



**KARAKTERISASI SIFAT FISIK DAN KIMIA NANOPARTIKEL
KOPI BIJI (*Green Bean*) DENGAN METODE
GELASI IONIK**

SKRIPSI

Oleh:

Fita Ning Tias

141710101065

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**KARAKTERISASI SIFAT FISIK DAN KIMIA NANOPARTIKEL
KOPI BIJI (*Green Bean*) DENGAN METODE
GELASI IONIK**

SKRIPSI

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

Oleh:

Fita Ning Tias

141710101065

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

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

1. Allah SWT sebagai wujud rasa syukur atas segala limpahan rahmatNya yang telah memberikan keberkahan rezeki, pertemuan dengan orang-orang baik, kesempatan, kemudahan, kesempurnaan akal, petunjuk sehingga dapat menyelesaikan kuliah dan skripsi ini dengan baik;
2. Kedua orang tua Alm Bapak Miseno Soedarmo dan Ibu Winarti serta kakakku Agus priyo wiyono dan Mistri Pariasih serta sanak saudara tercinta atas semangat dan do'a yang tidak pernah putus;
3. Negara Indonesia tempat ku berpijak;
4. Guru-guruku sedari Taman kanak-kanak Dharma Wanita Tirtoyudo, SDN 1 Tirtoyudo, SMPN 1 Tirtoyudo, SMAN 1 Dampit serta dosen dosenku di Universitas Jember yang telah mendidiku dengan sabar dan penuh ketulusan;
5. Pamanku H Abdul syukur, S.H dan Tanteku Hj. Siti Muzayanah, S.sos., M.M atas segala dukungan;
6. Para pemuda Indonesia yang mempunyai cita-cita besar menjadi manusia berpendidikan tinggi yang berharap dapat memajukan bangsa dan negara ini;
7. Almamaterku Tercinta Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember
8. Teman- teman THP-B dan keluarga besar angkatan 2014 Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;

MOTTO

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

“Dan bersabarlah menunggu ketetapan Tuhanmu, karena sesungguhnya engkau berada dalam pengawasan kami”(QS Ath Thur : 48)

“Pendaki yang sampai ke puncak hanyalah yang tangguh, pejuang yang sampai ke kesuksesan hanyalah yang sabar. Kita diberi pilihan, menjadi manusia yang mudah rapuh oleh tantangan atau justru meghebat seiring hebatnya rintangan. Percayalah, badai selalu menyisahkan pohon-pohon yang kuat”
(Ahmad Rifa’I Rif’an)

“Dan sesungguhnya kelak tuhanmu pasti memberikan karunianya kepadamu, sehingga engkau menjadi puas”(QS Adh Dhuha : 5)

“...Dan aku belum pernah kecewa dalam berdoa kepada-Mu, wahai Tuhanku.”
(QS. Maryam : 4)

“Tiada yang lebih indah daripada do’a yang dikabulkan dan karunia yang besar adalah pertolongan dari Allah SWT serta kebahagiaan yang paling sempurna adalah mendapatkan keridho’anNya”

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fita Ning Tias

NIM : 141710101065

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Nanopartikel Kopi Biji (*Green Bean*) dengan Metode Gelasi Ionik” adalah benar benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 10 Juli 2018

Yang menyatakan

Fita Ning Tias

NIM 141710101065

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Nanopartikel Kopi Biji (*Green Bean*) dengan Metode Gelasi Ionik” karya Fita Ning Tias NIM 141710101065 telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada:

Hari, tanggal : Juli 2018

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Dosen Pemimbing Utama

Dosen Pemimbing Anggota

Dr. Puspita Sari, S.TP., M.Ph
NIP.197203011998022001

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

Penguji Utama

Penguji Anggota

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

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

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 Kopi Biji (*Green Bean*) dengan Metode Gelasi Ionik; Fita Ning Tias, 141710101065; 2018; 58 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Kopi merupakan salah satu hasil komoditi perkebunan yang banyak dikembangkan di Indonesia. Kopi biji mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti kafein, asam klorogenat dan trigonelin yang memiliki sifat fungsional sehat seperti aktivitas antioksidan. Sumber antioksidan yang mendominasi pada kopi biji yaitu asam klorogenat yang termasuk dalam golongan senyawa polifenol. Senyawa polifenol memiliki kelemahan yaitu bersifat tidak stabil terhadap pengaruh lingkungan, upaya untuk mempertahankan senyawa tersebut dilakukan dengan menggunakan teknologi nanoenkapsulasi. Nanoenkapsulasi merupakan suatu teknik peyalutan senyawa aktif dalam bahan penyalut dalam bentuk cair maupun padat dengan ukuran nano. Kelebihan nanopartikel yaitu dapat meningkatkan bioviabilitas dan dapat menembus ruang antar sel yang tidak dapat ditembus oleh partikel yang lebih besar. Metode yang banyak digunakan dalam pembentukan nanopartikel yaitu metode gelasi ionik karena sederhana, murah dan mudah diaplikasikan. Nanopartikel diharapkan memiliki sifat fisik dan kimia yang baik. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui karakteristik fisik dan kimia nanopartikel kopi biji pada variasi konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi biji.

Penelitian dilakukan dalam empat tahapan yaitu (1) ekstraksi kopi biji, (2) karakterisasi ekstrak kopi biji meliputi pH, rendemen, total padatan terlarut dan total polifenol, (3) sintesis nanopartikel kopi biji, (4) pengujian fisik nanopartikel meliputi ukuran partikel, distribusi partikel, morfologi partikel dan zeta potensial. Pengujian kimia meliputi efisiensi enkapsulasi kandungan total polifenol, FTIR, aktivitas antioksidan DPPH, FRAP (*ferric reducing antioksidan power*) dan radikal OH.

Hasil penelitian menunjukkan nilai efisiensi enkapsulasi nanopartikel kopi biji pada konsentrasi kitosan 0,1 % dengan penambahan ekstrak kopi biji 0,1 hingga 0,5 mL berturut turut 13,36; 10,60; 10,56; 10,56 dan 8,62%, sedangkan pada konsentrasi kitosan 0,2% dengan penambahan ekstrak 0,1 hingga 0,5 mL nilai efisiensi enkapsulasi yaitu 9,18; 8,96; 5,57; 5,22, dan 4,61% Kandungan polifenol nanopartikel kopi biji pada konsentrasi kitosan 0,1% berkisar antara 0,46 hingga 1,98 mg GAE/mL, sedangkan pada konsentrasi kitosan 0,2% kandungan total polifenol berkisar antara 0,47 hingga 1,96 mg GAE/mL. kenampakan visual

nanopartikel pada semua formulasi konsentrasi kitosan dan ekstrak kopi menunjukkan adanya *crosslink* yang ditandai dengan kondisi *opaque* pada larutan nanopartikel. Berdasarkan hasil pengujian efisiensi enkapsulasi, kandungan total polifenol dan kenampakan visual dipilih 4 formulasi yaitu 0,1 dan 0,2 % kitosan dengan penambahan ekstrak 0,3 dan 0,4 mL untuk dilakukan pengukuran terhadap ukuran dan distribusi partikel. Hasil pengujian ukuran partikel dan distribusi partikel pada konsentrasi kitosan 0,1% dengan penambahan ekstrak kopi 0,3 dan 0,4 yaitu 290,067; 292,167 nm dengan nilai distribusi 0,296; 0,285 PDI, sedangkan pada konsentrasi kitosan 0,2 % dengan penambahan ekstrak 0,3 dan 0,4 mL yaitu 355,633 dan 462,9 nm dengan nilai ditribusi partikel 0,480; 0,496 PDI.

Berdasarkan pengujian ukuran dan distribusi partikel dipilih satu formulasi yaitu pada konsentrasi kitosan 0,1% ekstrak 0,4 mL. formulasi terpilih memiliki karakteristik nilai efisiensi enkapsulasi 10,17 %, ukuran partikel 292,9 nm, distribusi partikel 0,285 PDI, nilai zeta potensial 38,93 mV. Hasil analisis FTIR menunjukkan adanya gugus amina, hidroksi dan beberapa cincin aromatis dari polifenol pada nanopartikel. Kandungan total polifenol 1,771 mg GAE/mL, aktivitas antioksidan DPPH 0,392 mmol TE/mL, FRAP 0,138 mmol TE/mL, Radikal OH 0,147 mmol TE/ mL.

SUMMARY

Physical and Chemical Characterization of Nanoparticle Green Bean Coffee Using Ionic Gelation Method; Fita Ning Tias, 141710101065; 2018; 58 pages; Department of Agricultural Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Coffee is one of horticultural commodity products which much developed in Indonesia. Coffee contains several bioactive compounds such as caffeine, chlorogenate acid and trigonelin which gives healthy functional properties such as antioxidant activity. The dominated antioxidant source in green bean is chlorogenat acid which included in the group of polyphenol compound. The polyphenol compound has the weakness. It is unstable on the environment effect. Then, the effort to maintain that compound by nanoencapsulation. Nanoencapsulation is one of the techniques used to supply the active compound in the supplying of liquid or solid material in nano size. The excess of nanoparticles can increase the bioavailability and stab the space between cells which cannot be stabbed by the bigger particles. The most method used in nanoparticle formation is ionic gelation method because it is simple, cheap and applicable. Nanoparticle is expected to have good chemical and physical properties. Objec of this research was to know the characterization of physical and chemical of nanoparticle green bean in variety of chitosan and green coffee extract addition.

This research was conducted in four stages, they were: (1) green coffee extraction, (2) characterization of green coffee extract including pH, rendement, total dissolved solids and polyphenol total, (3) synthesis of nanoparticle green bean, (4) nanoparticle physical test including the particle size, particle distribution, particle morphology, and potential zeta. The chemical test was including encapsulation efficiency, total polyphenol contents, FTIR, antioxidant activity DPPH, FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) and OH radical.

