds can be made encapsulation particles into nanokaparticle. Methods used in the synthesis of nanoparticles is ionic gelation because the simple method and cost are relatively cheap. The materials used in the synthesis of nanoparticles is Chitosan, STPP and extracts arabica coffee roasted. The formulation between the concentration of chitosan and addition of extracts arabica coffee roasted to date is not yet known, so the need to do research on making chitosan nanoparticle filled extracts Arabica coffee roasted with a concentration difference chitosan as well as the addition of extract Arabica coffee roasted. The purpose of this research is to know the nature of the physical and chemical characterization of extract of arabica coffee roasted; as well as the characterization of physical and chemical properties of chitosan nanoparticles filled extract arabica coffee roasted from results the best formulation in a range of concentrations of chitosan and the addition of Arabica coffee extracts.

This research consists of 4 stages namely, 1) extraction process roasted arabica coffee, 2) testing the characteristics of extract arabica coffee roasted, 3) synthesis of chitosan nanoparticle filled extract arabica coffee roasted, 4) physical and chemical testing of chitosan nanoparticles filled extracts arabica coffee roasted. Extract of roasted Arabica coffee produced done characterization includes measurement of dissolved solids, pH, yield, polyphenols compound, antioxidant activity, and melanoidin. Chitosan nanoparticle filled extracts Arabica coffee roasted testing the efficiency of encapsulation, particle and distribution size, potential zeta, morfology of particle used TEM, FTIR, melanoidin, polyphenol compound and antioxidant activity used method DPPH, FRAP hydroxyl radical.

The results showed that extract arabica coffee roasted has dissolved solids of 29,00^oBrix, yield (wet base) 27,60% (dry basis) 11,58%; pH 5.87; melanoidin 1,34 AU; polyphenols compounds 12,12 mg GAE/ml; and antioksidannya activity 5.434 mmol TE/ml. The results characterization of chitosan nanoparticle filled

extract arabica coffee roasted with 0,1% chitosan concentration and addition of extract Arabica coffee roasted 0,1 to 0,4 ml have polyphenols compound ranging from 0,780 to 0,202 mg GAE/ml, whereas on the chitosan concentration with 0,2% polyphenols compound have ranged from 0,212 to 0,872 mg GAE/ml. Chitosan nanoparticle filled extracts arabica coffee roasted have an efficiency of encapsulation range between 22,288 until 10,245% at 0,1% concentration chitosan and 16,546% to 9,726% at 0.2% concentration chitosan. Content of melanoidin on chitosan nanoparticle filled extract arabica coffee roasted with 0,1% concentration chitosan ranges from 0,296 to 1,008 AU and at concentrations chitosan 0,2% ranging 0,311 to 1,117 AU. Nanoparticles have a cloudy appearance on chitosan concentration 0.1% and the addition of coffee extract 0,1 up to 0,3 ml, while the addition of coffee extract 0,4 ml of the clear solution of separation between going with sediment. Loaded chitosan nanoparticles arabica coffee with a 0,2% concentration of chitosan has a murky appearance as well as the presence of sediment. Particle size of chitosan nanoparticles with chitosan concentration 0,1% and addition extracts coffee arabika 0,3 ml and 0,2 ml of 286.567 up to 297.267 nm, while on the chitosan concentration 0,2% particle size of 412.833 to 436.1 nm.

Results characterization of the best formulations of chitosan nanoparticle filled extract arabica coffee roasted with chitosan concentration 0,1% and addition of extract arabica coffee roasted 0,3 ml. Chitosan nanoparticle filled extract arabica coffee roasted has a pH 5,290; the value of encapsulation efficiency of 15,731%; particle size of 297,267 nm and distribution particle of 0.559; potential zeta of 25,470 mV. Melanoidin content owned by the nanoparticles of 0,759 AU and polyphenols compound of 0,619 mg GAE/mL. Antioxidant activity of chitosan nanoparticle filled arabica coffee with the DPPH method of 0,085 mmol TE/mL, the FRAP method of 0,089 mmol TE/mL and hydroxyl radical methods of 0,032 mmol TE/mL. FTIR analysis results chitosan nanoparticles loaded arabica coffee extract presence of interaction between phosphate groups from STTP and amino groups from chitosan. Chitosan nanoparticles loaded arabica coffee extract has morphology of spherical shape due to the active compounds encapsulation in chitosan.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Nanopartikel Kitosan terisi Ekstrak Kopi Arabika Sangrai dengan Metode Gelasi Ionik”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan Strata Satu pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Penyusunan laporan ini tidak lepas dari pengarahan, dukungan, bimbingan serta saran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Siswoyo S, S.TP, M.Eng, selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
2. Dr. Ir. Jayus, selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
3. Dr. Puspita Sari, S.TP., M.Ph selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran serta memberikan masukan dan bimbingan demi kemajuan dan penyelesaian penelitian ini;
4. Dr. Ir. Maryanto, M.Eng selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak membantu dan membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian ini;
5. Dr. Ir. Jayus dan Dr. Maria Belgis, S.TP., M.P selaku dosen penguji. Terimakasih atas masukan dan kesediaan sebagai penguji;
6. Segenap dosen dan teknisi laboratorium, dan karyawan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember yang telah banyak membantu untuk menyelesaikan skripsi ini;
7. Terimakasih kepada KP4S (Kerja sama Penelitian, Pengkajian dan Pengembangan Pertanian Strategis) yang telah membantu penelitian ini;
8. Kedua orang tua dan adik tercinta yang telah mendoakan dan menjadi motivator serta memberi dukungan selama ini;

9. Teman-teman seperjuangan dalam melaksanakan penelitian Hujjah, Fita, Wulan dan Yanuar terimakasih atas kerja keras, bantuan, senang, sedih dan kebersamaannya selama penelitian. Kepada mas Hatma, mas Shofwa, mas Qori, mbak Nelly dan mbak Shofi terimakasih telah banyak membantu di laboratorium dan nasehatnya untuk selalu sabar dan semangat;
10. Seluruh teknisi laboratorium Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, terimakasih telah membantu dan memberi saran saat melakukan penelitian;
11. Keluargaku selama di Jember, Dewi (bude), Rizka serta teman-teman THP angkatan 2014 yang tak bisa disebutkan satu persatu yang telah memberi semangat, dukungan dan ilmu yang luar biasa, terimakasih;
12. Temen-temen KKN 08 gelombang I tahun 2017/2018, terimakasih telah meluangkan waktu untuk membantu dalam kesulitan, semangat dan pengalamannya;
13. Semua pihak yang telah memberikan dukungan serta membantu penelitian ataupun dalam penulisan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik, terimakasih.

Penulis menyadari bahwa skripsi masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan laporan ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi pembaca.

Jember, 24 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kopi Arabika	4
2.1.1 Proses Pengolahan Biji Kopi Arabika Sangrai	4
2.1.2 Kandungan Kimia Kopi Arabika	6
2.2 Nanopartikel	7
2.2.1 Definisi Nanopartikel	7
2.2.2 Metode Pembuatan Nanopartikel	8
2.2.3 Karakterisasi Nanopartikel	9
2.3 Gelasi Ionik	11
2.4 Kitosan	13
2.4.1 Pengertian dan Struktur Kitosan	13
2.4.2 Sumber dan Sintesis Kitosan	14
2.4.3 Sifat Fisik dan Kimia Kitosan	15
2.4.4 Penerapan Kitosan dalam Sintesis Nanopartikel	16
2.5 Antioksidan	16
2.5.1 Definisi Antioksidan	16
2.5.2 Metode Pengujian Antioksidan	17
BAB 3. METODE PENELITIAN	20
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	20
3.2.1 Alat	20
3.2.2 Bahan	20
3.3 Pelaksanaan Penelitian	21

3.3.1 Ekstraksi Bubuk Kopi Arabika Sangrai.....	21
3.3.2 Sintesis Nanopartikel Kitosan terisi Ekstrak Kopi Arabika Sangrai.....	21
3.3.3 Parameter Pengamatan.....	23
3.3.4 Prosedur Analisis.....	23
3.4 Analisis Data.....	28
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Karakterisasi Ekstrak Kopi Arabika Sangrai.....	29
4.2 Karakterisasi Nanopartikel pada Berbagai Konsentrasi Kitosan dan Penambahan Ekstrak Kopi Arabika Sangrai.....	31
4.2.1 Efisiensi Enkapsulasi.....	33
4.2.2 Kandungan Total Polifenol.....	34
4.2.3 Pigmen Coklat Melanoidin.....	35
4.2.4 Pengamatan Visual Nanopartikel.....	36
4.2.5 Ukuran dan Distribusi Partikel.....	37
5.2 Karakterisasi Nanopartikel Kitosan terisi Ekstrak Kopi Arabika Sangrai Hasil yang Terbaik.....	40
BAB 5. PENUTUP.....	48
5.1 Kesimpulan.....	48
5.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN.....	59

DAFTAR TABEL

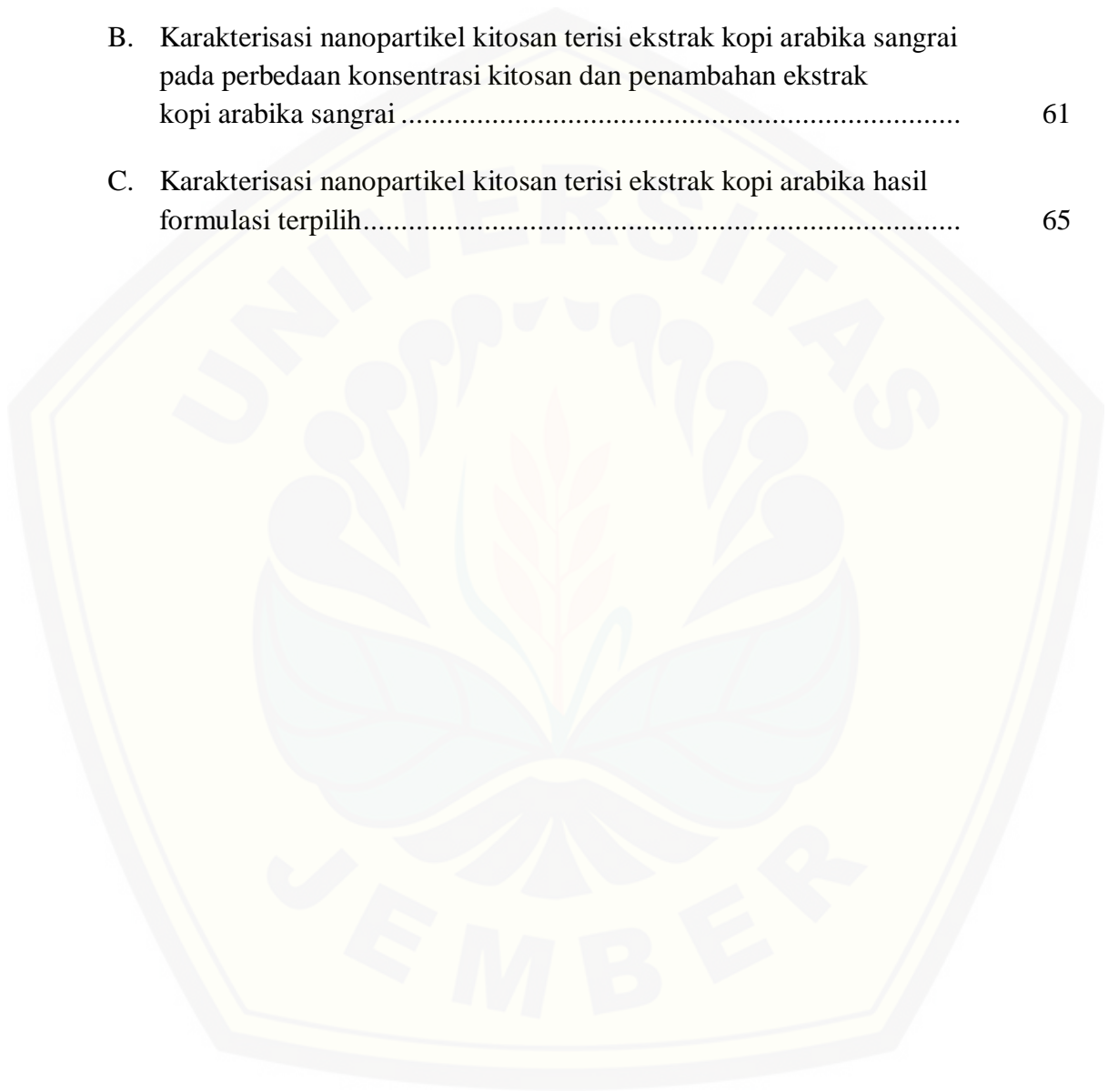
	Halaman
2.1 Komposisi kimia pada biji kopi arabika dan robusta sebelum dan sesudah sangrai.....	7
4.1 Karakteristik ekstrak kopi arabika sangrai	29
4.2 Karakterisasi fisik dan kimia nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika pada berbagai konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi sangrai	32
4.3 Ukuran partikel dan distribusi partikel nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika	37
4.4 Karakteristik nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai hasil formulasi terbaik.....	41
4.5 Nilai panjang gelombang kitosan, STPP, ekstrak kopi arabika sangrai dan nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai	44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Penampang melintang buah kopi arabika.....	4
2.2 Struktur kimia asam klorogenat.....	6
2.3 Matriks nanopartikel dengan metode gelas ionik	12
2.4 Proses gelas ionik antara kitosan dan STPP.....	12
2.5 Interaksi ionik antara kitosan dan STPP	13
2.6 Struktur kitosan.....	14
2.7 Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan	15
3.1 Diagram alir proses ekstraksi bubuk kopi arabika sangrai.....	22
3.2 Diagram alir sintesis nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai	22
4.1 Ekstrak kopi arabika sangrai.....	29
4.7 Nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika formulasi terpilih.....	40
4.8 TEM nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika dengan perbesaran 40.000x (A) dan 80.000x (B)	42
4.9 Spektrum FTIR dari kitosan, STPP, ekstrak kopi arabika dan larutan nanopartikel kopi arabika	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Karakterisasi ekstrak kopi arabika sangrai	59
B. Karakterisasi nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai pada perbedaan konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi arabika sangrai	61
C. Karakterisasi nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika hasil formulasi terpilih.....	65



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan minuman yang banyak disukai oleh masyarakat karena memiliki rasa dan aroma yang khas. Jenis kopi yang terkenal di Indonesia terdapat 3 macam yaitu kopi arabika, robusta dan liberika. Kopi arabika lebih banyak dikonsumsi oleh masyarakat dunia karena memiliki rasa yang tidak terlalu pahit dan lebih dominan ke asam. Kopi arabika juga menimbulkan aroma *fruity* karena adanya senyawa aldehid, asetaldehida, dan propanal. Kopi arabika menguasai pasar dunia hingga 70% (Wang, 2012). Tingginya minat pasar dunia terhadap kopi arabika, sehingga berpotensi cukup besar untuk dikembangkan menjadi produk turunan kopi.