The research result showed that encapsulation efficiencies of nonparticle green bean in 0.1 % of chitosan concentration by adding 0.1 to 0.5 mL of the green bean coffee extract were 13.36; 10.60; 10.56; 10.56 and 8.62%, while in 0.2% of chitosan concentration by adding 0.1 to 0.5 mL of the coffee extract, the encapsulation efficiency values were 9.18; 8.96; 5.57; 5.22, and 4.61%. The polyphenol content of nonparticle green bean in 0.1% of chitosan concentration was between 0.46 to 1.98 mg GAE/mL, while in 0.2% of chitosan concentration was between 0.47 to 1.96 mg GAE/mL. The nonparticles visual appearance in all of the chitosan concentration formulation and coffee extract showed that there was a crosslink which marked by the opaque condition in the nonparticle solubility. Based on encapsulation efficiency test result, total polyphenol content and 4 formulation chosen of the visual appearance were 0.1% and 0.2% of

chitosan by adding 0.3 and 0.4 mL extract to measure the size and particle distribution. The result of the particles size and particle distribution in 0.1% of chitosan concentration by adding 0.3 and 0.4 mL extract were 290.067; 292.167 nm and distribution particles were 0.296; 0.285 PDI, while in 0.2% of chitosan concentration by adding 0.3 and 0.4 mL of the extract were 355.633 and 462.9 nm and the distribution particles were 0.480; 0.496 PDI.

Based on the size and particles distribution test, one formulation chosen was in 0.1% of chitosan and 0.4 mL of extract. The chosen formulation had 10.17% of encapsulation efficiency, particles size 292.9 nm, particles distribution 0.285 PDI, zeta potential 38.93 mV. FTIR analysis result showed that there was amines group, hidroxy and several aromatic ring of the polyphenol in the nonparticles. The total polyphenol was 1.77 mg GAE/mL, DPPH antioxidant activity was 0.392 mmol TE/mL, FRAP was 0.138 mmol TE/mL, OH radical was 0.147 mmol TE/ mL.

PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT, atas limpahan rahmat dan karunia-NYA bagi penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan proses penyusunan skripsi yang berjudul “ karakterisasi sifat fisik dan kimia nanopartikel kopi biji (*Green Bean*) dengan metode gelas ionik” Skripsi ini disusun berdasarkan data penelitian yang telah dilakukan penulis untuk memenuhi syarat meraih gelar Sarjana Teknologi Pertanian.

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

1. Dr. Siswoyo Soekarno., M Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
2. Dr. Ir Jayus selaku ketua jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
3. Dr. Puspita Sari S.TP.,M.Ph Selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak meluangkan waktu, pikiran dan perhatian demi kemajuan penelitian maupun penulisan skripsi ini
4. Dr Maria Belgis S.TP., M.P selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak membantu dan membimbing serta memberikan perhatian terhadap penulis dalam penyelesaian skripsi ini
5. Prof. Dr Yuli Witono, S.TP., M.P dan Dr. Ir Sih Yuwanti, M.P selaku dosen penguji yang telah memberi masukan dan pengarahan serta ketersediaan sebagai penguji
6. Prof. Dr.Ir Tejasari, M..Sc selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan motivasi dan bimbingan selama masa studi;
7. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Balitbangtan) yang mendanai penelitian ini melalui program Penelitian Kerja sama Penelitian, Pengkajian, dan Pengembangan Pertanian Strategis (KP4S)

8. Segenap dosen, teknisi laboratoriom, dan karyawan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini
9. Keluarga yang selalu mendampingi penulis ibu dan kakak- kakak terimakasih atas segala dukungan, do'a dan kasih sayang tulus yang tiada terkira
10. Guru guruku sejak TK hingga Perguruan Tinggi
11. Teman-teman seperjuangan dalam pelaksanaan penelitian Hujjah, Maisaroh, Dwi Putri Wulandari dan Yanuar Gusti terimakasih atas kerja sama, bantuan, perhatian dan ketulusan kalian, Terkhusus kepada Hujjah yang telah banyak menularkan ilmunya serta saran yang membangun. Kepada mbak Nely Sandy, mbak Shofi, mas Shofwa, mas Hatma dan mas Qori yang senantiasa meluangkan waktu untuk membantu dan berbagi semangat serta dukungan
12. Teman Terdekatku Dhuita Puspita Rarasati, Isnitzia Bellia Indiana, Yuvita Lira, Yayuk Febrianti, Ella Ayu Ashari, Novia Orlida yang telah memberikan motivasi, dukungan, segala bantuan kalian yang penuh ketulusan, kalian tak terlupakan
13. Bapak Bernadus Dodi yang banyak membantu dalam mendapatkan beasiswa selama masa studi
14. Teman-temanku THP-B 2014 yang selalu berbagi semangat, motivasi dan dukungan, kalian luar biasa terimakasih.

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

Jember,

Penulis

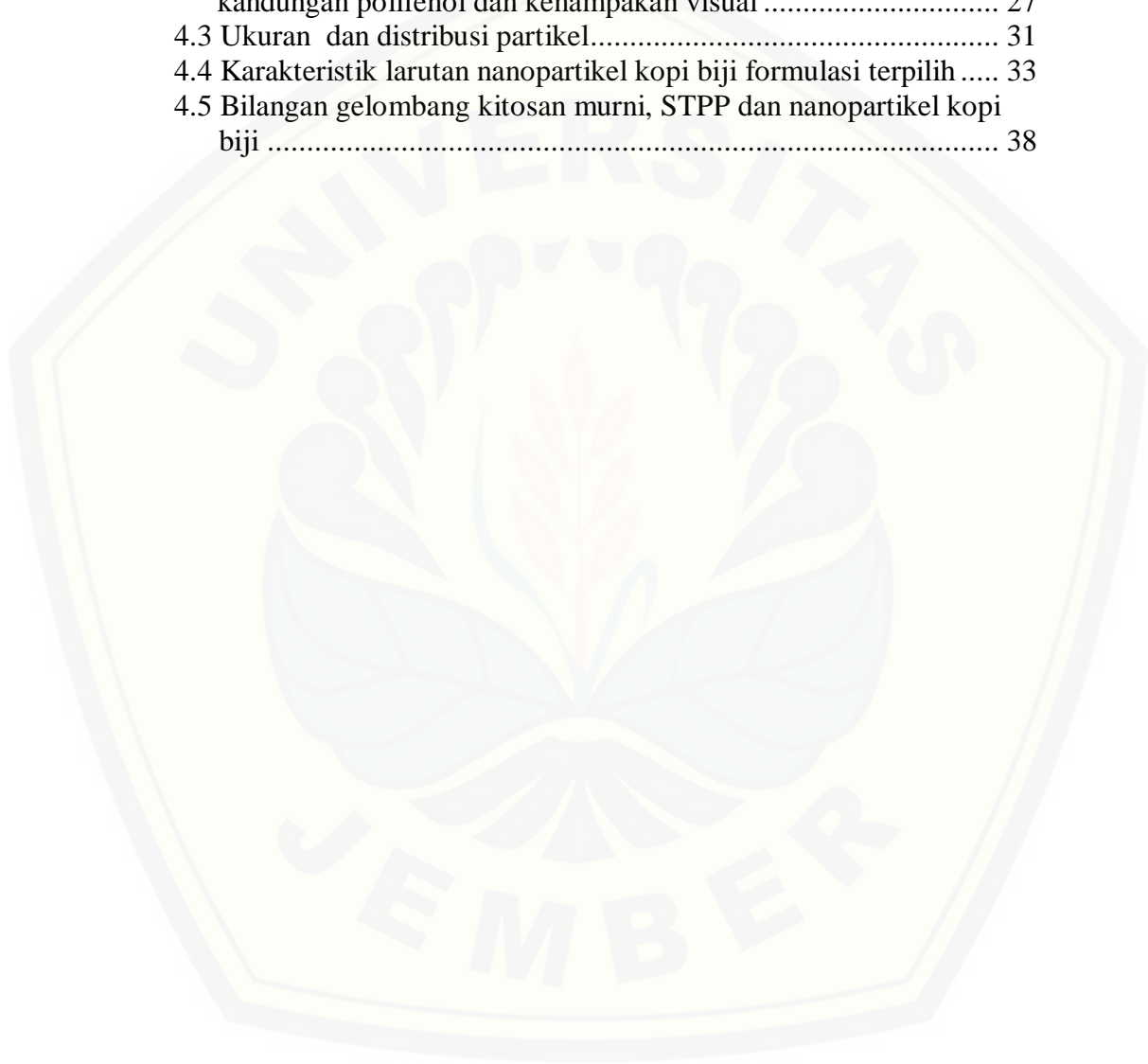
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
RINGKASAN.....	vi
SUMMARY.....	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kopi	4
2.1.1 Produktivitas kopi biji	4
2.1.2 Jenis-jenis Kopi.....	4
2.1.3 karakteristik dan pengolahan kopi.....	5
2.1.4 Kandungan kimia kopi sebelum dan sesudah disangrai	6
2.2 Nanopartikel.....	8
2.2.1 Definisi Nanopartikel	8
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 Kitosan sebagai bahan pembuatan Nanopartikel	14
2.5 Antioksidan	15
2.5.1 Definisi dan mekanisme Antioksidan.....	15
2.5.2 Antioksidan pada kopi	16
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	17
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	17
3.2.1 Bahan	17
3.2.2 Alat	17
3.3 Pelaksanaan Penelitian	17
3.3.1 Ekstraksi Bubuk Kopi biji.....	18

3.3.2 Sintesis Nanopartikel	18
3.3.3 Parameter Pengamatan.....	18
3.3.4 Prosedur Analisa.....	20
3.4 Analisis Data	24
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Karakteristik Ekstrak Kopi Biji.....	25
4.2 Karakterisasi Nanopartikel pada Berbagai Konsentrasi Kitosan dan Penambahan Ekstrak Kopi Biji.....	26
4.2.1 Efisiensi enkapsulasi nanopartikel	27
4.2.2 Total polifenol.....	29
4.2.3 Kenampakan visual nanopartikel kopi biji	30
4.2.4 Ukuran Partikel dan Distribusi Partikel	30
4.3 Karterisasi Nanopartikel Kopi Biji Formulasi Terpilih	32
BAB 5. PENUTUP.....	39
5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan kimia kopi sebelum dan sesudah disangrai.....	6
4.1 Karakteristik ekstrak kopi biji.....	26
4.2 karakterisasi larutan nanopartikel kopi biji nilai efisiensi dan kandungan polifenol dan kenampakan visual	27
4.3 Ukuran dan distribusi partikel.....	31
4.4 Karakteristik larutan nanopartikel kopi biji formulasi terpilih	33
4.5 Bilangan gelombang kitosan murni, STPP dan nanopartikel kopi biji	38

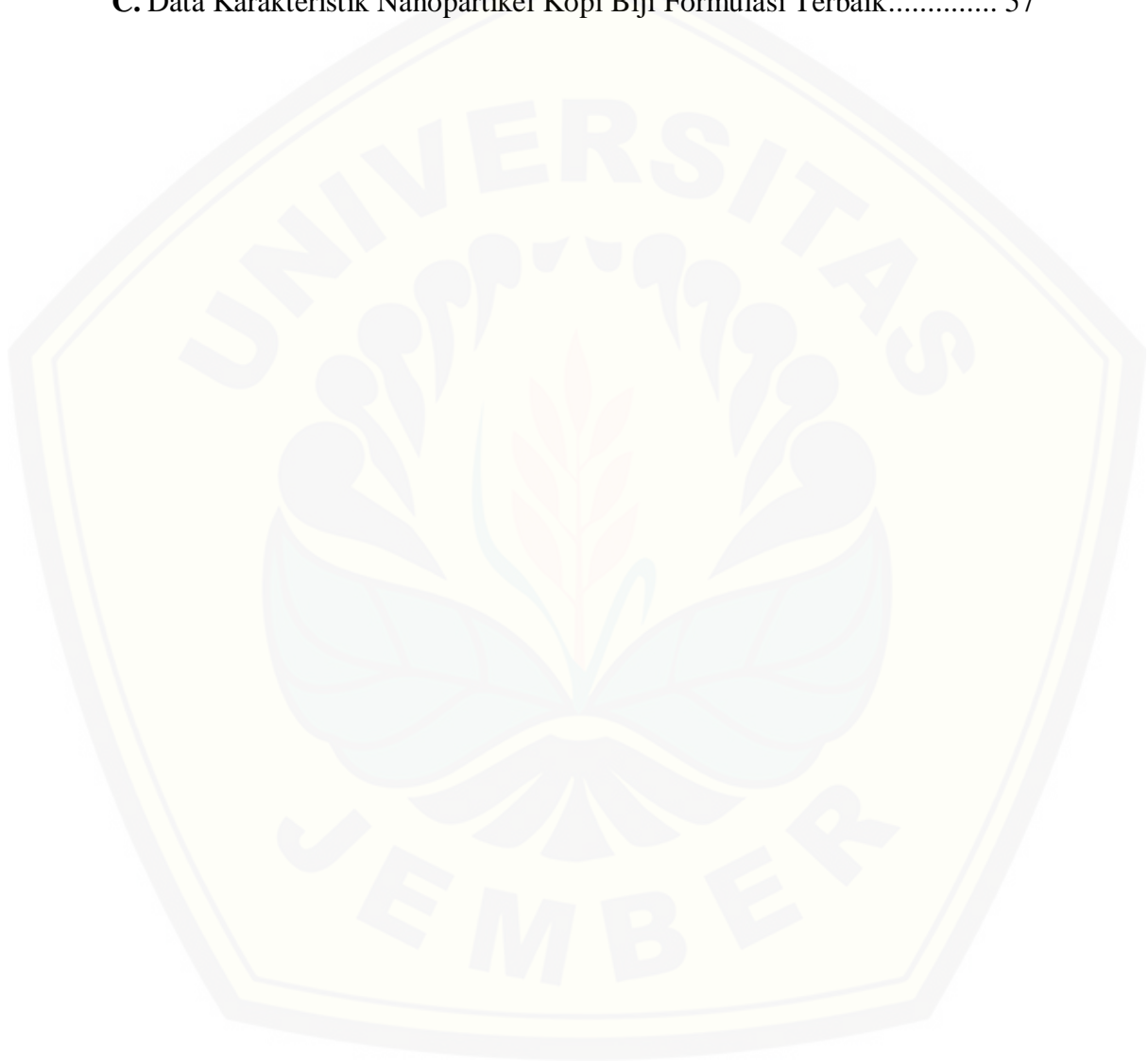


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Buah kopi.....	5
2.2 Struktur asam klorogenat	7
2.3 Interaksi ionik Gelasi Ionik antara Kitosan dan STPP.....	12
2.4 Sintesis nanopartikel metode gelasi ionik	13
2.5 Struktur Kitosan	13
3.1 Ekstraksi bubuk kopi biji.....	19
3.2 Sintesis nanopartikel kopi biji	20
4.1 Ekstrak kopi biji arabika.....	25
4.2 Nanopartikel formulasi terpilih.....	33
4.3 Morfologi nanopartikel.....	36
4.4 Spektrum FTIR nanopartikel	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data Karakterisasi Ekstrak Kopi Biji	51
B. Data Karakterisasi Nanopartikel Kopi Biji pada Variasi Konsentrasi Kitosan dan Penambahan Ekstrak Kopi Biji	53
C. Data Karakteristik Nanopartikel Kopi Biji Formulasi Terbaik.....	57



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu komoditi hasil perkebunan yang banyak dikembangkan di Indonesia. Kopi banyak diolah menjadi produk minuman karena memiliki rasa dan aroma yang khas. Produk minuman kopi pada umumnya melalui proses penyangraian yang dapat menghasilkan aroma khas dari kopi (Ridwansyah, 2003). Proses penyangraian dapat merusak senyawa bioaktif pada kopi yang berupa asam klorogenat. Kopi biji diproses tanpa penyangraian sehingga mengandung asam klorogenat yang lebih tinggi dibanding kopi sangrai (Dias *et al.*, 2015). Produk berbasis kopi biji (*green bean*) saat ini mulai dikembangkan untuk mendapatkan lebih banyak senyawa bioaktif.

Kopi biji mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti kafein, asam klorogenat dan trigonelin (Esqual dan Jimenez, 2012). Kandungan senyawa bioaktif pada kopi biji dapat memberikan efek fungsional sehat pada tubuh, salah satunya yaitu sebagai sumber antioksidan. Sumber antioksidan yang mendominasi pada kopi biji yaitu asam klorogenat yang merupakan jenis senyawa polifenol (Lee *et al.*, 2008). Senyawa polifenol pada kopi dapat menurunkan berat badan dan antidiabetes (Henry *et al.*, 2010). Senyawa antioksidan dapat mencegah adanya stress oksidatif yang disebabkan oleh adanya radikal bebas, sehingga dapat mencegah kanker, penyakit kardiovaskuler maupun penyakit neuregeratif lainnya (Winarsih, 2007).

Senyawa polifenol memiliki sifat yang tidak stabil terhadap pengaruh lingkungan sehingga akan berpengaruh terhadap bioviabilitasnya dalam tubuh (Sulistyo *et al.*, 2002). Salah satu upaya untuk mempertahankan senyawa bioaktif pada kopi dapat dilakukan dengan menggunakan teknologi nanoenkapsulasi. Nanoenkapsulasi merupakan teknik penyalutan bahan aktif ke dalam bahan penyalut untuk melindungi senyawa bioaktif baik dalam bentuk cair maupun padat dengan ukuran nano (Kailasapathy, 2002). Nanopartikel dengan menggunakan polimer dapat meningkatkan bioviabilitas dan mengendalikan

pelepasan suatu zat aktif (Napsah dan Wahyuningsih, 2009). Nanopartikel mampu menembus ruang antar sel yang tidak dapat ditembus oleh partikel yang berukuran lebih besar (Buzea *et al.*, 2007).

Nanopartikel dapat disintesis dengan beberapa metode antara lain metode dispersi polimer, polimerisasi monomer dan gelasi ionik. Metode gelasi ionik merupakan metode yang paling sederhana, murah dan mudah diaplikasikan (Mohanraj dan Chen, 2006). Prinsip sintesis nanopartikel metode gelasi ionik yaitu terjadinya interaksi ionik antara kation dan anion membentuk matriks tiga dimensi kemudian senyawa bioaktif akan berada di dalam jaringan nanopartikel. Kitosan merupakan biopolimer yang banyak digunakan dalam sintesis nanopartikel dengan metode gelasi ionik karena kelebihan kitosan yaitu bersifat biokompatibel, biodegradabel, tidak beracun, dan dapat membentuk matriks yang dapat mengendalikan pelepasan senyawa bioaktif (Prabaharan, 2008). Sodium tripolifosfat banyak digunakan sebagai *crosslinker* dalam sintesis nanopartikel karena memiliki banyak ion negatif sehingga meningkatkan kekuatan partikel (Wahyono, 2010). Keberhasilan pembentukan nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik ditentukan oleh konsentrasi kitosan dan sodium tripolifosfat (STPP) yang seimbang. Volume ekstrak kopi biji yang ditambahkan juga akan mempengaruhi karakteristik nanopartikel yang dihasilkan

Beberapa penelitian sintesis nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik telah dilakukan, diantaranya penelitian yang dilakukan Wu, *et al.* (2005) yaitu sintesis nanopartikel senyawa ammonium *glycrrrhizinate* dengan kitosan dan bahan penaut tripolifosfat. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Alishahi (2011) yaitu sintesis nanopartikel vitamin C dengan bahan sintesis berupa kitosan dan sodium tripolifosfat. Penelitian sintesis nanopartikel pada senyawa kopi biji (*green bean*) dengan metode gelasi ionik belum dilaporkan, sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui karakteristik fisik dan kimia nanopartikel kopi biji pada berbagai variasi konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi biji.