Kopi mengandung berbagai senyawa seperti asam nikotianat, trigonelin, asam quinolinat, asam tanat, asam pirogalat dan kafein. Senyawa polifenol pada kopi adalah asam kafeat, asam klorogenat, asam kumarat, asam ferulat dan asam sinapat (Hecimovic *et al.*, 2011). Kandungan senyawa aktif tersebut memberikan sifat fungsional pada tubuh sehingga memiliki manfaat yang baik bagi kesehatan. Sifat fungsional kopi bagi tubuh yaitu sebagai antioksidan (Sousa *et al.*, 2016), antikanker (Floegel *et al.*, 2012), dan antidiabetes (Butt dan Sultan, 2011).

Senyawa antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi dari radikal bebas. Menurut Lee *et al.* (2008) senyawa antioksidan yang dominan pada kopi adalah asam klorogenat dengan jumlah 42,2 % dari total fenol (Ayelign, 2013). Senyawa polifenol memiliki sifat yang tidak stabil, sehingga mempengaruhi bioavailabilitas atau penyerapan di dalam tubuh (Mardiyati, 2012). Salah satu alternatif solusi untuk mempertahankan senyawa aktif tersebut dapat dilakukan enkapsulasi partikel kopi menjadi nanopartikel. Menurut Rauhatun dan Lis (2013), penerapan teknologi nanoenkapsulasi dapat meningkatkan bioavailabilitas dan mengendalikan pelepasan suatu zat aktif di dalam tubuh.

Metode yang dapat digunakan dalam sintesis nanopartikel adalah dispersi polimer, polimerisasi monomer dan gelasi ionik. Pada sintesis nanopartikel,

metode yang paling sederhana dengan biaya yang relatif murah adalah metode gelasi. Prinsip dari metode gelasi ionik yaitu penyambungan silang antara polielektrolit kitosan yang bermuatan positif dengan polianion STPP yang bermuatan negatif sehingga terbentuk membran kompleks polielektrolit (Mohanraj, 2006). Bahan yang digunakan dalam sintesis nanopartikel adalah kitosan karena memiliki kelebihan yaitu bersifat biokompatibel, biodegradabel, tidak beracun, serta dapat mengendalikan pelepasan senyawa bioaktif (Prabaharan, 2008). Penelitian mengenai sintesis nanopartikel senyawa aktif dengan menggunakan metode gelasi ionik telah banyak dilakukan antara lain penelitian dari Stoica *et al.* (2013) mengenai sintesis nanopartikel polifenol jenis katekin dari *Rosa Canina* dan penelitian dari Nallamuthu *et al.* (2015) tentang nanoenkapsulasi asam klorogenat dari sayuran dan buah-buahan dengan metode gelasi ionik menggunakan bahan kitosan dan STTP.

Faktor yang menentukan keberhasilan dalam sintesis nanopartikel adalah konsentrasi kitosan, STPP dan penambahan ekstrak kopi arabika. Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui karakteristik sifat fisik dan kimia dari nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai pada berbagai konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi arabika.

1.2 Perumusan Masalah

Kopi memiliki senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan seperti asam klorogenat yang tergolong dalam senyawa polifenol. Senyawa aktif pada kopi memiliki sifat stabilitas dan bioavailabilitas yang rendah di dalam tubuh sehingga perlu dilakukan enkapsulasi menjadi nanopartikel. Metode dalam sintesis nanopartikel yang sering digunakan adalah metode gelasi ionik. Prinsip metode gelasi ionik yaitu penyambungan silang antara polielektrolit kitosan yang bermuatan positif dengan polianion STPP yang bermuatan negatif sehingga terbentuk membran kompleks polielektrolit. Konsentrasi kitosan, STPP dan penambahan ekstrak kopi arabika menentukan keberhasilan dalam sintesis nanopartikel. Formulasi antara konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi arabika pada sintesis nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai

sampai saat ini belum diketahui, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai pembuatan nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai dengan perbedaan konsentrasi kitosan serta penambahan volume ekstrak kopi arabika sangrai untuk mengetahui sifat fisik dan kimia nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini antara lain:

1. Mengetahui karakterisasi sifat fisik dan kimia ekstrak kopi arabika sangrai
2. Mengetahui karakterisasi sifat fisik dan kimia nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai dari hasil formulasi terbaik

1.4 Manfaat

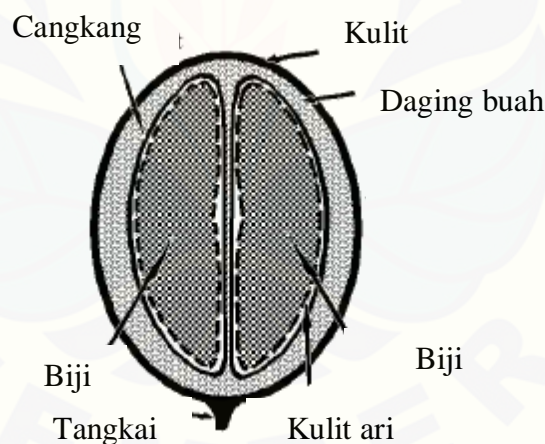
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat diantaranya adalah:

1. Menambah nilai ekonomis kopi
2. Memberikan kontribusi dalam ilmu pengetahuan tentang teknologi nanoenkapsulasi

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi Arabika

Kopi yang banyak ditemui di Indonesia ada 3 jenis yaitu kopi arabika, robusta dan liberika. Kopi arabika menguasai pasar kopi di dunia hingga 70%. karena cenderung menimbulkan aroma *fruity* yang disebabkan adanya senyawa aldehid, asetaldehida, dan propanal (Wang, 2012). Kopi arabika mengandung komponen kimia berupa tanin, alkaloid, flavonoid, kumarin, kuinon, fenol dan minyak atsiri. Kopi mengandung senyawa polifenol sebagai sumber antioksidan yang terbukti dapat mencegah penyakit yang diakibatkan oleh efek radikal bebas seperti kardiovaskuler dan hipertensi (Castelnuovo *et al.*, 2012). Kandungan kafein biji mentah kopi arabika lebih rendah dibandingkan biji mentah kopi robusta, kandungan kafein kopi robusta sekitar 2,2 % dan arabika sekitar 1,2 % (Aditya, 2016).



Gambar 2.1 Penampang melintang buah kopi arabika (AAK,1988)

2.1.1 Proses Pengolahan Biji Kopi Arabika Sangrai

Pengolahan buah kopi hingga menjadi biji kopi terdapat 2 proses yaitu proses pengolahan secara primer dan sekunder. Proses pengolahan kopi primer terdiri dari tahapan fermentasi, pengeringan hingga kadar airnya 25%, proses pengupasan kulit buah, pengeringan tahap kedua hingga kadar airnya 12% dan proses sortasi. Proses pengolahan kopi sekunder terdiri dari tahapan penyangraian, pendinginan, pengilingan menjadi bubuk kopi, pengepakan dan pengemasan serta

pemasaran (Hamni *et al.*, 2014). Tahapan yang berpengaruh terhadap rasa, aroma dan warna dari kopi adalah penyangraian.

Penyangraian merupakan proses untuk mengembangkan sifat organoleptik seperti rasa, aroma dan warna dari kopi (Hernandez *et al.*, 2007). Penyangraian kopi dengan berbagai variasi suhu akan menyebabkan terjadi perubahan sifat fisik maupun kimianya. Hal tersebut dapat mengakibatkan penurunan kadar air yang lebih cepat, peningkatan kerapuhan serta warna yang dihasilkan akan berbeda. Menurut Nugroho *et al.* (2012) penyangraian pada suhu 200°C selama 10 menit menghasilkan biji kopi dengan rasa, aroma dan warna yang baik.

Perubahan kimiawi biji kopi selama penyangraian dapat dilihat dengan perubahan nilai pH. Biji kopi secara alami mengandung berbagai jenis senyawa mudah menguap seperti aldehida, furfural, keton, alkohol, ester, asam format, dan asam asetat. Semakin lama waktu dan tingginya suhu penyangraian, maka jumlah ion H⁺ bebas di dalam seduhan makin berkurang secara signifikan (Sulistyowati, 2002). Senyawa trigonelin dalam kopi akan mengalami degradasi selama proses penyangraian menjadi beberapa komponen heterosiklik piridin yang menimbulkan aroma pada kopi. Trigonelin yang tidak terdegradasi sempurna menimbulkan rasa pahit yang mempengaruhi cita rasa kopi. Kadar trigonelin pada biji arabika 0,6–1,3 %, sedangkan kopi robusta mencapai 0,3–0,9% (Panggabean, 2011).

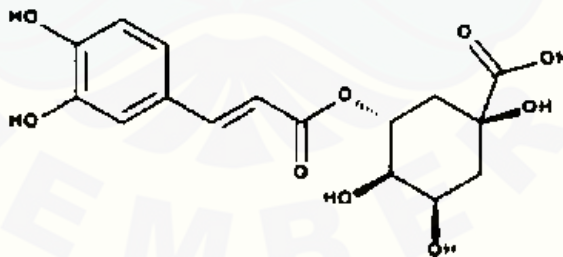
Senyawa yang mudah menguap akan menimbulkan aroma pada kopi karena terjadinya pirolisis gula, karbohidrat dan protein dalam struktur sel biji. Karbohidrat akan mengalami degradasi menjadi senyawa yang lebih sederhana (Arya dan Rao 2007). Jenis karbohidrat yang terdapat dalam kopi di antaranya arabinosa, fruktosa, mannososa, galaktosa, dan glukosa. Polisakarida berupa selulosa dan hemiselulosa dijumpai pada dinding sel biji kopi (Panggabean, 2011). Kandungan karbohidrat pada arabika adalah sekitar 6-8,3 % dan robusta 3,1- 4,1%. Karbohidrat berpengaruh terhadap warna cokelat pada kopi yang sudah disangrai, membentuk cita rasa, dan berperan terhadap pembentukan senyawa yang mudah menguap. Selama penyangraian, karbohidrat berubah menjadi polisakarida larut air, oligosakarida, melanoidin, karamel dan senyawa mudah menguap (Varnam dan Sutherland, 1994). Pembentukan senyawa yang mudah

menguap melibatkan reaksi mailard antara asam amino, protein, trigonelin, serotonin dengan karbohidrat, asam-asam hidroksilat, fenol, dan lain-lain. Reaksi-reaksi yang terjadi selama penyangraian akan mempengaruhi warna dan cita rasa kopi (Blietz *et al.*, 2009).

2.1.2 Kandungan Kimia Kopi Arabika

Kafein merupakan senyawa yang terdapat di dalam kopi. Kafein berfungsi sebagai unsur citarasa dan aroma di dalam biji kopi (Ciptadi dan Nasution, 1985). Kafein termasuk ke dalam senyawa kimia golongan *xanthin* yang mempunyai daya kerja sebagai stimulan sistem syaraf pusat, stimulan otot jantung, meningkatkan aliran darah melalui arteri koroner, relaksasi otot polos bronki, dan aktif sebagai diuretika dengan tingkatan yang berbeda (Misra *et al.*, 2008).

Kandungan senyawa antioksidan dalam kopi dipengaruhi oleh proses penyangraian karena mengalami oksidasi akibat dari suhu tinggi, sehingga kandungan antioksidannya mengalami penurunan. Kandungan senyawa antioksidan yang paling tinggi pada kopi adalah asam klorogenat yang merupakan salah satu senyawa polifenol (Farah *et al.*, 2005). Asam klorogenat merupakan senyawa dengan aktivitas antioksidan yang paling kuat (Leonardis *et al.*, 2008). Struktur kimia dari asam klorogenat dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur kimia asam klorogenat

Asam klorogenat merupakan metabolit sekunder yang terbesar pada biji kopi. Asam klorogenat adalah senyawa ester dari trans-asam sinamat dan guinat. Menurut Rice *et al.* (1999) kopi arabika 200 mL mengandung 70-200 mg asam klorogenat dan kopi robusta 200 mL mengandung 70-350 mg asam klorogenat. Berikut komposisi biji kopi arabika dan robusta yang disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi kimia pada biji kopi arabika dan robusta sebelum dan sesudah sangrai (g/100 g bahan)

Komponen	Kopi Arabika Hijau	Kopi Arabika Sangrai	Kopi Robusta Hijau	Kopi Robusta Sangrai
Sukrosa	6-9	4,2	0,9-4,0	1,6
Gula pereduksi	0,1	0,3	0,4	0,3
Polisakarida	34-44	31-33	48-55	37
Lignin	3	3	3	3
Pektin	2	2	2	2
Protein	10-11	7,5-10	10-11	7,5-10
Asam amino bebas	0,5	Tidak terdeteksi	0,8-1	Tidak terdeteksi
Kafein	0,9-1,3	1,1-1,3	1,5-2,5	2,4-2,5
Trigonelin	0,6-0,2	1,2-0,2	0,6-0,7	0,7-1,3
Asam nikotinic	-	0,016-0,026	-	0,014-0,025
Minyak kopi (trigliserida, sterol/tokoferol)	15-17	17	7-10	11
Diterpen	0,5-1,2	0,9	0,2-0,8	0,2
Mineral	3-4,2	4,5	4,4-4,5	47
Asam klorogenat	4,1-7,9	1,9-2,5	6,1-11,3	3,3-3,8
Asam alifatik	1,0	1,6	1	1,6
Asam kuinat	0,4	0,8	0,4	1
Melanoidins	-	25	-	25

Sumber : Farah (2012)

2.2 Nanopartikel

2.2.1 Definisi Nanopartikel

Nanopartikel adalah sistem dispersi butiran atau partikel padat dengan kisaran ukuran 10–1000 nm (Mohanraj, 2006). Nanopartikel memiliki luas permukaan yang lebih besar sehingga memiliki kelebihan sebagai pengantar obat yang baik karena dapat melakukan penetrasi diantara kapiler maupun sel di dalam tubuh. Penerapan nanopartikel pada pangan dapat membantu penyerapan zat gizi yang lebih baik. Nanopartikel juga dapat menghindari rasa dan bau yang kurang menyenangkan dari bahan pangan.

Nanopartikel dapat dibuat dengan teknik enkapsulasi. Enkapsulasi merupakan proses penyalutan bahan inti berbentuk cair atau padat menggunakan suatu enkapsulan khusus yang membuat partikel-partikel inti mempunyai sifat

fisikokimia yang diinginkan (Deladino *et al.*, 2008). Enkapsulasi menghasilkan partikel dengan diameter mikrometer sampai nanometer (Zuidan, 2010). Enkapsulasi komponen bioaktif pada skala nano telah dikembangkan untuk dapat mengatasi masalah yang berhubungan dengan lambat dan rendahnya serapan dan ketidakstabilan komponen bioaktif pada teknik mikroenkapsulasi (Carvajal *et al.*, 2010).

Kelebihan dari nanopartikel adalah mampu menembus ruang-ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh partikel koloidal. Selain itu, nanopartikel fleksibel untuk dikombinasikan dengan berbagai teknologi lain. Kemampuan ini berpotensi untuk dikembangkan pada berbagai keperluan dan target. Kelebihan lain adalah adanya peningkatan afinitas dari sistem karena peningkatan luas permukaan kontak pada jumlah yang sama (Buzea *et al.*, 2007).

Produk nanoenkapsulasi diharapkan menghasilkan sifat-sifat seperti penyimpanan akan lebih baik dan memberikan perlindungan terhadap komponen bioaktif seperti vitamin, antioksidan, pigmen, protein dan lipid serta karbohidrat, sehingga dapat meningkatkan sifat-sifat fungsional dan stabilitasnya (Carvajal *et al.*, 2010). Menurut Hirano *et al.* (2010) aplikasi nanoteknologi sebagai sistem pengantaran senyawa aktif memberikan sejumlah keuntungan yaitu mudah dimodifikasi sesuai kebutuhan karena memiliki ukuran partikel dan karakteristik permukaan partikel nano, dapat mengontrol dan mempertahankan pelepasan senyawa aktif selama transportasi sehingga mengurangi efek samping serta proses pelepasan senyawa aktif dapat terkontrol.

2.2.2 Metode Pembuatan Nanopartikel

Karakteristik bahan awal yang akan digunakan menjadi pengaruh dalam pemilihan metode pembuatan nanopartikel. Nanopartikel dapat dibuat dari berbagai macam bahan seperti protein, polisakarida, dan polimer sintetik. Menurut Mohanraj dan Chen (2006), dalam pembuatan nanopartikel banyak menggunakan tiga metode, yaitu dispersi polimer, polimerisasi monomer sintesis, dan gelasi ionik. Metode dispersi polimer merupakan teknik umum yang digunakan untuk metode evaporasi pelarut dan metode difusi pelarut. Metode evaporasi pelarut, polimer dan obat masing-masing dilarutkan dalam pelarut organik. Campuran

larutan polimer dan obat tersebut kemudian diemulsikan dalam larutan yang mengandung surfaktan untuk membentuk emulsi minyak dalam air (o/w). Setelah emulsi yang terbentuk stabil, pelarut organik kemudian diuapkan (Delie, 2005).

Metode polimerisasi monomer sintesis dilakukan dengan mendispersikan suatu monomer yang tidak larut air ke dalam fase pendispersi air, kemudian diinduksi dan diberi pengendali reaksi berupa inisiator kimia, variasi pH, dan stabilizer (Delie, 2005). Metode gelasi ionik merupakan metode yang berkembang luas dan banyak digunakan (Tiyaboonchai, 2003). Prinsip metode gelasi ionik yaitu adanya sambung silang antara polielektrolit dan ion multivalen dimana kitosan sebagai polielektrolit sedangkan tripolifospat sebagai polikationik (ion multivalen). Prosedur meliputi pencampuran dua fase cair yaitu fase yang mengandung kation dan fase yang mengandung anion multivalen (Mohanraj dan Chen, 2006).

2.2.3 Karakterisasi Nanopartikel

Nanopartikel yang dihasilkan perlu dilakukan karakterisasi yang tujuannya untuk memperkirakan kinerja dan untuk merancang partikel, pengembangan formulasi dan mengatasi masalah-masalah dalam proses pembuatan nanopartikel. Berikut ini adalah karakteristik yang harus dimiliki oleh nanopartikel:

a. Ukuran dan Distribusi Partikel

Ukuran dan distribusi partikel merupakan karakteristik yang paling penting dalam sistem nanopartikel yang fungsinya untuk memperkirakan distribusi secara *in vivo*, biologis, toksisitas, dan kemampuan membidik dari sistem nanopartikel (Mohanraj dan Chen, 2006). Menurut Singh dan Lillard (2009), ukuran partikel akan mempengaruhi pelepasan senyawa aktif maupun stabilitas nanopartikel. Ukuran partikel pada pembuatan nanopartikel dengan metode gelasi ionik dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain konsentrasi polimer yang digunakan, kecepatan tetesan agen pelarut silang dan kecepatan putaran pada saat sintesis nanopartikel. Partikel dapat dikatakan berukuran nano apabila berukuran 10-1000 nm (Mohanraj dan Chen, 2006). Menurut Diba *et al.* (2014) karakteristik nanopartikel dapat diketahui dengan menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*). Karakteristik yang diamati meliputi ukuran partikel,

distribusi ukuran nanopartikel yang dinyatakan sebagai Indeks Polidispersitas (IP).

Ukuran dan distribusi nanopartikel diukur menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) menggunakan prinsip *photon correlation spectroscopy* dan *electrophoretic light scattering*. Pengukuran menggunakan PSA memiliki rentang 0,6 μm – 7 nm (Coulter, 2008). Diameter partikel yang baik dalam rentang skala nano (10-1000 nm) dan indeks polidispersitas yang baik nilainya lebih kecil dari 0,7 yang menyatakan sampel dengan partikel yang monodispersi (Nidhin *et al.*, 2008). Nilai indeks polidispersitas mendekati 0 menunjukkan dispersi ukuran partikel yang homogen sedangkan indeks polidispersitas lebih dari 0,5 menunjukkan heterogenitas yang tinggi sehingga sampel dengan nilai indeks polidispersitas $> 0,7$ memiliki distribusi ukuran yang sangat luas (Avadi *et al.*, 2010). Menurut Manmode (2009), semakin kecil angka indeks polidispersitas maka semakin seragam ukuran partikel karena perbedaan ukuran antar partikel yang semakin besar akan mempengaruhi karakteristik partikel.

b. Zeta Potensial

Zeta potensial adalah ukuran muatan permukaan partikel yang tersebar dalam medium pendispersi. Muatan zeta potensial partikel harus lebih tinggi dari medium pendispersi untuk mencegah agregasi. Zeta potensial harus dapat dikendalikan (Vaughn dan Williams, 2007). Nanopartikel dengan nilai potensial zeta lebih kecil dari -30 mV dan lebih besar dari +30 mV memiliki stabilitas lebih tinggi (Murdock *et al.*, 2008). Menurut Mohanraj dan Chen (2006), nanopartikel dengan zeta potensial di atas ± 30 mV lebih stabil karena muatan pada permukaan nanopartikel dapat mencegah terjadinya agregasi antar partikel. Sistem dispersi dengan nilai zeta potensial yang rendah lebih mudah membentuk agregat seiring dengan gaya Van der Waals dalam interaksi partikel (Nanocomposix, 2012).

c. Efisiensi Enkapsulasi

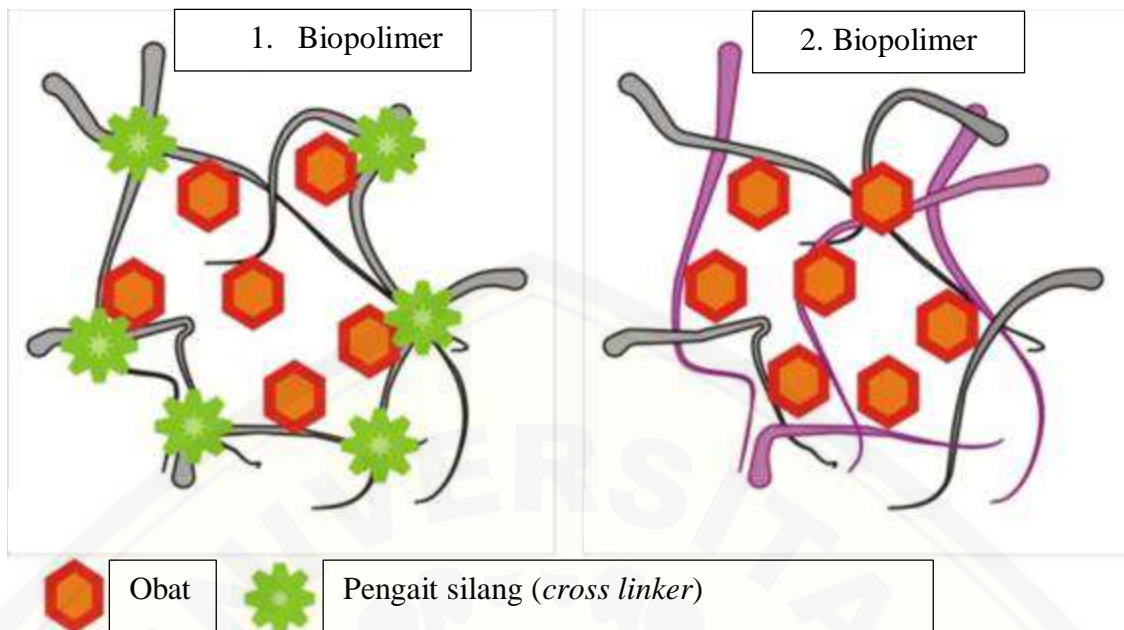
Efisiensi enkapsulasi digunakan untuk menentukan rasio antara kandungan bahan aktif yang tertangkap dalam nanopartikel dengan total bahan aktif yang digunakan dalam formulasi (Chabib *et al.*, 2012). Efisiensi enkapsulasi sangat dipengaruhi oleh kombinasi obat polimer dan metode yang digunakan (Mohanraj

dan Chen, 2006). Penentuan efisiensi enkapsulasi nanopartikel untuk bahan aktif yang memiliki gugus kromofor dapat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer UV (Ramachandran *et al.*, 2011). Faktor yang berpengaruh terhadap efisiensi enkapsulasi antara lain sifat alami bahan aktif, konsentrasi kitosan, rasio polimer obat, dan kecepatan pengadukan. Nilai efisiensi enkapsulasi dapat dinyatakan baik apabila nilainya lebih besar dari 50% (Kafshgari *et al.*, 2011).

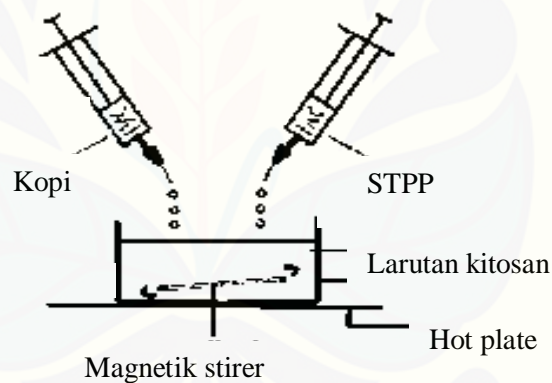
2.3 Gelasi Ionik

Pembuatan nanopartikel dengan metode gelasi ionik merupakan metode yang paling sederhana dan relatif murah (Jonassen *et al.*, 2013). Gelasi ionik merupakan metode yang melibatkan proses sambung silang antara polielektrolit kitosan yang bermuatan positif dengan polianion STPP yang bermuatan negatif. Pembentukan ikatan sambung silang ini akan memperkuat kekuatan mekanis dari partikel yang terbentuk (Park dan Yeo, 2007). Ilustrasi matriks gelasi ionik dapat dilihat pada Gambar 2.2.

Kitosan merupakan polimer kationik yang dapat bereaksi dengan anion multivalen seperti tripolifosfat. Pada metode gelasi ionik, kitosan dilarutkan dalam larutan asam untuk memperoleh kation kitosan. Larutan tersebut ditambahkan dengan meneteskan larutan sodium tripolifosfat (STPP) sambil dilakukan pengadukan. Kompleksasi antara muatan yang berbeda menyebabkan kitosan mengalami gelasi ionik dan presipitasi membentuk partikel bulat seperti bola. Nanopartikel terbentuk secara spontan akibat pengadukan mekanis pada suhu kamar (Tiyaboonchai, 2003). Proses gelasi ionik antara kitosan dan STPP dapat dilihat pada Gambar 2.3. Sistem satu biopolimer pada Gambar 2.3 menunjukkan adanya polimer yang muatannya berlawanan dengan senyawa aktif dan pengait silang sebagai penstabil, sedangkan pada sistem dua biopolimer menunjukkan adanya penggunaan dua polimer yang gugus muatannya berlawanan sehingga dapat membentuk matriks menjerap molekul senyawa aktif.