1.2 Rumusan Masalah

Kopi biji atau yang dikenal sebagai kopi *green bean* mengandung senyawa bioaktif yang lebih tinggi dibandingkan kopi sangrai. Kandungan senyawa bioaktif pada kopi biji meliputi kafein, asam klorogenat dan trigonelin. Senyawa bioaktif pada kopi didominasi oleh senyawa asam klorogenat yang tergolong dalam senyawa polifenol. Senyawa polifenol memiliki stabilitas dan bioviabilitas yang rendah. Upaya untuk mempertahankan senyawa bioaktif pada kopi biji dapat dilakukan menggunakan teknologi nanoenkapsulasi. Keunggulan teknologi nanoenkapsulasi yaitu dapat meningkatkan stabilitas dan bioviabilitas senyawa bioaktif. Metode pembuatan nanopartikel yang paling mudah untuk dilakukan yaitu metode gelasi ionik. Faktor yang menentukan keberhasilan pembuatan nanopartikel dengan metode gelasi ionik yaitu konsentrasi kitosan, STPP dan ekstrak yang ditambahkan, belum diketahui formulasi penambahan kitosan dan ekstrak kopi biji untuk menghasilkan nanopartikel kopi biji dengan karakteristik yang baik.

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui karakteristik fisik dan kimia nanopartikel kopi biji (*green bean*) dalam berbagai variasi kitosan dan ekstrak yang ditambahkan.
2. Mengetahui karakteristik fisik dan kimia nanopartikel kopi biji (*green bean*) pada formulasi terpilih.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat antara lain:

1. Meningkatkan nilai ekonomi kopi
2. Nanopartikel kopi biji (*green bean*) yang dihasilkan dapat dikembangkan menjadi produk pangan fungsional seperti nutrasetikal
3. Sebagai sumber informasi mengenai teknologi nanoenkapsulasi

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi

2.1.1 Produktivitas kopi Biji

Kopi merupakan salah satu komoditi andalan di Indonesia dan banyak dikembangkan (Rejo *et al.*, 2009). Indonesia merupakan negara penghasil kopi ke empat di dunia setelah Brazil, Vietnam dan Kolumbia. Produktivitas kopi di Indonesia terus mengalami peningkatan pada tiga tahun terakhir yaitu pada tahun 2015 hingga 2017 berturut turut 639,412; 639,305 dan 637,539 ton (Ditjenbun, 2017). Kopi berkontribusi 50% dari total ekspor komoditi tropis di seluruh dunia (Ayelign *et al.*, 2013). Volume ekspor kopi Indonesia dari tahun 1980 hingga 2015 bersifat fluktuatif namun cenderung mengalami peningkatan. Pada tahun 1980 ekspor kopi mencapai 238.667 ton dengan nilai 656 juta US\$ dan meningkat pada tahun 2015 menjadi 502.021 ton dengan nilai 1.198 juta US\$ (Kementrian Pertanian, 2015).

2.1.2 Jenis Jenis Kopi

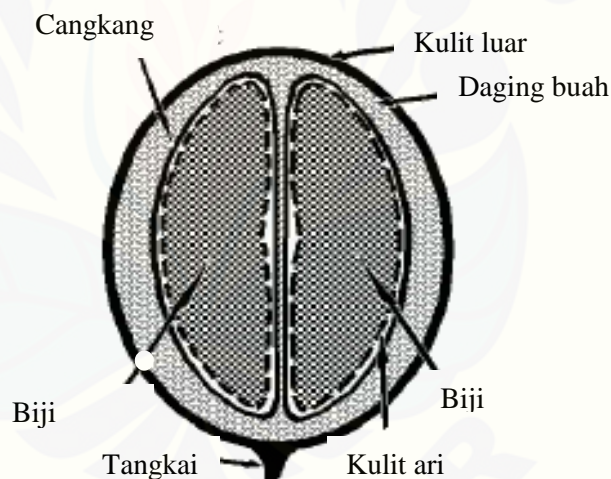
Jenis kopi yang banyak dikembangkan di Indonesia adalah kopi robusta dan kopi arabika. Kopi arabika memiliki ciri ciri yaitu berdaun kecil dan tebal, tumbuh dengan baik pada ketinggian 1000-1500 m dpl, memiliki cita rasa yang baik. Kelemahan kopi jenis arabika yaitu rentan terhadap nematode (cacing) *Pratylenchus sp* dan *Radopholus similis*, rentan terhadap penyakit karat daun (Halupi dan Martini, 2013). Biji kopi arabika berbentuk memanjang, bidang cembung tidak terlalu tinggi, ujung biji mengkilap, biji lebih cerah dibanding jenis kopi lainnya (Pangabea 2011). Kopi arabika memiliki rasa yang baik (Jaiswal *et al.*, 2010).

Kopi robusta memiliki ciri-ciri yaitu berdaun lebar dan tipis, daerah tumbuh yaitu pada ketinggian 40-900 m dpl, biji besar. Kopi robusta memiliki cita rasa yang pahit (Jaiswal *et al.*, 2010). Kekurangan kopi robusta yaitu tidak tahan terhadap iklim kering, rentan terhadap nematode parasit (Halupi dan Martini, 2013). Kopi jenis robusta juga bersifat tahan terhadap penyakit karat daun, syarat tumbuh lebih muda dan pemeliharaan lebih ringan (Prastowo *et al.*, 2010).

Produktivitas kopi robusta di Indonesia lebih tinggi dibanding kopi arabika yaitu hampir 80% total produktivitas kopi didominasi oleh kopi robusta (Ditjenbun, 2015). Kurang lebih 90% areal perkebunan kopi merupakan perkebunan kopi robusta (Prastowo *et al.*, 2010).

2.1.3 Karakteristik dan Pengolahan Kopi

Buah kopi yang masih muda berwarna hijau kemudian berangsur-angsur menjadi kuning dan akhirnya buah matang dan menjadi merah. Buah kopi matang memiliki lendir yang memiliki rasa manis. Buah kopi terdiri dari empat bagian utama yaitu lapisan kulit luar buah (*ekocarp*), lapisan daging buah (*mesocarp*), lapisan kulit tanduk (*endocarp*) dan biji kopi (Pangabea, 2011). Bagian buah kopi lainnya terdiri dari cangkang, tangkai dan kulit ari. Ilustrasi gambar buah kopi disajikan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Buah Kopi (Widyotomo, 2013)

Kopi banyak digunakan sebagai bahan pembuatan minuman karena aroma dan rasa yang khas. Sebelum digunakan sebagai bahan minuman biasanya kopi dilakukan proses penyangraian untuk menghasilkan flavour yang khas (Ridwansyah, 2003). Produk hilir kopi yang banyak berkembang saat ini yaitu kopi *roasted*, kopi bubuk, kopi instan, kopi dekafeinasi, kopi mix. Kecenderungan pengolahan kopi nasional yaitu industri pengolahan dalam bentuk kopi biji yaitu

sekitar 80% sedangkan sisanya 20% merupakan kopi olehan seperti kopi *roasted*, kopi instan, kopi mix (Ditjen Perindustrian, 2009).

2.1.4 Kandungan Kimia Kopi

Kopi mengandung komponen kimia seperti kafein, asam klorogenat, trigonelin, karbohidrat, asam amino, asam organik (Hidgon *et al.*, 2000). Kandungan biji kopi sebelum dan sesudah disangrai disajikan dalam Tabel 2.1.

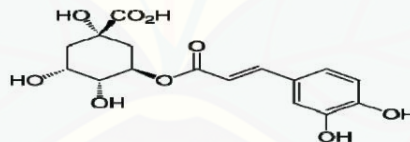
Tabel 2.1. Kandungan kopi robusta dan arabika sebelum dan sesudah di sangrai (g/100 g bahan)

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 : Farhaty, (2017)

Kandungan kimia kopi biji dipengaruhi oleh jenis dan varietas kopi selain itu faktor faktor yang mempengaruhi kandungan kopi yaitu lingkungan tempat tumbuh, tingkat kematangan, kondisi penyimpanan dan proses pengolahan (Clarke dan Markae 1987). Kopi mengandung senyawa polifenol yang cukup besar, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wiranata (2016) kopi biji (*green bean*) mengandung senyawa polifenol yaitu 13,18 g GAE/ 100 gram.

Penelitian Naidu, *et al.* (2008) menunjukkan bahwa kandungan total polifenol tertinggi pada kopi biji atau kopi *green bean* Arabika dan robusta yaitu 32,19 dan 31,71% dimana kandungan asam klorogenatnya mencapai 30,19 dan 29,71% dari total fenol. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ayelign *et al.* (2013) asam klorogenat merupakan komponen fenolik yang mendominasi pada kopi, kandungan asam klorogenat pada kopi mencapai 90% dari total senyawa fenol lain yang terdapat pada kopi (Mursu *et al.*, 2005). Proses penyangraian pada kopi akan menurunkan kandungan asam klorogenat, dimana semakin lama tingkat penyangraian maka kandungan asam klorogenatnya akan semakin berkurang (Dias *et al.*, 2015). Asam klorogenat dalam kopi bersifat sebagai antioksidatif yang bermanfaat bagi tubuh (Lee *et al.*, 2008). Aktivitas antioksidan pada kopi bekerja pada ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) dimana antioksidan akan menurunkan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) sehingga akan menurunkan beberapa resiko yang disebabkan oleh ROS tersebut yaitu antara lain iskemia dan kerusakan pada usus (Sato *et al.*, 2011). Struktur asam klorogenat disajikan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur asam klorogenat (Ayelign, 2013)

Kafein merupakan salah satu senyawa alkaloid yang terdapat pada kopi yang dapat meningkatkan detak jantung, tekanan darah, mengurangi kelelahan dan mengurasi rasa lapar (Suhartono *et al.*, 2005). Konsumsi kafein secara berlebihan dapat menyebabkan gelisah, gugup, insomnia, hipertensi maupun mual (Farmakologi UI, 2012). Menurut SNI 01-7152-2006 batas kafein pada makanan yaitu 150 mg/sajian sedangkan pada minuman yaitu 50 mg/sajian.

2.2 Nanopartikel

2.2.1 Definisi Nanopartikel

Nanopartikel didefinisikan sebagai partikel yang berukuran 10-1000 nm (Mohanraj dan Chen, 2006). Nanopartikel memiliki sifat yang baik karena peningkatan luas permukaan dapat meningkatkan reaktivitas maupun kekuatan partikel (Thassu *et al.*, 2007). Sebagai sistem penghantar obat, nanopartikel memiliki beberapa keuntungan yaitu (1) ukuran partikel dan sifat permukaan yang mudah diatur, (2) mengontrol pelepasan zat aktif, (3) mengurangi efek samping zat aktif (Rawat *et al.*, 2006). Buzea *et al.* (2007) menyatakan bahwa nanopartikel mampu menembus ke dalam ruang antar sel yang tidak dapat ditembus oleh partikel yang berukuran lebih besar. Zat aktif dapat terlarut, terperangkap, terenkapsulasi pada matriks nanopartikel. Nanopartikel dengan menggunakan polimer dapat meningkatkan fungsi obat yaitu meningkatkan bioviabilitas, mengendalikan pelepasan obat (Rauhatun dan Lis, 2013). Kelebihan nanopartikel yang lain yaitu dapat meningkatkan stabilitas senyawa aktif terhadap degradasi lingkungan. Disamping kelebihanannya, nanopartikel memiliki beberapa kelemahan yaitu nanopartikel sukar dalam penanganan dan penyimpanan karena mempunyai kemungkinan untuk teragregasi, ukuran partikelnya yang kecil memungkinkan nanopartikel masuk ke dalam bagian tubuh yang tidak diinginkan yang memungkinkan memberikan dampak berbahaya dalam tubuh (Mohanraj dan Chen, 2006).

2.2.2 Metode Pembuatan Nanopartikel

Pembuatan nanopartikel dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain komposisi material dan metode yang digunakan. Saat ini banyak metode yang dikembangkan untuk menghasilkan nanopartikel berukuran kecil dan seragam (Wahyono, 2010). Nanopartikel dapat dibuat dengan beberapa metode antara lain metode dispersi polimer, polimerisasi monomer dan gelas ionik (Mohanraj dan Chen, 2006). Metode sintesis nanopartikel dengan dispersi polimer salah satunya yaitu dengan penguapan pelarut. Metode pengupapan pelarut dilakukan dengan menambahkan pelarut pada zat aktif dan dilakukan penambahan surfaktan. Campuran kemudian dihomogenisasi untuk menstabilkan emulsi kemudian

dilakukan penguapan sehingga diperoleh produk dalam bentuk nanopartikel (Soppimath *et al.*, 2000). Metode polimerisasi monomer dilakukan dalam larutan berair untuk membentuk nanopartikel, kemudian suspensi nanopartikel dipisahkan dari zat penstabil dan surfaktan dengan sentrifugasi (Mohanraj dan Chen, 2006). Metode pembuatan nanopartikel yang paling banyak digunakan yaitu metode gelasi ionik karena metode ini paling mudah dilakukan (Mohanraj dan Chen, 2006). Metode gelasi ionik dilakukan dengan mencampurkan fase cair yang mengandung kitosan dan tripolifosfat (Yu hi *et al.*, 2008). Prinsip pembentukan partikel pada metode gelasi ionik yaitu terjadinya interaksi ionik antara gugus amina pada kitosan yang bermuatan positif dengan polianion yang bermuatan negatif membentuk intramolekul tiga dimensi (Agnihotri, 2004).

Metode lain yang dapat digunakan dalam pembuatan nanopartikel yaitu metode emulsifikasi. Metode emulsifikasi banyak digunakan pada bahan yang sulit larut dalam pelarut air misalnya minyak ikan. Nanoemulsi akan meningkatkan kelarutan maupun penyerapan senyawa bioaktif yang sulit larut dalam air (Silvia *et al.*, 2012). Pembuatan nanopartikel menggunakan metode emulsifikasi terdiri dari emulsi yang terdispersi dalam fase cair dan fase pengemulsi atau sufraktan sebagai penstabil (Sanguansari dan Agustin 2006; Fang dan Bhandari 2010).

2.2.3 Karakterisasi nanopartikel

a. Ukuran dan Distribusi Partikel

Ukuran partikel merupakan parameter penting yang dapat mempengaruhi secara langsung sifat nanopartikel yang dihasilkan (Haskel, 2006). Ukuran partikel pada teknologi nano berpengaruh terhadap daya serap senyawa bioaktif pada tubuh dimana semakin kecil ukuran partikel akan meningkatkan daya serap senyawa bioaktif pada tubuh (Sahoo dan Labhasetwar, 2006). Menurut Singh dan Liliard (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 peanut silang dan kecepatan putaran pada saat sintesis nanopartikel. Partikel

dapat dikatakan berukuran nano apabila berukuran 10 hingga 1000 nm (Mohanraj dan Chen, 2006).

Distribusi nanopartikel dinyatakan dalam Indeks Polidispersitas (IP) menunjukkan tingkat kehomogenan dari nanopartikel yang terbentuk. Semakin kecil nilai indeks polidispersitas maka nanopartikel yang terbentuk semakin homogen (Lovelyn dan Attama, 2011). Rentang nilai indeks polidispersitas berkisar antara 0 hingga 1. Nilai mendekati 0 memiliki kehomogenan yang semakin baik nilai indeks polidispersitas melebihi 0,5 menunjukkan rendahnya kehomogenan nanopartikel yang terbentuk (Avandi *et al.*, 2010). 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). Menurut Wu *et al.* (2005) konsentrasi polimer dapat mempengaruhi nanopartikel yang terbentuk. Semakin besar konsentrasi polimer yang digunakan maka ukuran partikel yang terbentuk semakin besar.

b. Zeta potensial

Zeta potensial adalah ukuran muatan permukaan partikel yang tersebar dalam medium pendispersi. Zeta potensial menunjukkan adanya gaya tolak menolak antar partikel dimana semakin besar nilai zeta potensial maka partikel akan semakin stabil (Couvreur *et al.*, 2012). Nanopartikel dikatakan stabil apabila memiliki nilai zeta (+/-) 30 mV (Murdock *et al.*, 2008). Nilai positif pada zeta potensial menunjukkan adanya gugus amino pada kitosan pada permukaan nanopartikel yang terbentuk. Adanya muatan positif pada kitosan menyebabkan kitosan memiliki sifat mukoadhesiv (Alishahi *et al.*, 2011).

c. Morfologi Nanopartikel

Morfologi nanopartikel akan mempengaruhi pelepasan senyawa biotif pada nanopartikel. Untuk mengetahui bentuk nanopartikel dapat dilakukan dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) atau *Transmisi Electron Microscopy* (TEM), dan mikroskop daya atom (Haskell, 2006). Penelitian Dewantari, (2013) menunjukkan bahwa penambahan tripolifospat tidak memberikan pengaruh terhadap morfologi nanopartikel yang terbentuk.

Nanopartikel yang baik memiliki bentuk yang sferis dimana partikel yang berbentuk sferis menghindari adanya kontak antara partikel sehingga partikel tidak mudah menggumpal (Martien *et al.*, 2012).

d. Efisiensi Enkapsulasi

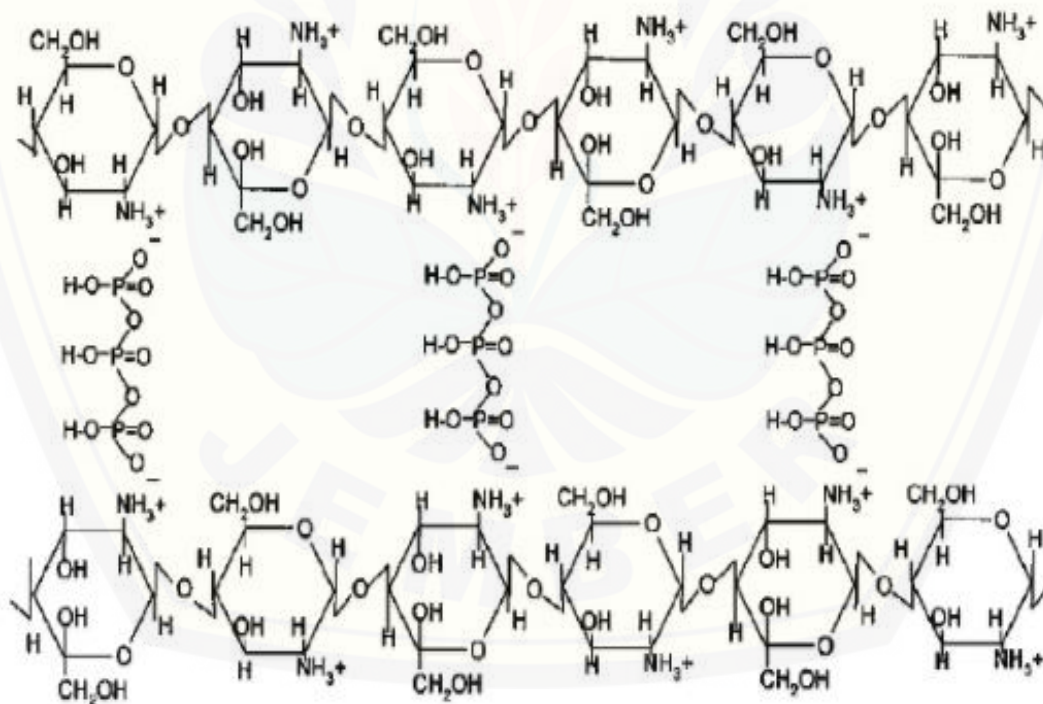
Efisiensi enkapsulasi menunjukkan banyaknya senyawa aktif yang terperap dalam nanopartikel (Chabib *et al.*, 2012). Faktor yang mempengaruhi efisiensi adalah kombinasi antara senyawa bioaktif, polimer dan metode yang digunakan (Mohanraj dan Chen, 2006). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wu *et al.* (2005) konsentrasi penambahan polimer berupa kitosan akan berpengaruh terhadap efisiensi enkapsulasi yang dihasilkan, dimana semakin tinggi konsentrasi kitosan maka efisiensi nanopartikel akan semakin menurun. Efisiensi enkapsulasi menggunakan metode gelasi ionik sangat dipengaruhi oleh komposisi penggunaan kitosan dan sodim tripolifosfat, keseimbangan antara gugus amin oleh kitosan dan ion fosfat yang diberikan sodium tripolifosfat akan meningkatkan efisiensi enkapsulasi (Elzoghby *et al.*, 2013). Nanopartikel dinyatakan efisien apabila memiliki nilai efisiensi yang lebih besar 50% atau mendekati 100% (Ibezim *et al.*, 2011; Kafshgari *et al.*, 2010)

2.3 Gelasi Ionik

Metode gelasi atau pembentukan gel merupakan suatu penggabungan atau pengikatan silang rantai-rantai polimer membentuk jaringan tiga dimensi yang saling berikatan (Fardiaz, 1989). Metode pembuatan nanopartikel dengan gelasi ionik banyak dikembangkan dan paling mudah untuk dilakukan (Mohanraj dan Chen 2006). Prinsip pembentukan partikel pada metode gelasi ionik yaitu terjadinya interaksi ionik antara gugus amino pada kitosan yang bermuatan positif dengan polianion yang bermuatan negatif membentuk intramolekul tiga dimensi (Agnihotri, 2004). Bahan yang digunakan dalam pembuatan nanopartikel berupa polimer dan penaut silang atau *crosslinker* (Rachmania, 2011). Polimer yang biasa digunakan dalam pembuatan nanopartikel yaitu gelatin, amilum, kitosan dan natrium alginate (Soppimath *et al.*, 2011). Polimer yang digunakan dalam proses sintesis nanopartikel yang baik harus bersifat biodegradabel dan biokompatibel.