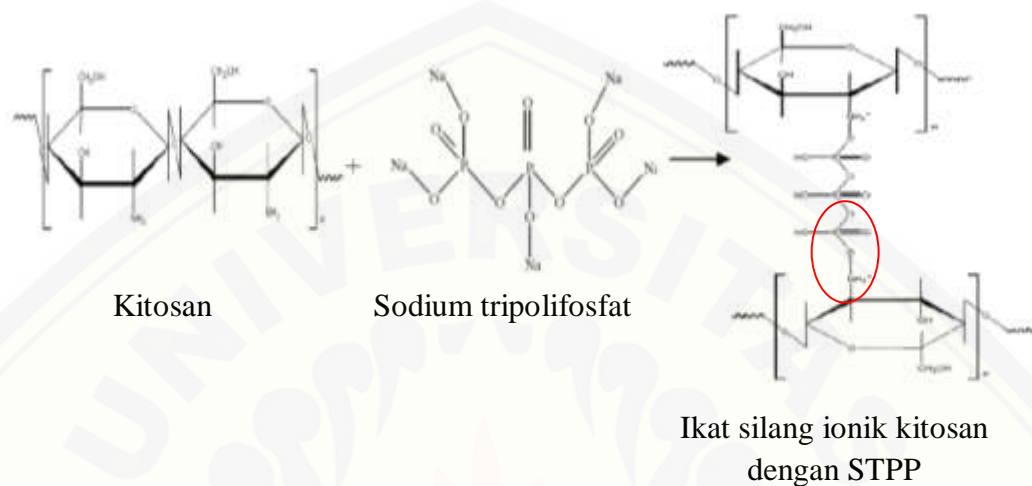
Gambar 2.3 Matriks nanopartikel dengan metode gelasi ionik (Martien, 2012)



Gambar 2.4 Proses gelasi ionik antara kitosan dan STPP (Racovita *et al.*, 2009)

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan dalam pembuatan nanopartikel adalah konsentrasi polimer dan elektrolit sambung silang, suhu dan waktu, pH larutan sambung silang dan konsentrasi senyawa bioaktif. Konsentrasi polimer dan elektrolit sambung silang sangat berpengaruh besar terhadap pembentukan matrik nanopartikel. Proses sambung silang yang baik dapat menentukan persen efisiensi penjerapan terhadap bahan yang akan dijerap. Menurut Wu *et al.* (2005), pembentukan nanopartikel dengan metode gelasi ionik hanya terjadi pada konsentrasi kitosan dan STPP tertentu. Pada metode gelasi ionik, mekanisme pembentukan nanopartikel kitosan didasarkan pada interaksi elektrostatis antara

gugus positif amino kitosan dan gugus negatif STPP yang akhirnya secara spontan membentuk nanopartikel (Bodmeier *et al.*, 1994). Ilustrasi interaksi elektrostatik antara gugus positif amino kitosan dan gugus negatif STPP dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Interaksi Ionik antara kitosan dan STPP (Longmi *et al.*, 1999)

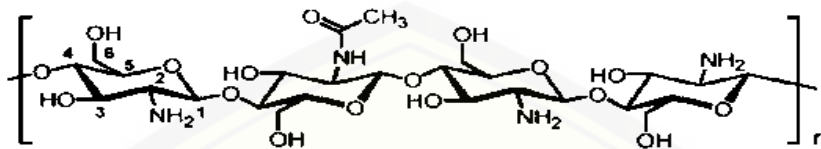
Suhu dan waktu berperan dalam menentukan ukuran partikel dalam metode gelasi ionik. Menurut Tsai *et al.* (2008), ukuran partikel kitosan-STPP yang dibuat dengan metode gelasi ionik dipengaruhi oleh penggunaan energi mekanik yang berbeda, waktu perlakuan yang berbeda, konsentrasi kitosan yang berbeda dan suhu larutan yang berbeda. pH larutan sambung silang merupakan faktor yang dipertimbangkan selama formulasi karena menunjukkan efek pada laju reaksi, bentuk dan ukuran partikel. Konsentrasi senyawa bioaktif dapat mempengaruhi efisiensi penjerapan. Jika rasio obat-polimer melebihi kisaran maka dapat mengakibatkan efek *bursting*, densitas partikel meningkat serta ukuran dan bentuk dari partikel juga meningkat (Patil *et al.*, 2012).

2.4 Kitosan

2.4.1 Pengertian dan Struktur Kitosan

Kitosan memiliki rumus molekul $(C_6H_{11}NO_4)_n$ yang merupakan salah satu polimer alam yang berbentuk polielektrolit kationik dalam larutan asam organik. Kitosan memiliki ciri tidak berbau, berbentuk serpihan atau serbuk berwarna krem

hingga putih. Kitosan termasuk jenis polimer rantai yang tidak linier dan memiliki rumus umum $(C_6H_{11}NO_4)_n$ atau disebut sebagai (1,4)-2-Amino-2-Deoksi- β -D-Glukosa. Kitosan tergolong ke dalam senyawa kelompok polisakarida (Rismana, 2006). Ilustrasi struktur kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.6.

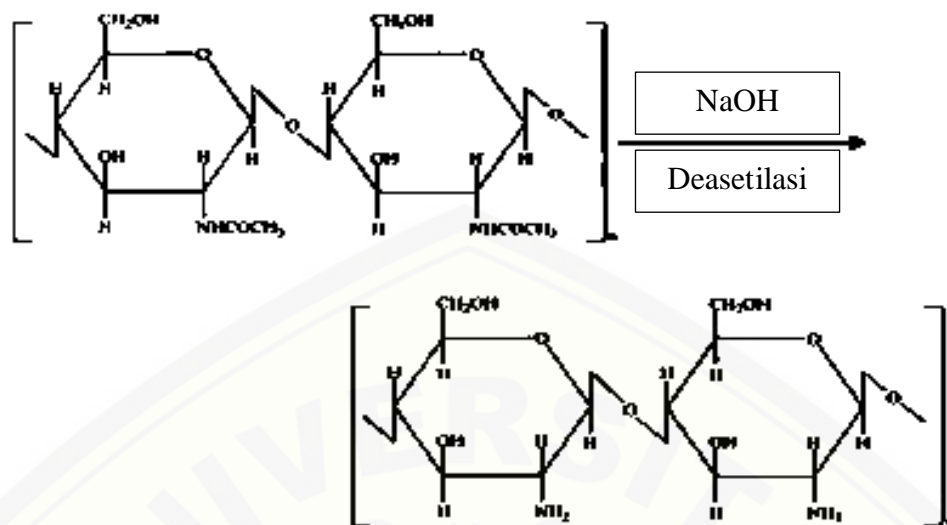


Gambar 2.6. Struktur Kitosan (Thate, 2004)

2.4.2 Sumber dan Sintesis Kitosan

Kitosan dapat disintesis dari kulit udang atau kepiting karena mengandung senyawa kimia kitin dan kitosan (Nadia, 2014). Produksi kitosan dengan bahan dasar kulit udang atau kepiting melalui empat proses utama yaitu proses deproteinasi, demineralisasi, penghilangan warna/pemucatan dan deasetilasi. Kitosan diperoleh dari kitin melalui proses deasetilasi. Kitin memiliki rumus molekul $(C_8H_{13}NO_5)_n$ yang diperoleh dengan proses deproteinasi dan demineralisasi (Paniche, 1998).

Proses demineralisasi adalah proses penghilangan mineral yang dikandung kulit kepiting atau udang dalam larutan asam klorida (HCl). Setelah melalui proses demineralisasi dilanjutkan dengan tahap deproteinasi, yaitu proses penghilangan protein dalam larutan natrium hidroksida (NaOH). Tahap selanjutnya dilakukan pemucatan dalam kalium permanganat ($KMnO_4$) dan terbentuk kitin. Tahap yang terakhir yaitu proses deasetilasi yaitu penghilangan gugus asetil ($-COCH_3$) dari kitin melalui proses perebusan dalam natrium hidroksida pekat. Setiap tahap selalu diikuti dengan proses pencucian dengan menggunakan aquades atau air bersih sampai netral (Suptijah *et al.*, 1992). Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7. Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan (Kumar, 2000)

Kitosan dengan derajat deasetilasi tinggi, lebih dari 85%, dan berat molekul rendah digunakan sebagai antibakteri, antifungi, antioksidan, antitumor dan *immunoenhancing*. Kitosan untuk aplikasi membran dan penyalut dibutuhkan kitosan dengan derajat deasetilasi sekitar 70 % dan berat molekul tinggi (Emmawati *et al.*, 2007). Penggunaan presentase kitosan terbaik untuk menyalutkan senyawa aktif asap cair yaitu 0,12% (Ali *et al.*, 2014).

2.4.3 Sifat Fisik dan Kimia Kitosan

Kitosan memiliki sifat terdiri dari dua jenis polimer yaitu poli (2-deoksi,2-asetilamin,2-glukosa) dan poli (2-deoksi,2-amino glukosa) yang berikatan secara beta (1,4). Kitosan larut dalam pelarut organik, HCl encer, HNO₃ encer, CH₃COOH encer, HCOOH encer, dan H₃PO₄ 0,5%, tetapi tidak larut dalam basa kuat dan H₂SO₄. Sifat kelarutan kitosan dipengaruhi oleh bobot molekul dan derajat deasetilasi. Bobot molekul kitosan beragam, tergantung pada degradasi yang terjadi selama proses deasetilasi (Sugita *et al.*, 2010).

Kitosan mempunyai sifat asam dan larut dalam pH sekitar 4 (Asam Organik) (Harahap, 2012). Menurut Rismana (2006) sifat alami kitosan dapat dibagi menjadi sifat besar yaitu sifat kimia dan biologi. Sifat yang dimiliki oleh kitosan adalah dapat larut dalam media asam encer membentuk larutan yang kental sehingga dapat digunakan dalam pembuatan gel, membentuk kompleks

yang tidak larut dengan air dengan polianion (mengandung banyak anion/muatan), dapat digunakan sebagai pengkelat ion logam berat dimana gelnya menyediakan sistem produksi terhadap efek destruksi (pemecahan unsur) dari ion.

2.4.4 Penerapan Kitosan dalam Sintesis Nanopartikel

Kitosan dapat diterapkan dalam berbagai bidang industri modern, misalnya farmasi, biokimia, kosmetika, industri pangan, dan industri tekstil (Berger *et al.*, 2004). Proses pembuatan nanopartikel banyak menggunakan kitosan. Kitosan memiliki sifat biodegradabel, biokompatibel, dan tidak toksik. Kitosan juga memiliki kemampuan dalam mengontrol pengeluaran zat aktif, sehingga banyak digunakan untuk sistem penghantaran obat farmasetik (Wijaya, 2013).

Sintesis nanopartikel menggunakan kitosan sebagai sistem penghantar obat yang baik karena memiliki sifat mekanik dan terurai lebih lambat sehingga pelepasan obat akan lebih terkontrol (Bowman dan Leong, 2006). Penelitian pembuatan nanopartikel menggunakan kitosan telah banyak dilakukan diantaranya yaitu penelitian yang dilakukan oleh Iswandana *et al.* (2013) tentang pembuatan nanopartikel verapil hidrokloridal variasi penambahan kitosan dan tripoliposat dengan metode gelasi ionik. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Dewandari *et al.* (2013) tentang pembuatan nanopartikel dengan variasi kitosan pada ekstrak daun sirih merah.

2.5 Antioksidan

2.5.1 Definisi dan Jenis Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi dari radikal bebas. Mekanisme kerja dari senyawa antioksidan adalah dengan cara menodonorkan atom hidrogen atau proton kepada senyawa radikal, sehingga menjadikan senyawa radikal lebih stabil (Fitriana, 2015). Menurut Lingga (2012), antioksidan adalah senyawa yang mampu menetralkan radikal bebas yang berasal dari dalam atau luar tubuh manusia. Menurut Kadafi (2015), antioksidan alami mempunyai struktur kimia dan stabilitas ketahanan yang berbeda-beda terhadap

panas. Senyawa antioksidan yang tidak tahan lama terhadap panas akan terdegradasi lebih cepat.

Radikal bebas adalah atom atau senyawa yang kehilangan pasangan elektronnya yang dapat menyebabkan radikal bebas tidak stabil dan sangat reaktif dan selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan senyawa lain (protein, lemak, maupun DNA) dalam tubuh (Winarti, 2010). Sumber radikal bebas dapat berasal dari sisa hasil metabolisme tubuh dan dari luar tubuh seperti makanan, sinar UV, polutan dan asap rokok. Jumlah radikal bebas yang terus meningkat dalam tubuh dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif sel. Hal ini terjadi karena terjadi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh. Jika hal ini terus menerus terjadi maka dapat memicu munculnya penyakit degeneratif seperti kanker (Wijeratne, 2005), diabetes, peradangan dan kardiovaskuler (Stocker, 2004).

Antioksidan dibedakan menjadi tiga jenis yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier (Kartikawati, 1999). Antioksidan primer atau disebut juga *chain breaking antioxidant* merupakan antioksidan yang memiliki fungsi memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi lebih stabil sehingga dapat mengurangi terbentuknya radikal bebas baru dalam tubuh. Beberapa contoh antioksidan primer yaitu GSH-px, SOD, katalase. Antioksidan sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi sebagai pengikat radikal bebas dan dapat mencegah reaksi berantai radikal. Beberapa contoh dari antioksidan sekunder yaitu vitamin B, vitamin E, betakaroten, asam urat, albumin dan bilirubin. Antioksidan tersier yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki secara molekuler yang contohnya yaitu enzim perbaikan DNA, metionin sulfide reduktase.

2.5.2 Metode Pengujian Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas dapat dilakukan dengan berbagai metode. Berikut ini adalah metode yang bisa digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan:

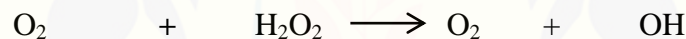
a. Radikal Hidroksil (OH)

Radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling reaktif dan berbahaya. Radikal hidroksil bukan produk primer proses biologis, melainkan berasal dari H_2O_2 dan O_2 (Kartikasari, 2015). Menurut Halliwell *et al.* (1987) radikal hidroksil dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel yaitu:

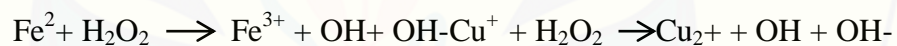
- 1) Asam lemak tak jenuh lemak (PUFA) yang merupakan komponen penting fosfolipid penyusun membran sel
- 2) DNA yang merupakan piranti genetik dari sel
- 3) Protein yang berperan penting sebagai enzim, reseptor, antibodi, pembentuk matriks, dan sitoskeleton

Pembentukan radikal hidroksil dapat melalui reaksi Haber-Weiss dan reaksi Fenton yang digambarkan sebagai berikut:

Reaksi Haber-Weiss



Reaksi Fenton



b. DPPH (*1,1 diphenyl-1-2-Picrylhidrazil*)

Metode DPPH (*1,1 diphenyl-1-2-Picrylhidrazil*) merupakan pengujian yang cepat, mudah, dan paling umum digunakan untuk mengukur kemampuan komponen pangan dalam mengikat radikal bebas dan mendonorkan hidrogen (Marinova, 2011). Reaksi yang terjadi pada metode DPPH didasarkan pada mekanisme tranfer elektron, radikal bebas DPPH akan distabilkan oleh senyawa antioksidan (Saputra, 2015). Mekanisme penangkalan radikal DPPH oleh kandungan antioksidan pada sampel berdasarkan donor atom hidrogen secara cepat dari senyawa antioksidan kepada senyawa radikal DPPH dan menghasilkan turunan berupa radikal antioksidan yang lebih stabil karena terjadinya resonansi pada cincin benzen terutama pada senyawa polifenol (Winarsi, 2007).