Polimer yang digunakan diharapkan dapat terserap oleh tubuh dalam saluran pencernaan (Wu *et al.*, 2005). Kitosan merupakan polimer yang memiliki sifat *biodegradable* dan *biocompatible* dan *non toksik* (Prusty, 2009).

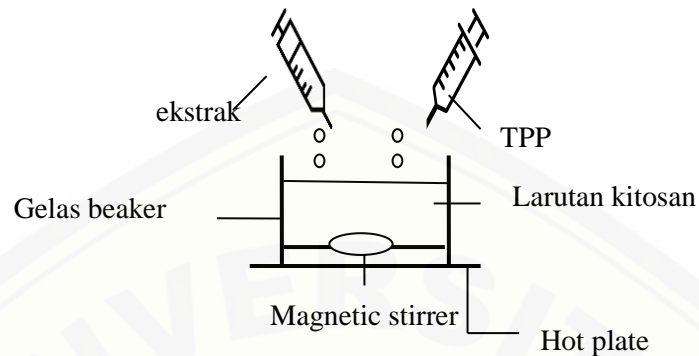
Sintesis nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik, kitosan dilarutkan terlebih dahulu pada larutan dengan pH asam misalnya asam asetat glasial sehingga akan terjadi perubahan gugus amina (NH_2) menjadi (NH_3^+). Gugus positif kemudian akan berinteraksi ion negatif dari pengikat silang (*Cross linker*) seperti tripolifospat (Bhumkar dan Pokharkar, 2006; kafshgari *et al.*, 2011). Zat pengikat silang yang banyak digunakan yaitu tripolifospat yang merupakan jenis senyawa polianion yang memiliki lebih banyak muatan negatif, hal ini yang menyebabkan tripolifospat dapat berinteraksi lebih kuat dibanding polianion lain seperti sulfat dan sitrat (Wahyono, 2010). Interaksi ionik antara kitosan dan Tripolifospat disajikan pada Gambar 2.3.



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

Sintesis nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik dilakukan dengan menambahkan Sodium tripolifospat dan ekstrak setetes demi pada larutan kitosan sambil dilakukan pengadukan pada kecepatan tertentu. Nanopartikel akan

terbentuk secara spontan akibat adanya pengadukan pada suhu kamar (Alishahi *et al.*, 2011). Sintesis nanopartikel metode gelasi ionik disajikan pada Gambar 2.4.

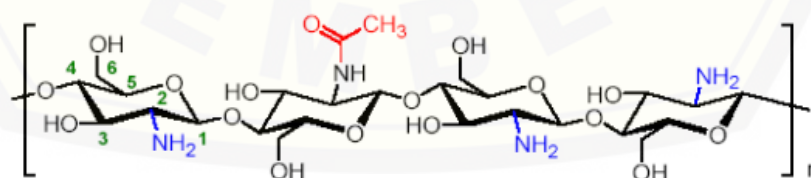


Gambar 2.4. Sintesis nanopartikel metode gelasi ionik (Alishahi *et al.*, 2011)

2.4 Kitosan

2.4.1 Pengertian dan Struktur Kitosan

Kitosan merupakan jenis polisakarida yang merupakan polimer dari karbohidrat alami termodifikasi yang terbuat dari N-deasetilasi parsial kitin, biopolimer alami yang terbuat dari kulit kepiting, udang, lobster dan cumi cumi (Liu *et al.*, 2012; Yi *et al.*, 2005). Kitosan memiliki rumus molekul $(C_6H_{11}NO_4)_n$ yang merupakan salah satu dari polimer alam yang bersifat mudah terdegradasi, biokompatibel, tidak beracun, memiliki aktifitas anti bakteri, mukoadhesif serta mudah diperoleh (Ru *et al.* 2009). Bobot molekul kitosan beragam, tergantung pada degradasi selama proses deasetilasi (Sugita *et al.*, 2010). Struktur kitosan disajikan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5. Struktur kitosan (Thate, 2004)

2.4.2 Sumber dan Sintesis Kitosan

Proses pembuatan kitosan dari kulit udang maupun kepiting, melibatkan proses penghilangan protein dan pemutusan kalsium karbonat yang ada pada

udang maupun kepiting (Dutta *et al.*, 2004). Produksi kitosan dilakukan melalui empat tahap yaitu proses demineralisasi, deproteinasi, pemucatan, dan deasetilasi. Proses demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan mineral yang terkandung pada kulit kepiting maupun udang menggunakan larutan asam klorida berikutnya dilakukan tahap deproteinasi merupakan proses penghilangan protein dalam larutan NaOH. Proses selanjutnya yaitu pemucatan menggunakan larutan (KMnO₄). Pada tahap pemucatan ini terbentuk kitin, kemudian kitin yang terbentuk dilakukan proses deasetilasi untuk menghilangkan gugus asetil (COCH₃) dengan perebusan (Suptijah *et al.*, 1992).

Derajat deasetilasi kitosan menunjukkan banyaknya gugus asetil yang hilang selama proses deasetilasi kitin menjadi kitosan. Semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan sebanding dengan keaktifannya, hal ini disebabkan karena banyaknya gugus amina yang terbentuk dan menggantikan gugus asetil. Gugus amina bersifat lebih reaktif dibandingkan dengan gugus asetil yang disebabkan adanya elektron bebas pada atom nitrogen dalam struktur kitosan (Muzzarelli, 1997). Derajat deasetilasi kitosan akan mempengaruhi sifat kitosan yang dihasilkan. Derajat deasetilasi kitosan semakin tinggi maka kualitas kitosan akan semakin baik. Menurut penelitian yang dilakukan Kim *et al.* (2006) kitosan dengan derajat deasetilasi 80- 85 % memiliki kelarutan yang baik.

2.4.3 Kitosan Sebagai Bahan Pembuatan Nanopartikel

Kitosan juga dapat digunakan dalam pembuatan nanopartikel dengan berbagai formulasi molekul (Bowman dan Leong, 2006). Kitosan dapat digunakan sebagai sistem penghantar obat yang baik karena sifat mekanik yang dimilikinya dan keterurain yang lambat sehingga pelepasan obat akan lebih terkontrol. Penelitian pembuatan nanopartikel menggunakan kitosan telah banyak dilakukan untuk penghantaran senyawa obat maupun komponen bioaktif antara lain penelitian yang dilakukan Iswandana *et al.* (2013) yaitu pembuatan nanopartikel verapil hidrokloridal variasi penambahan kitosan dan tripoliposat dengan metode gelas ionik. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Wu, *et al.* (2005) yaitu kitosan sebagai sistem penghantar ammonium glycyrrhizinate. Selain itu penelitian pembuatan nanopartikel dengan kitosan pada senyawa bioaktif dilakukan oleh

Dewantari *et al.* (2013) pembuatan nanopartikel dengan variasi kitosan pada daun sirih merah.

2.5 Antioksidan

2.5.1 Definisi dan Mekanisme Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat kerusakan oksidatif pada suatu molekul target. Antioksidan akan mendonorkan elektronya pada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Kumalaningsih, 2006). Radikal bebas adalah atom yang memiliki elektron bebas yang tidak stabil dan reaktif. Elektron bebas akan mencari pasangan elektron baru, sehingga akan bereaksi dengan senyawa lain seperti protein, lemak maupun DNA dalam tubuh (Winarsih, 2010).

Antioksidan dapat secara alami terdapat pada tubuh atau antioksidan internal biasa disebut sebagai antioksidan primer. Antioksidan yang berasal dari luar tubuh disebut sebagai antioksidan Eksternal atau sering disebut sebagai antioksidan sekunder. Antioksidan tersies, pengikat logam (*oxygen scavenger*) dan pegikat logam (*chelator* atau *sequestrans*) (Lingga dan Lanny, 2012).

Mekanisme kerja antioksidan dibedakan menjadi tiga yaitu 1) 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. Contoh antioksidan primer yaitu GSH-px, SOD, katalase, 2) antioksidan sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi sebagai pengikat radikal bebas dan dapat mencegah reaksi berantai radikal. Contohnya yaitu vitamin B, vitamin E, betakaroten, asam urat, albumin dan bilirubin, 3) antioksidan tersier yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki secara molekuler, contohnya yaitu enzim perbaikan DNA, metionin sulfide reduktase. Kartikawati (1999)

2.5.2. Antioksidan pada Kopi

Kopi mengandung senyawa yang berfungsi sebagai antoksidatif, sumber antioksidan yang mendominasi pada kopi yaitu asam klorogenat (Lee *et al.*,

2008). Berdasarkan penelitian oleh Dias *et al.* (2015) asam klorogenat paling tinggi terdapat pada kopi biji atau kopi sebelum disangrai. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama proses penyangraian yang dilakukan maka akan menurunkan kandungan asam klorogenat. Pada proses penyangraian asam klorogenat akan berubah menjadi asam kafeat dan asam kuinat (Aziz *et al.*, 2009). Uji aktivitas antioksidan kopi biji dilakukan dengan metode DPPH telah dilakukan oleh Wiranata (2016) menunjukkan bahwa nilai EC_{50} yang dihasilkan sebesar 2,49 mg/mL dan pada penyangraian kopi level *light*, *medium* dan *dark* yaitu 4,13 mg/mL, 4,91 mg/mL dan 6,49 mg/mL. Nilai EC_{50} menunjukkan persen penghambatan yang disebabkan oleh adanya aktivitas antioksidan pada taraf 50%. Semakin rendah nilai EC_{50} maka aktivitas antioksidan semakin besar, hal tersebut menunjukkan bahwa kopi biji memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan dengan kopi sangrai.