Metode DPPH merupakan uji untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel dengan cara melihat kemampuan senyawa antioksidan dalam sampel untuk menangkal radikal bebas DPPH. Reaksi yang terjadi adalah terjadi

pendonoran atom hidrogen dari substansi yang diujikan kepada radikal DPPH menjadi senyawa non radikal difenilpikrilhidrazin yang akan ditunjukkan dengan perubahan warna (Molyneux, 2004).

c. FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP didasarkan atas kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi senyawa besi (III)-tripiridil-triazin menjadi besi (II)-tripiridil-triazin pada pH 3,6 (Widyastuti, 2010). Menurut Vargia (2002) metode FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Kelebihan dari metode FRAP adalah murah, cepat dan reagen yang digunakan cukup sederhana serta tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidan.

Menurut Halvorsen *et al.* (2002), metode FRAP menggunakan TPTZ-Fe³⁺, kompleks besi ligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi. Kompleks TPTZ-Fe³⁺ yang berwarna kuning akan berfungsi sebagai zat pengoksidasi dan akan mengalami reduksi menjadi TPTZ-Fe²⁺ yang berwarna biru. Berikut adalah reaksi senyawa antioksidan pada metode FRAP yang mengandung TPTZ-Fe³⁺:



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Analisa Terpadu, Laboratorium Kimia dan Biokimia Fakultas Teknologi Pertanian, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember dan Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian Bogor. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus-Desember 2017.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, labu ukur, spatula, sendok, beaker glass, pipet mikro, corong, neraca analitik, *rotary evaporator* (buchi rotavapor R-114), refraktometer skala 0-32° brix (*Hand Refractometer* ATAGO), spektrofotometer (UV-1800), *magnetic stirrer*, PSA (*Particle Size Analyzer*) (Desal Nano C Beckman Coulter), TEM (*Transmission Electron Microscopy*) (SEM-EDS JEOL-JSM 6510 AL), vortex mixer (VM-300), hot plate (IKA °C-MAG HS 7), sentrifuge, ayakan 400 mesh, dan pompa vakum.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku yang digunakan adalah biji kopi arabika sangrai dari Zhibond Coffee di Jember. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari kitosan merek sigma aldrich, sodium tripolipospat (STPP) teknis, asam asetat, DPPH (*1,1 diphenyl-1-2-Picrylhidrazil*) merek sigma aldrich, reagen *follin-ciocalteau*, asam galat merek sigma aldrich, metanol merek KGaA, trolox, Na₂CO₃ merek KGaA, HCl, TPTZ (*2,4,6- Tripyridyl-S-triazine*) merek sigma aldrich, FeCl₃.6H₂O, sodium asetat trihydrate, buffer fosfat, TBA, TCA, asam askorbat, H₂O₂, deoksiribosa, iron ammonium sulfat dan akuades.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian terdiri dari 4 tahap yaitu: 1) proses ekstraksi kopi arabika sangrai, 2) pengujian karakteristik ekstrak kopi arabika sangrai, 3) sintesis nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai, 4) pengujian fisik dan kimia nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai. Ekstrak kopi arabika sangrai yang dihasilkan dilakukan karakterisasi diantaranya pengukuran total padatan terlarut, pH, rendemen, total polifenol, aktivitas antioksidan metode DPPH dan melanoidin. Nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika yang dihasilkan, kemudian dilakukan pengujian fisik dan kimia. Pengujian sifat fisik yang dilakukan terdiri dari efisiensi enkapsulasi, ukuran partikel, distribusi partikel, dan zeta potensial dengan menggunakan PSA, morfologi menggunakan TEM serta interaksi antar gugus fungsi menggunakan FTIR. Pengujian kimia yang dilakukan terdiri dari melanoidin, kandungan total polifenol dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, FRAP dan radikal hidroksil.

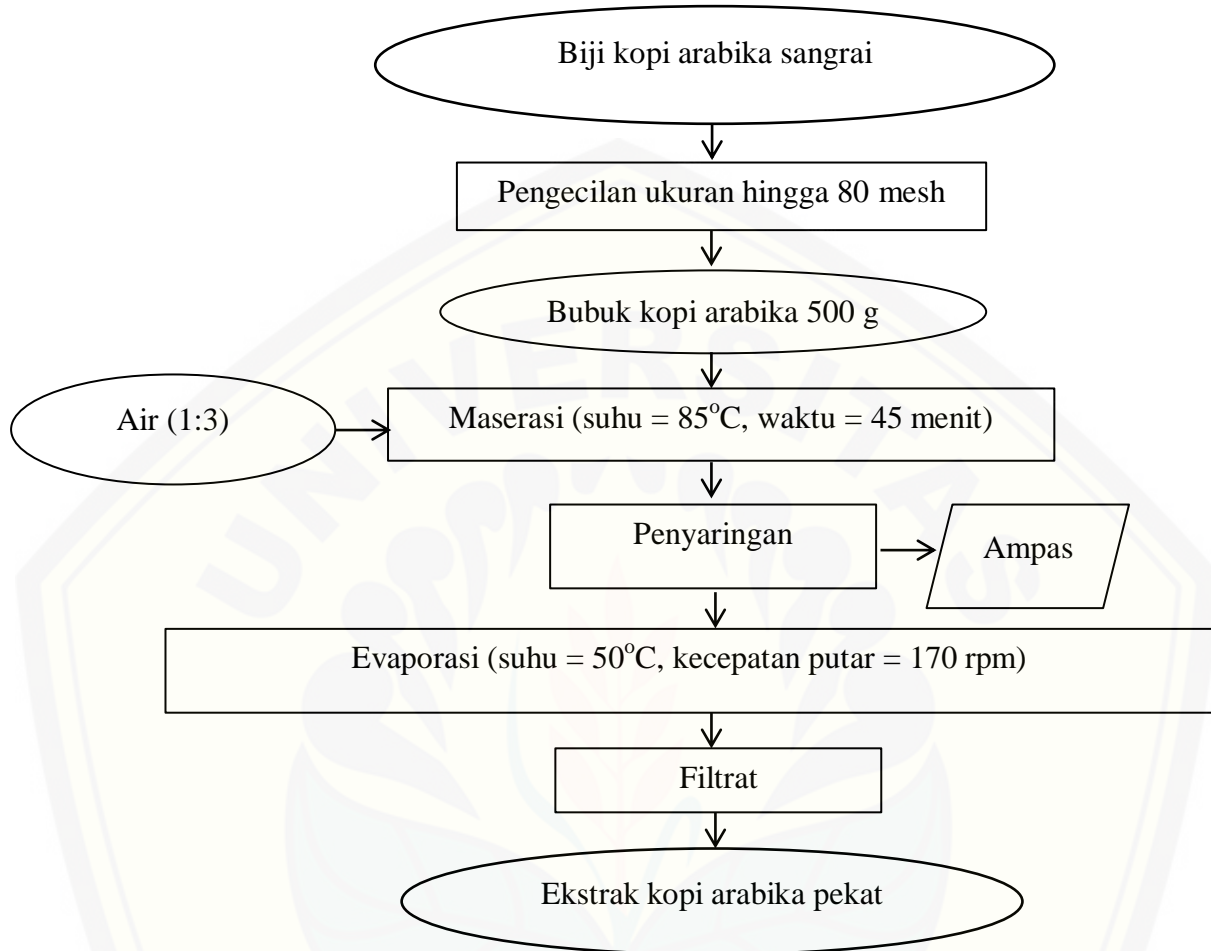
3.3.1 Ekstraksi Bubuk Kopi Arabika Sangrai

Biji kopi arabika sangrai dihaluskan hingga menjadi bubuk. Bubuk kopi arabika sangrai sebanyak 500 g dimaserasi dengan menggunakan air pada perbandingan 1:3. Maserasi tersebut dilakukan pada suhu 85°C selama 45 menit. Tahap selanjutnya adalah penyaringan yang fungsinya untuk memisahkan ekstrak kopi dengan ampas kopi. Ekstrak kopi yang diperoleh kemudian dilakukan evaporasi dengan suhu 50°C dan kecepatan putar 170 rpm hingga diperoleh ekstrak kopi arabika pekat. Diagram alir ekstraksi bubuk kopi arabika disajikan pada Gambar 3.1.

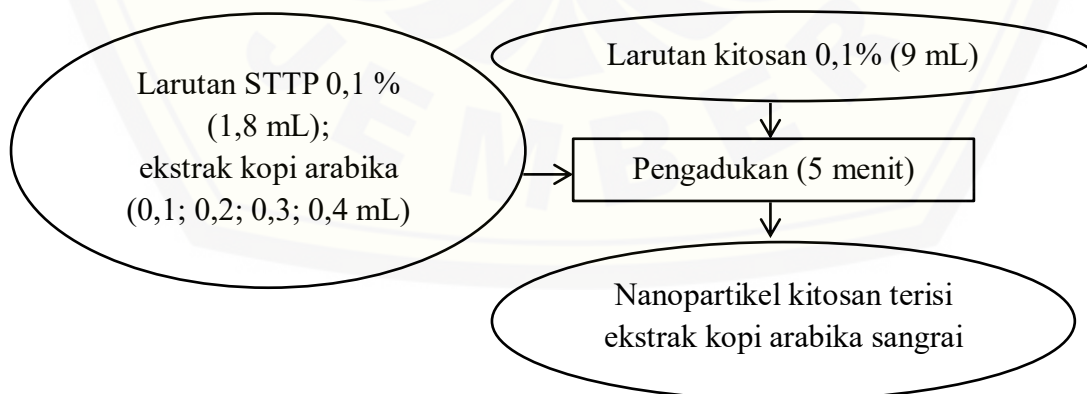
3.3.2 Sintesis Nanopartikel Kitosan terisi Ekstrak Kopi Arabika Sangrai

Sintesis nanopartikel mengacu pada penelitian dari Dewandari *et al.* (2013) dengan modifikasi. Bahan enkapsulan berupa kitosan dilarutkan dalam asam asetat dengan konsentrasi (0,1 dan 0,2 %/b/v). Larutan kitosan sebanyak 9 ml diaduk dan ditambahkan larutan STTP 0,1% sebanyak 1,8 mL. Larutan tersebut ditambahkan ekstrak kopi arabika sebanyak (0,1; 0,2; 0,3; 0,4 mL) dan diaduk kembali hingga homogen selama 5 menit. Diagram alir sintesis

nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.1 Diagram alir proses ekstraksi bubuk kopi arabika sangrai



Gambar 3.2 Diagram alir sintesis nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai

3.3.3 Parameter Pengamatan

Penelitian ini melakukan pengujian sifat fisik dan kimia dari ekstrak kopi arabika sangrai serta nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai. Adapun parameter pengamatan sebagai berikut:

- a. Karakterisasi ekstrak kopi arabika sangrai
 - 1) Pengukuran total padatan terlarut
 - 2) Pengukuran pH
 - 3) Rendemen
 - 4) Analisis kandungan total polifenol
 - 5) Pengujian pigmen coklat melanoidin
 - 6) Analisis aktivitas antioksidan
- b. Karakterisasi nanopartikel kitosan terisi kopi arabika
 - 1) Efisiensi enkapsulasi
 - 2) Ukuran partikel, distribusi partikel dan zeta potensial dengan PSA (*Particle Size Analyzer*)
 - 3) Morfologi partikel dengan TEM (*Transmission Electron Microscopy*)
 - 4) Analisis spektrum inframerah atau FTIR (*Fourier Transform Infrared*)
 - 5) Pengujian pigmen coklat melanoidin
 - 6) Analisis kandungan total polifenol
 - 7) Analisis aktivitas antioksidan (metode DPPH, FRAP dan radikal OH)

3.3.4 Prosedur Analisis

a. Pengukuran Total Padatan Terlarut

Pengukuran total padatan terlarut pada ekstrak kopi arabika mengacu pada penelitian Meikapasa dan Seventilofa (2016) dengan modifikasi. Pengukuran total padatan terlarut dilakukan dengan cara mengambil 1 tetes ekstrak kopi arabika sangrai dan diteteskan pada alat *hand refraktometer* yang telah dikalibrasi dengan aquades. Refraktometer diarahkan pada sumber cahaya sehingga dapat dilihat skalanya. Nilai yang muncul menunjukkan besarnya total padatan terlarut pada ekstrak kopi arabika sangrai dalam derajat satuan $^{\circ}\text{Brix}$.

b. Pengukuran pH

Pengukuran pH sampel dapat dilakukan dengan menggunakan alat pH meter yang mengacu pada metode AOAC (2005). Alat pH meter distandarisasi terlebih dahulu dengan buffer pH 4 dan 7 sesuai kisaran pH sampel. Pengukuran pH dilakukan dengan cara mencelupkan elektroda pH meter ke dalam 10 ml sampel.

c. Rendemen

Pengukuran rendemen ekstrak kopi arabika dilakukan dengan mengacu pada metode AOAC (2005). Sampel ekstrak kopi arabika sangrai dikeringkan dalam *freeze dryer* selama 24 jam. Rendemen dihitung berdasarkan berat kering ekstrak dibandingkan dengan volume ekstrak awal. Perhitungan hasil rendemen dapat dilakukan dengan cara:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat kering ekstrak}}{\text{volume ekstrak sebelum pengeringan}} \times 100\%$$

d. Efisiensi enkapsulasi

Pengujian efisiensi enkapsulasi dari nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika dilakukan dengan pengujian kandungan total polifenol. Metode pengukuran efisiensi enkapsulasi mengacu pada penelitian Sahu *et al.* (2014). Sampel dicuplik 1 ml yang selanjutnya akan dilakukan pemisahan sehingga diperoleh supernatan. Pemisahan dilakukan dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 18000 rpm selama 45 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian total polifenol. Perhitungan dari efisiensi enkapsulasi adalah:

$$\text{Efisiensi enkapsulasi (\%)} = \frac{\text{total polifenol ekstrak} - \text{total polifenol bebas}}{\text{total polifenol ekstrak}} \times 100\%$$

e. Ukuran dan distribusi ukuran nanopartikel

Menurut Koucha *et al.* (2012) pengukuran ukuran dan distribusi ukuran partikel pada nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai adalah meneteskan sebanyak 5 tetes sampel ke dalam aquades 20 mL dan sebanyak 3 mL sampel dimasukkan ke dalam kuvet untuk dianalisis dengan PSA (*Particle Size Analyzer*). Data yang diperoleh sebagai keluaran pada komputer adalah ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel. Data distribusi ukuran partikel berupa

indeks polidispersitas yang menggambarkan homogenitas suatu dispersi dengan rentan nilai 0-1. Nilai indeks polidispersitas yang mendekati 1 menandakan bahwa heterogenitas, sedangkan nilai di bawah 0,5 menunjukkan homogenitas.

f. Zeta Potensial

Pengukuran zeta potensial mengacu pada metode Jonassen *et al.* (2013). Zeta potensial diukur dengan menggunakan alat PSA. Sampel nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai dicuplik sebanyak 0,7 ml diletakkan ke dalam *flow cell* dan dikarakterisasi sifat elektrokinetiknya pada suhu 25°C.

g. TEM (*Transmission Electron Microscopy*)

Analisa TEM mengacu pada metode Laili *et al.* (2014). Pengujian TEM untuk mengetahui morfologi nanopartikel. Cara pengujiannya adalah meneteskan droplet nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika ke grid tembaga. Setelah meresap dan kering, kemudian dilakukan *coating* menggunakan karbon dan dimasukkan ke dalam holder dan sampel siap untuk dianalisis.

h. Pengujian gugus fungsi dengan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

Sampel nanopartikel yang akan dilakukan pengujian gugus fungsi dengan FTIR dilakukan pengeringan terlebih dahulu menggunakan pengering beku. Pengujian gugus fungsi dengan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) mengacu pada metode Dedin *et al.*, (2006) yang telah dimodifikasi. Analisis FTIR dilakukan untuk mengetahui perubahan gugus fungsi dari sampel kitosan, STPP, ekstrak kopi arabika dan nanopartikel kitosan terisi kopi arabika. Sampel dalam bentuk bubuk dicampur dengan bubuk KBr (Kalium Bromida) dengan perbandingan 1/100 dan aduk hingga rata. Capuran tersebut dicetak hingga menjadi pelet. Sampel pelet tersebut dianalisis dengan spektrofotometer FTIR pada panjang gelombang 400-4000 cm^{-1} . Spektrum FTIR kitosan, STPP, ekstrak kopi arabika dan nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika dianalisis sehingga diketahui interaksi gugus fungsi yang terdapat pada nanopartikel tersebut.

i. Total polifenol

Analisis total polifenol dilakukan secara spektrofotometri dengan metode *follin-ciocalteu* yang mengacu pada metode Slinkard dan Singleton (1977) dengan

modifikasi. Sampel sebanyak 0,1 ml dimasukkan pada tabung reaksi dan ditambahkan aquades 4,90 ml. Selanjutnya ditambahkan larutan *follin-ciocalteu* sebanyak 0,5 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian divortex hingga homogen dan didiamkan selama 5 menit. Tahap selanjutnya ditambahkan Na_2CO_3 7% sebanyak 1 ml dan divortex kembali. Larutan didiamkan selama 60 menit pada keadaan gelap dan diukur nilai absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm. Larutan blanko dibuat dengan cara yang sama tetapi sampel diganti dengan akuades pada jumlah yang sama. Kandungan total polifenol pada sampel dengan menggunakan kurva standar yang dibuat dari asam galat pada beberapa konsentrasi. Kandungan total polifenol dalam sampel dinyatakan sebagai mg GAE/mL, GAE = *gallic acid equivalent*. Persamaan kurva standar asam galat diperoleh $Y = 9,9392x + 0,0209$ ($R^2 = 0,9932$).

j. Pengujian pigmen coklat melanoidin

Pengujian pigmen coklat dilakukan untuk mengetahui kandungan melanoidin dalam ekstrak kopi arabika dan nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika. Sampel ekstrak kopi arabika 0,2 ml diencerkan menjadi 20 ml atau total pengenceran 100 kali lipat dengan menggunakan pelarut aquades. Sampel nanopartikel sebanyak 1 ml diencerkan dengan pelarut aquades hingga menjadi 3 ml. Sampel diletakkan pada kuvet dan diukur pada panjang gelombang 420 nm pada suhu ruang menggunakan spektrofotometer (Bartel *et al.* 2015).

k. Pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH mengacu pada Yamaguchi *et al.* (1998) dengan modifikasi. DPPH 100 μM sebanyak 3 ml dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan sampel ekstrak kopi arabika dan nanopartikel sebanyak 0,05 ml, kemudian ditambahkan metanol 2,95 ml dan divortex. Larutan didiamkan selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai *trolox equivalent antioxidant capacity*/ TEAC (mmol TE/mL), TE = *trolox equivalent*. Persamaan kurva standar trolox diperoleh $Y = 0,1471x - 0,0117$ ($R^2 = 0,9969$).

l. Penguian aktivitas antioksidan metode FRAP

Prosedur analisis saktivitas antioksidan metode FRAP mengacu pada penelitian Benzie dan Strain (1996) dengan modofikasi. Larutan stok disiapkan yang diantaranya adalah larutan TPTZ 10 mM dalam HCl 40 mM, buffer asetat 300 mM pH 3,6 dan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Larutan FRAP dibuat dengan mencampurkan 25 ml buffer asetat, 2,5 ml larutan TPTZ dan 2,5 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Larutan diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Sampel nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika sangrai sebanyak 0,05 ml dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan FRAP sebanyak 2,95 ml kemudian didiamkan selama 30 menit dalam keadaan gelap. Tahap selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 539 nm. Kurva standar dibuat pada beberapa konsentrasi trolox. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam mmol TE/mL, Trolox, TE = *Trolox Equivalent*. Persamaan kurva standar trolox diperoleh $Y = 0,4041x + 0,023$ ($R^2 = 0,9963$).

m. Aktivitas antioksidan metode radikal hidroksil

Pengujian aktivitas antioksidan denga metode radikal hidroksil mengacu pada metode Halliwell *et al.* (1987). Nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 690 μL deoxyribose 2,5 mM (dalam 10 mM buffer fosfat pH 7,4), 100 μL campuran EDTA (1,04 mM) iron ammonium sulfat (1,0M), 200 μL asam askorbat (1 mM) dan 50 μL H_2O_2 (0,1 M), kemudian divortex. Campuran tersebut diinkubasi pada penangas air suhu 37°C selama 10 menit, kemudian ditambahkan 1 mL TCA (2,8%) dan 0,5 mL TBA (1%). Campuran dipanaskan pada penangas air berisi air mendidih selama 8 menit lalu didinginkan. Campuran diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. kurva standar dibuat pada beberapa konsentrasi trolox. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam mmol TE/mL, Trolox, TE = *Trolox Equivalent*. Persamaan kurva standar trolox diperoleh $Y = 0,0728x - 0,0022$ ($R^2 = 0,9921$).

3.4 Analisis Data

Data hasil penelitian diperoleh dari 3 kali pengulangan. Data tersebut dilakukan perhitungan rata-rata dan standar deviasi. Penyajian data disusun dalam bentuk tabel untuk mempermudah proses analisa. Data yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan pembahasan secara deskriptif berdasarkan literatur yang sesuai.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak kopi arabika yang digunakan pada penelitian ini memiliki karakteristik total padatan terlarut 29,00°Brix, rendemen 11,58%, pH 5,87; melanoidin 1,34 AU, total polifenol 12,12 mg GAE/mL, dan aktivitas antioksidan 5,43 mmol TE/mL.
2. Variasi konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi arabika menghasilkan nanopartikel terbaik pada formulasi konsentrasi kitosan 0,1% dan penambahan ekstrak kopi arabika 0,3 ml. Pengujian sifat fisik nanopartikel menghasilkan nilai pH 5,290; nilai efisiensi enkapsulasi 15,731%, ukuran partikel 297,267 nm, distribusi partikel 0,559 dan zeta potensialnya sebesar 25,470 mV. Nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika mengandung melanoidin 0,759 AU, total polifenol 0,619 mg GAE/ml, aktivitas antioksidan DPPH 0,085 mmol TE/ mL, aktivitas antioksidan FRAP 0,089 mmol TE/ mL dan aktivitas antioksidan radikal OH 0,032 mmol TE/ mL. Analisis FTIR pada nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika menunjukkan adanya interaksi elektrostatik antara kelompok fosfat STTP dengan kelompok amino dari kitosan. Morfologi dari nanopartikel tersebut berbentuk bulat karena adanya senyawa aktif yang terperap dalam kitosan.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai sintesis nanopartikel kitosan terisi ekstrak kopi arabika dengan metode yang lain sehingga diperoleh nilai efisiensi enkapsulasi lebih dari 50% dan nilai zeta potensial lebih dari 30 mV yang menandakan bahwa nanopartikel memiliki stabilitas yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- AAK. 1988. *Budidaya Tanaman Kopi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Aditya, I. W., Nocianitri, Ayu, K. Yusasrini, Ari N.L. 2016. Kajian Kandungan Kafein Kopi Bubuk, Nilai pH dan Karakteristik Aroma dan Rasa Seduhan Kopi Jantan (Pea Berry Coffee) dan Betina (Flat Beans Coffee) Jenis Arabika dan Robusta. *Jurnal Ilmu dan Teknologi* ISSN 2527-8010.
- Agbor, G.A., Vinson, J.A., Donnelly, P.E. 2014. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *Intl. J. Food Sci. Nutr. Diet.* 3(8): 147-156.
- Ali, D. S., Darmadji, P., Pranoto, Y. 2014. Optimasi Nanoenkapsulasi Asap Cair Tempurung Kelapa Dengan *Response Surface Methodology* Dan Karakterisasi Nanokapsul. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*. Vol. 25 No. 1 Th. 2014 ISSN: 1979-7788.
- Andasari, S. D. 2017. Formulasi Nanopartikel Zerumbon Dari Rimpang Lempuyang Gajah (Zingiber Zerumbet L.): Enkapsulasi dengan Kitosan dan Aktivitas Sitotoksiknya Terhadap Sel Kanker T47d. *Tesis*. Surakarta: Magister Farmasi Sekolah Pascasarjana Universitas Muhammadiyah.
- Arya, M. dan Rao L.J.M. 2007. An impression of coffee carbohydrates. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47: 51–67.
- Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis*. 18th edition. Association of Official Analytical Chemist. Washington DC, USA.
- Avadi, M.R., Assal M.M.S., Nasser M., Saideh A., Fatemeh A., Rassoul D., dan Moreza R. 2010. Preparation and Characterization of Insulin Nanoparticles using Chitosan and Arabic Gum with Ionic Gelation Method. *Nanomedicine; nanotechnology, Biology and Medicine* 6.
- Ayalign, A. dan Sabally, K. 2013. Determination of Chlorogenic Acids (CGA) in Coffee Beans using HPLC. *American Journal of Research Commucation* Vol 1(2).
- Bartel, C., M. Mesias, dan F. J. Morales. 2015. Investigation on the Extracibility of Melanoidins in Portioned Espresso Coffee. *Food Reaseach International*, 67: 356-365.
- Belitz HD, Grosch W, dan Schieberle P. 2009. *Food chemistry* (4th ed.). Springer, Heidelberg.

- Benzie, I. F. F., dan J. J. Strain. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power" : The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239 : 70-76.
- Berger J, Reist M, Mayera JM, Feltb O, Peppas NA, Gurny R. 2004. Structure and interaction In covalently and ionocally crosslinked chitosan hydragels for biomedical applications. *Europen Journal of Pharm And Biopharm* 6(57): 19-34.
- Bodmier, R., Wang, H., Herman, J. 1994. Microencapsulation of Chlorpheniramine maleate, a drug with intermediate solubility properties, by a non-aqueous solvent evaporation technique, *STP Pharma. Sci* 4, 275-281.
- Borrelli, Visconti, Mennella, Anese, dan Fogliano. 2002. Chemical Characterization and Antioxidant Propeties of Coffee Melanoidins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50 : 6527-6533.
- Bowman,k dan Leong,K.W. 2006. Chitosan Nanoparticles for Oral Drug and Gene Delivery, a Review. *International Journal Nanomedicine*. 1(2): 117-128.
- Butt, M., & Sultan, M. 2011. Coffee and Its Consumption: Benefits and Risks. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 363-373.
- Buzea, C., Blandino, I. I. P, and Robbie, K. 2007. Nanomaterial and Nanoparticles: *Sources and Toxicity. Biointerphases*. 2: MR170-MR172.
- Carvajal, M.X.Q, Diaz, B.H.C., Torres L.S.M., Perez, J.J.C., Beltran, L.A., Aparicio, A.J., Lopez, G.F.G. 2010. Nanoencapsulation: A New Trend In Food Engineering Processing. *Journal of Food Eng. Rev* 2: 39-50.
- Castelnuovo, A. D., Giuseppe, R. D., Iacoviello, L., Gaetano, G. D. 2012. Consumption Of Cocoa, Tea And Coffee And Risk Cardiovascular Disease. *European Journal Of Internal Medicine*. 23:1, 15-25.
- Chabib, L., Viren, R., Dimas, A.P., Zullies, I., Ronny, M., Hilda, I. 2012. Formulasi Snedds (Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System) Gamavuton ; Uji Aktivitas Penurunan Sitokinin TNF- α . *Prosiding Penenlitian Seminar Nasional Seri 6*. 200-2009.
- Ciptadi, W. dan Nasution, M.Z. 1985. *Pengolahan Kopi*. Bogor: Fakultas Teknologi Institut Pertanian Bogor.
- Cicco. N, and Vincenzo. L., 2011. The Influence of Initial Carbonate Concentration on the Folin-Ciocalteu Micro-Method for the Determination of Phenolics with Low Concentration in the Presence of Methanol: A