Aktivitas antioksidan pada kopi bekerja pada ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) dimana antioksidan akan menurunkan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) sehingga akan menurunkan beberapa resiko yang disebabkan oleh ROS tersebut yaitu antara lain iskemia dan kerusakan pada usus (Sato *et al.*, 2011). Asam klorogenat dapat membantu mengatasi hipertensi dengan melibatkan NO (nitrit oksida) dimana hipertensi disebabkan karena adanya peningkatan kadar hydrogen peroksida dan anion superoksida. Meningkatnya kadar anion superoksida akan bereaksi dengan NO (nitrit oksida) untuk menghasilkan peroxynitri (ONOO-) sehingga NO (nitrit oksida) berkurang dan menyebabkan hipertensi. Adanya asam klorogenat akan meningkatkan bioavailabilitas NO pada pasien hipertensi karena metabolit asam klorogenat akan membuang superoksida sehingga akan menurunkan tekanan darah tinggi atau hipertensi (Watanabe *et al.*, 2006). Asam klorogenat juga berfungsi sebagai antidiabetes, mengkonsumsi asam klorogenat dapat menurunkan resiko diabetes militus (Ong *et al.*, 2013)

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboraturium Kimia Biokimia Hasil Pertanian (KBHP), Labotarurium Analisa Terpadu, Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, Laboraturium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, Laboraturium Balai Besar Paska Panen Kementerian Pertanian, Bogor. Penelitian dilakukan pada bulan Juli hingga Desember 2018.

3.2. Bahan dan Alat

3.2.1. Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah bubuk kopi biji arabika dengan ukuran 20 dan 40 mesh yang diperoleh dari Zhibond Coffee di Jember, kertas saring. Bahan kimia yang digunakan adalah kitosan merek sigma aldrich, asam asetat, sodium tripolipospat, etanol, aquadest, asam galat merek sigma aldrich, DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) merek sigma aldrich, Na_2CO_3 merek KGaA, larutan *folin ciocalteu*, asam galat merek Sigma aldrich, metanol KGaA, trolox, HCl, TPTZ (*2,4,6-Tripyridyl-S-triazine*) merek sigma aldrich, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, sodium asetat trihydrate, buffer fospat, TBA, TCA, asam askorbat, H_2O_2 , deoksiribosa dan iron ammonium sulfat .

3.2.2. Alat

Alat yang digunakan adalah neraca analitik (Mettler Toledo), soxhlet, *Stirrer Rotary Evaporator (Buchi)*, *sprektofotometer UV-VIS (Genesys 10,USA)*, mikropipet, sentrifus, lemari pendingin, vortex (VM-300 Taiwan), *partikel size analyzer (PSA)*, FTIR, mikroskop transmisi elektron dan alat gelas.

3.3. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam empat tahapan yaitu (1) ekstraksi kopi biji, (2) karakterisasi ekstrak kopi biji meliputi pH, rendemen, total padatan terlarut dan total polifenol, (3) sintesis nanopartikel kopi biji, (4) pengujian fisik nanopartikel meliputi ukuran partikel, distribusi partikel, morfologi partikel, FTIR

dan zeta potensial. Pengujian kimia meliputi efisiensi enkapsulasi, kandungan total polifenol, aktivitas antioksidan (DPPH, FRAP (*ferric reducing antioksidan power*) dan radikal OH). Sintesis nanopartikel dilakukan dengan dua faktor perlakuan yaitu variasi konsentrasi kitosan dan ekstrak kopi biji yang ditambahkan.

3.3.1. Ekstraksi Bubuk Kopi Biji

Ekstraksi bubuk kopi biji dilakukan dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut etanol. Sebanyak 100 gram bubuk kopi biji dibagi menjadi 2 masing masing 50 gram kemudian dibungkus kertas saring. Bubuk kopi biji diekstrak dengan pelarut etanol (1:11) suhu 50°C selama 14 jam. Ekstrak yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin selama 2 hari dan disaring setiap hari, selanjutnya dilakukan evaporasi vakum suhu 40°C hingga ekstrak agak pekat. Ekstrak yang mulai pekat kemudian ditambah dengan aquadest sebanyak 25 mL dan dievaporasi kembali dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak pekat dengan total padatan terlarut 5⁰brix. Ekstraksi kopi biji disajikan pada Gambar 3.1.

3.3.2 Sintesis Nanopartikel

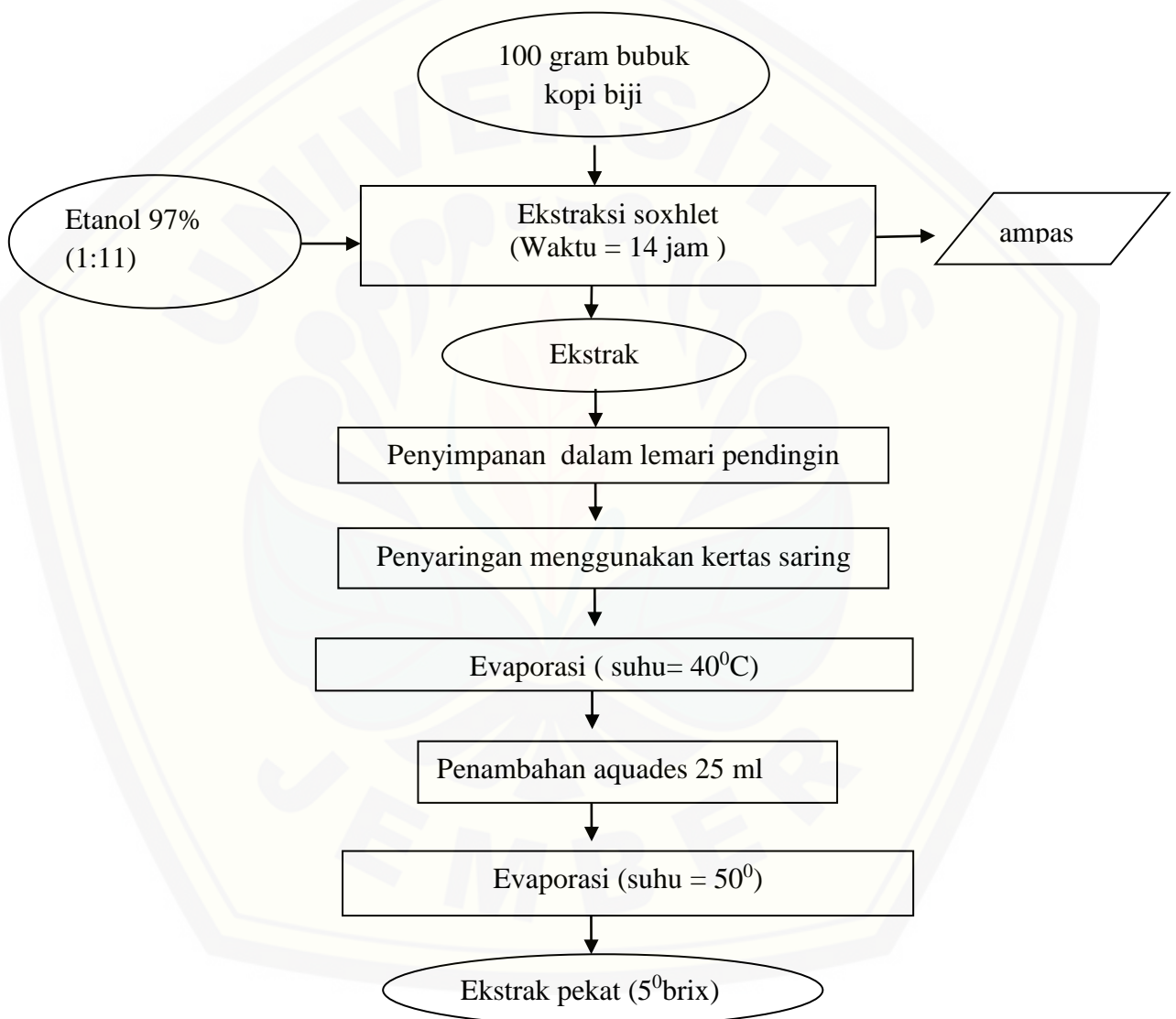
Sintesis nanopartikel mengacu metode Alishahi *et al.* (2011) menggunakan metode gelas ionik. Konsentrasi kitosan yang digunakan yaitu 0,1, 0,2% dan STPP 0,1%. Sebanyak 9 ml kitosan dilakukan pengadukan dengan stirrer kecepatan 500 rpm dan ditambahkan STPP sebanyak 1,8 mL, berikutnya ditambahkan ekstrak kopi biji 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, dan 0,5 mL dengan tetap dilakukan pengadukan dengan stirrer dengan kecepatan 500 rpm selama 5 menit. Nanopartikel kopi biji kemudian dilakukan pengujian efisiensi dan total polifenol, kenampakan visual, ukuran partikel, distribusi partikel, zeta potensial, aktivitas antioksidan, morfologi partikel dan FTIR. Sintesis nanopartikel kopi biji disajikan pada Gambar 3.2.