- Comparative Study of Real-Time Monitored Reactions. *American Journal of Analytical Chemistry*. 2: 840-848.
- Clarke, R. J. dan Macrae, R. 1987. *Coffee Chemistry Volume 1*. London Dan New York: Elsevier Applied Science.
- Coulter, Beckman. 2008. Delsa Nano Series. http://www.dafratec.com/pdf/catalogo_DelsaNano.pdf (18 April 2018).
- Dedin, F. R., Fardiaz, D., Apriyantono, A., Andarwulan, N. 2006. Isolasi dan Karakterisasi Melanoidin Kecap Manis dan Peranannya Sebagai Antioksidan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vol. XVII No. 3.
- Deladino, L., Anbinder, P. S., Navarro, A. S., And Martino, M. N. 2008. Encapsulation of Natural Antioxidant Extracted from *Ilex Paraguariensis*. *J. Carbohydrate Polymer*. 71 : 126-134.
- Delie, F. and Blanco, M.J. 2005. Polymeric Particulate to Improve Oral Bioavailabiliti of Peptide Drugs. *Molecules*, 10 : 65-75.
- Dewandari, K.T., Yuliani, S., Yasni, S. 2013. Ekstraksi Nanopartikel Ekstrak Sirih Merah (*Piper Crotum*). *Jurnal Pascapanen*. 10 (2) 2013: 58-65.
- Diba, R. F., Sedarnawati, Yuliani, S. 2014. Nanoemulsifikasi Spontan Ekstrak Jinten Hitam dan Karakteristik Produk Enkapsulasinya. *J.Teknol. dan Industri Pangan*. Vol 25 No. 2.
- Dudhani, A.R. dan Kosaraju, S.L. 2010. Bioadhesive Chitosan Nanoparticles: Preparation and Characterization. *Carbohydrate Polymers*. 81: 243–251.
- Emmawati, A., Laksmi Jenie, B.S., dan Fawzuya, Y.N. 2007. Kombinasi Perendaman dalam Natrium Hidroksida dan Aplikasi Kitin Deasetilase terhadap Kitin Kulit Udang untuk Menghasilkan Kitosan dengan Berat Molekul Rendah. *Jurnal Teknologi Pertanian* 3(1) 12
- Farah, A., Paulis, T.D., Trugo, L.C. & Martin, P.R. 2005. Effect Of Roasting On The Formation Of Chlorogenic Acid Lactones In Coffee. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*. 53 :1505–1513.
- Farah, Adriana. 2012. Coffee :Emerging Health Effects and Disease Prevention, First Edition. *John Willey & Sons, Inc and Institute of Food Technologists (USA)* : WileyBlackwell Publising Ltd.
- Fitriana, W. D., S. Fatmawati Dan T. Ersam. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH Dan ABTS Dari Fraksi-Fraksi Daun Kelor (*Moringa Oleifera*). *Prosiding Simposium Nasional Inovasi Dan Pembelajaran Sains* ISBN: 978-602-19655-8-0.
- Floegel, A., Pischon, T., Bergmann, M., Teucher, B., Kaaks, R., & Boeing, H. 2012. Coffee consumption and risk of chronic disease in the European

- Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)- Germany study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(4), 901-908.
- Gordon. 1990. The mechanism of antioxidant in vitro dalam food antioxidants hudson, B. J. F. London and New York: *Elsevier applied science*.
- Grenha, A., Gomes M.E., Rodrigues, M., Santo, V.E., Mano, J.F., Neves, N.M., Reis, R.L. 2009. Development of New Chitosan/Carrageenan Nanoparticles for Drug Delivery Applications. *J. Biomed. Material Res. Part A*.
- Gunalan, G., Myla, N., dan Balabhaskar, R. 2012. In Vitro Antioxidant Analysis Of Selected Coffe Bean Varietas. *Journal Of Chemical And Pharmaceutical Research*. 494 :2126-21232.
- Halliwel, B., Gutteridge, J. M. C., Aruoma, O. I. 1987. The Deoxyribose Method: A Simple Test Tube Assay For Determination Of Rate Constans For Reaction Of Hydroxyl Radicals. *Anal Biochem*. 165:215-219
- Halvorsen, B. L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S.F., Wold, A. B., Haffner, K., Baugerod, H., Andersen, L. F., Moskaug, O., Jacobs, D. R. Jr. Dan Blomhoff, R. 2002. A Systematic Screening Of Total Antioxidant In Dietary Plants. *J. Nutrition*. 132: 461-471.
- Hamni, A. 2014. Implementasi Sistem Gasifikasi Untuk Pengeringan Biji Kopi. *Jurnal Mechanical*. Vol.5. (No. 1).
- Hecimovic, I., A. Belscak, D. Horzic dan D. Komes. 2011. Comperative Study of Polyphenols and Caffeine in Different Coffee Varieties Affected by the Degree of Roasting. *J. Food Chemistry* 129: 991-1000.
- Hernandez, J. A., Heyd, B., Irls, C., Valdovinos, B., dan Trystram G. 2007. Analysis Of The Heat And Mass Transfer During Coffee Batch Roasting. *Journal Of Food Engineering*. 78, 1141-1148.
- Hirano, S., Seino, H., Akiyama Saya, Nonaka I. 2010. *Chitosan: Bahan Biokompatibel Untuk Pemberian Oral Dan Intravena*. Gebelein CG Dunn RL Eds. Kemajuan Polimer Biomedis. New York: Pleno Tekan. 2010: 283-289.
- Ismarani, D. I. Pradono, L. K. Darusman. 2011. Mikroenkapsulasi Ekstrak Formula Pegagan Kumis Kucing Sambiloto sebagai Inhibitor Angiotensin I Converting Enzyme secara in Vitro. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*, vol 3 no. 1.

- Iswandana R., Anwar E., dan Jufri M. 2013. Formulasi Nanopartikel Verapamil Hidroklorida dari Kitosan dan Natrium Tripolifosfat dengan metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol.6, No. 4.
- Iswandana, R., Anwar, E., Jufri, M. 2013. Formulasi Nanopartikel Verapamil Hidroklorida dari Kitosan dan Natrium Tripolipospat dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 6(4).
- Jonassen, H., Treves, A., Kjoniksen, 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* 2013. (14) 3523-3531.
- Kadafi, M. 2015. Aktivitas Antioksidan Kopi Biji Rambutan Non Kafein dengan Variasi Perbandingan Komposisi Beras Hitam yang Berbeda. *Skripsi*. Surakarta. Pendidikan Biologi FKIP UMS.
- Kafshgari, M.H., Khorram, M., Khodadoost, M., Khavari, S. 2011. Reinforcement of Chitosan nanoparticles Obtained by anionic Cross-linking Process. *Journal Polimer*. 20(5): 445-456.
- Kartikasari, R. 2010. Perbedaan Potensi Antioksidan Ekstrak Daun Girang (*Leea Inidica*) Dari Tanaman Nasional Meru Betiri Dengan Pelarut N-Heksan, Etil Asetat Dan Metanol. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Jember.
- Kartikawati, D. 1999. Study Efek Protectif Vitamin C dan Vitamin E Terhadap Respon Imun dan Enzim Antioksidan pada Mencit yang Dipapar paraquat. *Tesis*. Bogor: Sekolah pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Kumar MNVR. 2000. A Review of Chitin and Chitosan Applications. *React Funct Polym* 2000; 46: 1-27.
- Laili, H.N., Lina, W., Lusya, O.R.K.S. 2014. Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan-Naringenin dengan Variasi Rasio Massa Kitosan-Natrium Tripolifosfat. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2(2).
- Lee, J. H., Shim, J. S., Chung, M. S., Lim, S. T., Kim, K., H. 2008. In vitro anti-adhesive activity of green tea extract against pathogen adhesion. *Asian pasific journal of tropical biomedicine* 23:460-466.
- Lee, S. E, Park, K. H, Park, I. S, Na K. 2007. Glycol Chitosan As A Stabilizer For Protein Encapsulated Into Poly (Lactide-Co-Glycolide) Microparticle. *Int J. Pharm.* 338: 310-316.
- Leonardis, D. A., Pizzella, L. Dan Macciola, V. 2008. Evaluation Of Chlorogenic Acid And Its Metabolites As Potential Antioxidants For Fish Oil. *European Journal Of Lipid Science And Technology*. 110 (10) : 941-948.

- Lingga, L. 2012. *Bebas Hipertensi Tanpa Obat*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Longmi, F., Shin, S.S., Tsung, B.W., Shiang, F.J., Sung, T.L., Kai, T.L. 1999. Chitosan-Polyelectrolyte Complexation for the Preparation of Gel Beads and Controlled Release of Anticancer Drug. II. Effect of pH- Dependent Ionic Crosslinking or Interpolymer Complex Using Tripolyphosphate or Polyphosphate as Reagent. *J. Of App. Polymer Science*, Vol 74.
- Manmode, A.S., Sakarkar, D.M. and Mahajan, N.M. 2009. Nanoparticles-Tremendous Therapeutic Potential : A Review. *Int J. PharmTech Res*.
- Mardiyati, E., Muttaqien, S.E., dan Setyawati, D.R. (2012). Sintesis Nanopartikel Kitosan-Tripoly Phosphate Dengan Metode Gelasi Ionik: Pengaruh Konsentrasi Dan Rasio Volume Terhadap Karakteristik Partikel. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan 2012*. Halaman 90-93
- Marinova, G., Batcharov, V., 2011. Evaluation of The Methods for Determination of The Free Radical Scavenging Activity By DPPH. *Journal of Agricultural Science* 17 (1): 11-24.
- Martien, R., Adhyatmika, Iramie, D. K., Farida, V., Sari, D. P. 2012. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantar Obat. *Majalah Farmaseutik*, Vol. 8 No. 1.
- Meikapasa, N. W. P dan Seventilofa, I. G. N O., 2016. *Jurnal GaneÇ Swara* Vol. 10 No.1.
- Mi, F.L., Shyu, S.S., Lee, S.T., Wong, T.B. 1999. Kinetic Study of Chitosan-Tripolyphosphate Complex Reaction and Acid-Resistive Properties of the Chitosan-Tripolyphosphate Gel Beads Prepared Byin-Liquid Curing Method. *J Polym Sci*. 37:1551-1564.
- Misra H, D. Mehta, B.K. Mehta, M. Soni, D.C. Jain. 2008. Study of Extraction and HPTLC – UV Method for Estimation of Caffeine in Marketed Tea (*Camellia sinensis*) Granules. *International Journal of Green Pharmacy* : 47-51.
- Mohanraj, V. J., Chen Y. 2006. Nanoparticle. A Review. *J Pharmaceut Res* 5:561-573.
- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *J. Sci. Technol.* , 26(2), 211-21

- Mulato, S., dan H. Lestari. 2006. Kandungan Kafein, Asam Klorogenat, dan Trigonelin Kopi biji (*Coffea canephora*) varietas Robusta dalam Proses Dekafeinasi dengan Sistem Pengukusan-Pelarutan. *Agrosains*, 18 (3) : 343-347.
- Murdock, R.C., Braydich-Stole, L., Schrand, A.M., Schlager, J.J., Hussain, S.M. 2008. Characterization of Nanoparticle Dispersion in Solution Prior to In Vitro Exposure using Dynamic Light Scattering Tehnique. *Toxicol, Sci*, 101 : 239-253.
- Nadia, L. M. H., Suptijah, P., Ibrahim, B. 2014. Produksi dan Karakterisasi Nano Kitosan dari Cangkang Udang Windu dengan Metode Gelasi Ionik. *JPHPI*, Volume 17 Nomor 2.
- Nallamuthu, I., Devi, A., Khanum, F. 2015. Chlorogenic Acid Loaded Chitosan Nanoparticles with Sustained Release Property, Retained Antioxidant Activity and Enhanced Bioavailability. *Asian journal of pharmaceutical sciences* 10: 203-211.
- NanoComposix. 2012. Nanocomposix's Guide To Dynamic Light Scattering Measurement And Analysis Vol 1.3. San Diego: NanoComposix.
- Nidhin M, Indumathy R, Sreeram KJ, Nair m BU. 2008. Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles of Narrow Size Distribution on Polysaccharide Temp.
- Ningsih, N., S. Yasni, Yuliani, S. 2017. Sintesis nanopartikel ekstrak kulit manggis merah dan kajian sifat fungsional produk enkapsulasinya. *J. Teknologi dan Industri Pangan*, Vol. 28(1): 27-35 ISSN: 1979-7788.
- Nugroho, D., Mawardi S., Yusianto, Arimersetiowati. 2012. Karakteristik Mutu Fisik dan Cita Rasa Biji Kopi Arabika Varietas Maragogip (*Coffea arabica* L. Var maragogyne Hort. Ex Froehner) dan Seleksi Pohon Induk di Jawa Timur. *Pelita perkebunan*. 28 (1) 2012, 1-13.
- Octavia, M. D., Halim, A., dan Indriyani, R. 2012. Pengaruh Besar Ukuran Partikel Terhadap sifat-Sifat Tablet Metronidazol. *Jurnal Farmasi Higea*. 4(2): 74.
- Olthof, M.R., Hollman, P.C.H. & Katan, M.B. 2001. Chlorogenic Acid And Caffeic Acid Are Absorbed In Humans. *Journal Of Nutrition*. 131: 66-71.
- Park, K., Yeo, Y., Swarbrick, J. 2007. Microencapsulation Technology in: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology 3rd Edition*. New York: *Informa Healthcare USA, Inc.*, p. 2315-2325.
- Patil, R. S., Ghormade, V., Deshpande, MV. 2012. Chitinolytic Enzymes: *An Exploration Technology* 26, 473-483.
- Petracco dan Marini, J. 2005. *Our Everyday Cup Of Coffee: The Chemistry Behind Its Magic*, Chemical. Education, 82 (8), Page 1161.

- Prabaharan, M. 2008. Review Paper: Chitosan Derivaties as Promising Material for Controlled Drug Delivery : *Journal Biomater Appl.*23(1): 5-36.
- Racovita, S., Vasilium S., Popa, M., Luca, C. 2009. Polysaccharides Based on Micro-and Nanoparticles Obtained by Ionic Gelation and Their Application as Drug Delivery Systems. *Revue Roumaine de Chimie.* 54(9); 709-718.
- Rahman, et al. 2013. Zerumbone-loaded nanostructured lipid carriers : preparation, characterization, and antileukemic effect. *International Journal Of Nanomedicine.*
- Ramachandran, T., Koushik, C.V., Rajendran, R., Mahalakshmi, M. 2011. Preparation and Characterization of Zinc Oxide Nanoparticles and a Study of the Anti-microbial Property of Cotton Fabric Treated with the Particles. *J. Of Textile and Apparel, Technology and Management*, Vol 6.
- Rauhatun Napsah dan Lis Wahyunngsih.2013. Preparasi Nanopartikel Kitosan TPP/ Ekstrak Etanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phalerimacrocarpa*) dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas.* 11(1): 7-12.
- Rice, Philip, L. 1999. *Stress & Health. 3rd ed.* Pasific Grove : Books/Cole Publishing Company. U.K.
- Ridwansyah. 2003. Pengolahan Kopi. *Skripsi.* Medan: Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.
- Rismana, 2006. Serat Kitosan Mengikat Lemak. <http://www.kompas.com>. (20 Juli 2018).
- Sahu, A.K., Kumar, T., Jain, V. 2014. Formulation Optimization of Erythromycin Solid Lipid Nanocarrier Using Response Surfase Methodology. *BioMed Res. I.*, Vol. 2014.
- Sapurta, M. A. A. 2015. Hubungan Kadar Pigmen dan Kadar Senyawa Fitokimia Daun Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dengan Aktivitas Antioksidan. *Skripsi.* Institut Pertanian Bogor.
- Sari, K. N. 2014. Kandungan Serat, Vitamin C, Aktivitas Antioksidan dan Organoleptik Keripik Ambas Brokoli (*Brassica oleracea var : italica*) Panggang. *Skripsi.* Semarang: Program studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.

- Singh, R. dan Lillard, J. W. J. 2009, Nanoparticle Based Targeted Drug Delivery, *Experimental and Molecular Pathology*, 86 (3): 215-223.
- Slinkard, K., dan Singleton, V. L. 1977. Total phenol analyses: Automation and comparasion with Manual Methods. Dalam determination of total phenolic amount of some edible fruits and vegetable. Oviasogie, P. O., Okoro, dan Ndiokwere. 2009. *African Journal of Biotechnology*. 8(12): 2819:2829.
- Soesilo, M. 2016. Konsumsi Kopi Naik, Indonesia Masih Impor Kopi. Diakses Januari 2016 website :<http://kopikini.com/konsumsikopi-naik-indonesia-masih-imporkopi>
- Sousa, A. G., Machado, L. M. M., Silva, E. F. 2016. Personal characteristics of coffee consumers and non-consumers, reasons and preferences for foods eaten with coffee among adults from the Federal District, Brazil. *Jornal Food Science and Technology* ISSN 0101-2061.
- Stocker, R. Dan J.F. Keany. 2004. Role Of Oxidative Modifications In Atherosclerosis. *Physiological Review*. 84, 1381-1478.
- Stoica, R., Somoghi, R., Ion, R.M. 2013. Preparation of Chitosan-Tripolyphosphate Nanoparticles fo the Encapsulation of Poliphenols Extracted from Rose Hips. *Dig J Nanomater Bios*. 8(3); 955-963.
- Sugita, 2010. Evolutional Science and Technology. *Japan science and technology agency*, 19: 39-44.
- Sulistyowati. 2002. *Beberapa Teknik Penyajian Kopi Seduhan*. Jember: Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao.
- Suptijah P., Salamah E., Sumaryanto H., Purwaningsih S., dan Santoso S., 1992. Pengaruh berbagai isolasi khitin kulit udang terhadap mutunya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 3(1):1-9.
- Thate M.R. 2004. Shyntesis and Antibacterial Assement of Water Soluble Hydrophobic Chitosan Derivates Bearing Quatenary Ammonium Functionality. *Disertasi*. Louisiana. Loisiaana State University and M Challege, Baton Rouge, L.A.
- Titto, R. J. 1985. Phenolic Constituents in The Leave of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolics. *J. Agri food Chem*, 33 (2): 213-217
- Tiyaboonchai W., 2003, Chitosan nanoparticles: A Promising System for Drug Delivery. *Naresuan Univ. J.*, 11(3),51-66.
- Vargia. 2002. *Metode Pengujian Antioksidan*. Jakarta: Trubus Agrisaran.

- Varnam HA dan Sutherland JP. 1994. *Beverages (Technology, Chemistry and Microbiology)*. London: Chapman and Hall.
- Vaughn, J.M. and Williams R.O. 2007. Nanoparticle Engineering. In Swarbrick. James. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology Third Edition*. Volume 1. New York: Nova.
- Wang, N. 2012. *Physicovhematical Changes Of Coffe Beans During Roasting*. Canada: University of Guelph.
- Widyastuti, N. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode Cuprac, DPPH, dan FRAP serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman. *Skripsi*. Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Widyotomo, S., S. Mulato, H. K. Purwadaria, dan A. M. Syarif. 2009. Karakteristik Proses Dekafeinasi Kopi Robusta dalam Reaktor Kolom Tunggal dengan Pelarut Etil Asetat. *Pelita Perkebunan*, 25 (2): 101-125.
- Wijaya, D. P. 2013. Preparasi Nanopartikel Sambung Silang Kitosan-Tripolifosfat yang Mengandung Ginsenosida. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Wijeratne, S. S. K., Cuppett S. L., Schlegel, V. 2005. Hydrogen Peroxide Induced Oxidative Stress Damage and Antioxidant Enzyme Response in Caco-Human Colon Cells. *Journal Agricultural And Food Chemistry*. 53, 8768-8774.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Winarti, S. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta.
- Wu Y., Yang W., Wang C., Hu J., and Fu S., 2005, Chitosan nanoparticle as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate, *International Journal of Pharmaceutics*, 295: 235-245.
- Yamaghuci, T., Takamura, T. M., Terao, J. 1998. HPLC Method for Evaluation of the free Radical- Scavenging Activity of food using 1,1 Diphenyl-2-Picrylhydrazyl. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 62: 1201-1204.
- Yashin, A., Y. Yashin, J. Y. Wang, dan N. Boris. 2013. Antioxidant and Antiradical Activity of Coffee. *Journal Antioxidants*, 2: 230-245.
- Yuan, Y., Gao Y., Zhao J., Mao L. 2008. Characterization and Stability Evaluation Of B-Carotene Nanoparticles Prepared by High Pressure Homogenization Under Various Emulsifying Conditions. *Food res int* 41: 61-68.
- Zuidan, N. J., dan Nedovic, V. A. 2010. *Encapsulation Technologies For Food Ingredients And Food Processing*. New York: Springer.

LAMPIRAN

A. Karakterisasi Ekstrak Kopi Arabika

1. pH ekstrak kopi arabika

Sampel	Ulangan	Nilai pH	Rata-rata	STDEV
Kopi arabika	1	5,85	5,87	0,02
	2	5,86		
	3	5,89		

2. Total Padatan Ekstrak Kopi Arabika

Sampel	Ulangan	Derajat brix	Rata-rata	STDEV
Kopi arabika	1	29	29	0
	2	29		
	3	29		

3. Rendemen Ekstrak Kopi Arabika

Sampel	Ulangan	Rendemen basis kering (%)	Rata-rata	STDEV
kopi arabika	1	14,26	11,58	3,79
	2	8,90		

Sampel	Total bubuk kopi (g)	Volume ekstrak (ml)	Rendemen basis basah (%)
kopi arabika	500	138	27,6

4. Total Polifenol Ekstrak Kopi Arabika

Sampel	Ulangan	mg GAE/ml	Rata-rata	STDEV
kopi arabika	1	12,279	12,118	0,659
	2	11,393		
	3	12,681		

5. Aktivitas antioksidan ekstrak kopi arabika

Sampel	Ulangan	mmol TE/mL	Rata-rata	STDEV
Ekstrak kopi arabika	1	5,434	5,434	0,041
	2	5,394		
	3	5,475		

6. Pigmen coklat melanodin

Sampel	Ulangan	Abs melanoidin ekstrak arabika (AU)	Rata-rata	STDEV
Ekstrak kopi arabika	1	1,336	1,341	0,006
	2	1,347		
	3	1,339		

B. Karakterisasi Larutan Nanopartikel Kopi Arabika pada Perbedaan Konsentrasi Kitosan dan Penambahan Ekstrak Kopi Arabika

1. Efisiensi Enkapsulasi

Kitosan	Ekstrak Kopi Arabika (mL)	Ulangan	%EE	Rata-rata	STDEV
0,1%	0,1	1	23,345	22,288	1,832
		2	20,172		
		3	23,345		
	0,2	1	20,722	19,084	1,422
		2	18,159		
		3	18,372		
	0,3	1	12,271	14,139	1,894
		2	16,058		
		3	14,089		
	0,4	1	10,504	10,245	1,444
		2	8,689		
		3	11,542		
0,2%	0,1	1	17,906	16,546	1,634
		2	16,999		
		3	14,733		
	0,2	1	16,022	14,028	2,284
		2	14,527		
		3	11,536		
	0,3	1	10,907	13,331	2,352
		2	13,483		
		3	15,604		
	0,4	1	9,856	9,726	0,722
		2	8,948		
		3	10,375		

2. Total polifenol

Kitosan	Ekstrak kopi arabika (mL)	Ulangan	mg GAE/ml	Rata-rata	STDEV
0,1%	0,1	1	0,207	0,202	0,005
		2	0,198		
		3	0,200		
	0,2	1	0,433	0,444	0,010
		2	0,453		
		3	0,446		
	0,3	1	0,625	0,619	0,006
		2	0,613		
		3	0,619		
	0,4	1	0,849	0,780	0,064
		2	0,767		
		3	0,723		
0,2%	0,1	1	0,218	0,212	0,007
		2	0,212		
		3	0,204		
	0,2	1	0,460	0,469	0,009
		2	0,477		
		3	0,470		
	0,3	1	0,710	0,667	0,037
		2	0,649		
		3	0,643		
	0,4	1	0,827	0,872	0,042
		2	0,880		
		3	0,910		

3. Pigmen coklat melanoidin

Kitosan	Ekstrak Kopi Arabika (mL)	Ulangan	Abs melanoidin nanopartikel (AU)	Rata-rata	STDEV
0,1%	0,1	1	0,295	0,296	0,005
		2	0,301		
		3	0,292		
	0,2	1	0,537	0,554	0,015
		2	0,563		
		3	0,562		
	0,3	1	0,786	0,703	0,033
		2	0,792		
		3	0,732		
	0,4	1	0,981	1,008	0,063
		2	1,08		
		3	0,963		
0,2%	0,1	1	0,323	0,311	0,014
		2	0,315		
		3	0,296		
	0,2	1	0,649	0,650	0,006
		2	0,644		
		3	0,656		
	0,3	1	1,064	0,919	0,126
		2	0,853		
		3	0,839		
	0,4	1	1,07	1,117	0,041
		2	1,145		
		3	1,135		

4. Ukuran partikel

Kitosan	Sampel kopi (ml)	Ulangan	Ukuran partikel	Rata-rata	STDEV
0,1%	0,2	1	286	286,567	8,764
		2	295,6		
		3	278,1		
	0,3	1	284,8		
		2	301,8		
		3	305,2		
0,2%	0,2	1	424,7	412,833	26,384
		2	431,2		
		3	382,6		
	0,3	1	489,3		
		2	426,4		
		3	392,6		

5. Distribusi partikel

Kitosan	Sampel kopi (ml)	Ulangan	Distribusi partikel	Rata-rata	STDEV
0,1%	0,2	1	0,698	0,671	0,093
		2	0,567		
		3	0,748		
	0,3	1	0,688		
		2	0,497		
		3	0,492		
0,2%	0,2	1	0,77	0,748	0,020
		2	0,744		
		3	0,73		
	0,3	1	0,589		
		2	0,733		
		3	0,727		

C. Karakterisasi Larutan Nanopartikel Kopi Arabika Hasil Formulasi Terbaik

1. pH larutan nanopartikel kopi arabika

Ekstrak kopi arabika		
Kitosan (%)	(mL)	pH
0,1	0,3	5,29

2. Efisiensi larutan nanopartikel kopi arabika

Kitosan	Ekstrak Kopi Arabika (mL)	Ulangan	%EE	Rata-rata	STDEV
0,1%	0,3 ml	1	16,317	15,731	1,016
		2	16,317		
		3	14,558		

3. Total polifenol larutan nanopartikel kopi arabika

Kitosan	Ekstrak kopi arabika (mL)	Ulangan	mg GAE/ml	Rata-rata	STDEV
0,1%	0,3	1	0,625	0,619	0,006
		2	0,613		
		3	0,619		

4. Pigmen coklat melanoidin larutan nanopartikel kopi arabika

Kitosan	Ekstrak Kopi Arabika (mL)	Ulangan	Abs melanoidin (AU)	Rata-rata	STDEV
0,1%	0,3 ml	1	0,731	0,759	0,027
		2	0,785		
		3	0,761		

5. Aktivitas antioksidan larutan nanopartikel kopi arabika metode DPPH

Kitosan	Ekstrak Kopi Arabika (mL)	Ulangan	mmol TE/mL	Rata-rata	STDEV
0,1%	0,3 ml	1	0,08	0,085	0,001
		2	0,085		
		3	0,086		

6. Aktivitas antioksidan larutan nanopartikel kopi arabika metode FRAP

Kitosan	Ekstrak Kopi Arabika (mL)	Ulangan	mmol TE/mL	Rata-rata	STDEV
0,1%	0,3 ml	1	0,087	0,089	0,001
		2	0,089		
		3	0,091		

7. Aktivitas antioksidan larutan nanopartikel kopi arabika metode OH radikal

Kitosan	Ekstrak Kopi Arabika (mL)	Ulangan	mmol TE/mL	Rata-rata	STDEV
0,1%	0,3 ml	1	0,032	0,032	0,001
		2	0,033		
		3	0,032		