3.3.3 Parameter Pengamatan

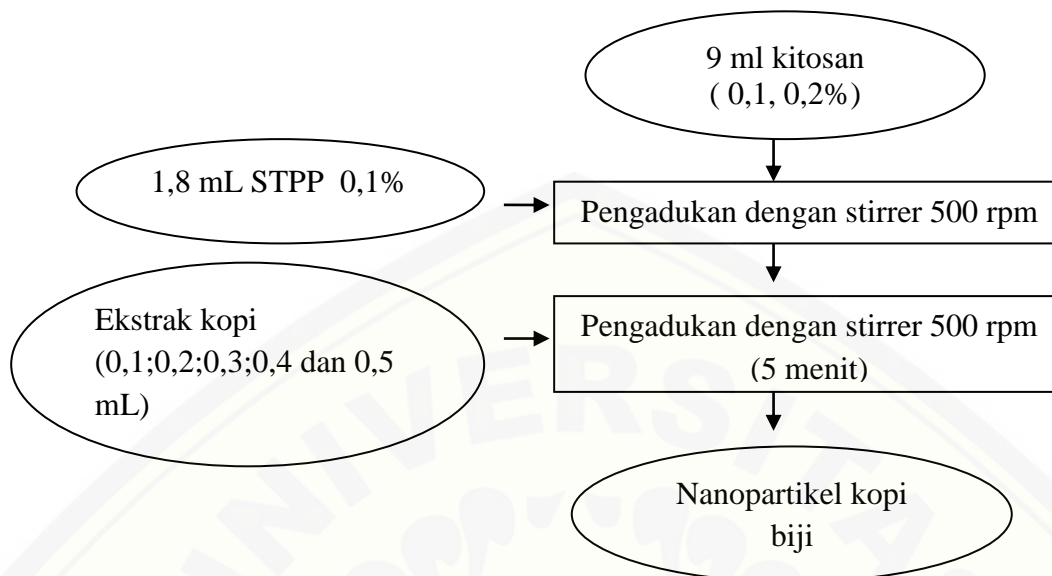
Pada penelitian ini dilakukan pengamatan fisik dan kimia pada ekstrak kopi biji dan nanopartikel terisi ekstrak kopi biji. Adapun parameter yang diamati antara lain:

a. Karakteristik ekstrak bubuk kopi biji

- (1) Rendemen
- (2) Total padatan terlarut
- (3) pH
- (4) Total padatan
- (5) Antioksidan ekstrak



Gambar 3.1 Ekstraksi kopi biji



Gambar 3.2 Sintesis nanopartikel kopi biji

b. Nanopartikel kopi biji

- (1) Total polifenol
- (2) Efisiensi enkapsulasi
- (3) Ukuran nanopartikel
- (4) Zeta potensial
- (5) Analisis spectrum inframerah (FTIR)
- (6) *Transmission Electron Microscopy* (TEM)
- (7) Aktivitas antioksidan (DPPH, FRAP, Radikal OH)

3.3.4 Prosedur Analisis

a. Total Padatan Terlarut (derajat Brix)

Pengukuran total padatan terlarut mengacu pada metode Mukharomah *et al.* (2010). Pengukuran total padatan terlarut menggunakan *hand refractometer* skala 0-32⁰ Brix. Sampel ditetaskan pada kaca sensor *hand refractometer* dan nilai ⁰Brix akan segera terbaca.

b. Pengukuran pH

Penentuan nilai pH ekstrak kopi biji mengacu pada metode AOAC (1995). Alat pH meter distandarisasi dengan buffer pH 4 dan 7 disesuaikan dengan

pH nanopartikel kopi biji. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan elektroda pH meter kedalam 10 mL sampel.

c. Rendemen

Penentuan nilai rendemen kopi biji mengacu pada metode AOAC (1995) dilakukan dengan mengeringkan sampel menggunakan *freeze dryer*. Sejumlah ekstrak kopi biji di masukkan dalam botol timbang kemudian dimasukkan dalam *freezer* selama 24 jam untuk memadatkan sampel. Sampel kemudian di keringkan menggunakan *Freeze dryer* selama 24 jam. Rendemen dihitung berdasarkan bobot ekstrak yang dihasilkan dibandingkan dengan bobot biji kopi yang diekstrak. Perhitungan rendemen sebagai berikut :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat sampel awal}} \times 100 \%$$

d. Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas Nanopartikel

Penentuan ukuran partikel dan indeks polidispersitas mengacu pada Sharma *et al.* (2012). Nanopartikel kopi biji diambil 5 tetes kemudian dimasukan dalam aquadest 20 mL. Campuran nanopartikel dan aquadest diambil 3 mL dan dimasukkan dalam kuvet untuk dianalisis dengan menggunakan PSA. Data ukuran partikel diperoleh sebagai keluaran pada komputer adalah rerata ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel. Data distribusi ukuran partikel berupa *Polydispersity* (PI). PI menggambarkan homogenitas suatu dispersi yang memiliki rentan nilai 0-1.

e. Zeta Potensial

Analisis zeta potensial mengacu pada metode Jonassen *et al.* (2013). Zeta potensial diukur dengan menggunakan alat *zeta analyzer* (Delsa Nano C, Beckman courter). Sampel nanopartikel kopi biji dicuplik sebanyak 0,7 mL diletakkan ke dalam *flow cell* lalu dikarakterisasi sifat elektrokinetiknya pada 25°C.

f. TEM (*Transmission Electron Microscopy*)

Analisis TEM bertujuan untuk mengetahui morfologi nanopartikel Analisis TEM mengacu pada metode Laili *et al.* (2014) Morfologi nanopartikel diukur menggunakan mikroskop transmisi electron. Nanopartikel

kopi biji diteteskan pada grid tembaga, berikutnya dilakukan pengeringan pada suhu kamar, setelah kering dilakukan coating menggunakan karbon untuk analisis menggunakan mikroskop transmisi elektron.

g. FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

Pengujian FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi dari nanopartikel. Penentuan FTIR mengacu pada metode Laili *et al.* (2014). Nanopartikel kopi, kitosan, STPP, larutan kopi dan air di keringkan menggunakan *freeze dry*. 1 mg serbuk kering di pelet di scan pada daerah 4000-400 cm^{-1} . Analisis FTIR dilakukan pada sampel nanopartikel kopi biji, STPP dan kitosan sehingga diketahui adanya reaksi yang terjadi pada nanopartikel kopi biji.

h. Efisiensi Enkapsulai

Penentuan efisiensi enkapsulasi nanopartikel kopi biji mengacu pada metode Sahu *et al.* (2014). Sejumlah nanopartikel kopi biji dimasukkan dalam mikrocup, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 18000 rpm selama 45 menit. Nanopartikel yang terenkapsulasi akan mengendap, sedangkan larutan yang tidak terenkapsulasi akan tetap berada di atas. 0,05 mL nanopartikel yang tidak terenkapsulasi diuji kandungan total polifenol. Banyaknya senyawa yang terenkapsulasi dihitung berdasarkan perbandingan banyaknya senyawa yang terekstrak dengan sisa. Efisiensi enkapsulasi dihitung dengan rumus:

$$\text{Efisiensi enkapsulasi} = \frac{\text{Polifenol total} - \text{Polifenol bebas}}{\text{Polifenol total}} \times 100 \%$$

i. Total Polifenol

Kandungan total polifenol ditentukan dengan mengacu pada metode *folin ciocalteu* seperti yang dijabarkan dalam penelitian Singleton *et al.* (1965). 0,05 mL nanopartikel kopi biji dimasukkan dalam test tube di tambahkan aquadest hingga 5 mL, selanjutnya 0,5 reagen *folin ciocalteu* ditambahkan berikutnya *divortex* dan didiamkan selama 5 menit. 1 mL larutan Na_2CO_3 (7%) ditambahkan ke dalam larutan kemudian *divortex*. Campuran didiamkan pada ruang gelap selama 60 menit. Absorbansi diukur menggunakan UV

VIS spektrofotometer pada panjang gelombang 765nm. Total polifenol dinyatakan sebagai mg GAE/mL, GAE = *gallic acid equivalent*. Persamaan regresi kurva standart asam galat yang digunakan dalam perhitungan kandungan total polifenol yaitu $y = 9,805x - 0,008$ dengan $R^2 = 0,990$.

j. Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan tiga metode yaitu metode DPPH (*2,2-diphenil 1-picylhdazyl*), Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioksidan Power*) dan radikal hidroksil (OH)

(1) Metode DPPH

Penentuan aktivitas antioksidan metode DPPH mengacu pada metode dari Yamaguchi *et al.* (1998). 0,05 mL nanopartikel kopi biji dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 300 μ M sebanyak 3 mL kemudian dilakukan penambahan metanol 2,95 mL. Tabung reaksi kemudian di vortex dan dilakukan pendiaman selama 30 menit. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam *trolox equivalent antioxidant capacity*/ TEAC (mmol TE/mL), dimana TE = *trolox equivalent*. Persamaan regresi kurva standart trolox yang digunakan dalam perhitungan aktivitas antioksidan DPPH yaitu $y = 0,147x - 0,001$ dengan nilai $R^2 = 0,996$.

(2) Metode FRAP

Penentuan aktivitas antioksidan metode FRAP mengacu pada metode dari Benzie dan Strain (1996) dengan modifikasi. Reagen yang dibutuhkan antara lain 300 mM buffer asetat pH 3,6 ; 10 mM larutan TPTZ di dalam 40 mM HCL dan 20 mM larutan $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. Pembuatan larutan FRAP dilakukan dengan mencampur 25 mL Buffet asetat; 2,5 mL larutan TPTZ dan 2,5 mL $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. Larutan kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 15 menit. Nanopartikel kopi biji kemudian diencerkan 10 kali kemudian 0,05 sampel direaksikan dengan 2950 μ L larutan FRAP dan dibiarkan selama 30 menit dalam keadaan gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 593 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam *trolox equivalent antioxidant capacity*/ TEAC (mmol TE/mL), dimana TE = *trolox equivalent*. Persamaan

regresi kurva standart trolox yang digunakan dalam perhitungan aktivitas antioksidan metode FRAP yaitu $y = 0,422x + 0,036$ dengan nilai $R^2 = 0,995$.

(3) Metode Radikal OH

Penentuan aktivitas antioksidan metode Scavenging radikal hidroksil (OH) mengacu pada metode Halliwell *et al.* (1987). Larutan sampel atau senyawa standar dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilakukan penambahan deoxyribose 690 μL 2,5 mM (dalam 10 mM buffer fosfat pH 7,4) , 100 μL campuran EDTA (1,04 mM) dan iron ammonium sulfat (1,0 M), 200 μL asam askorbat (1 mM) dan 50 μL H_2O_2 (0,1 M), berikutnya campuran di vortex. Campuran di inkubasi pada waterbath pada suhu 37°C selama 10 menit, berikutnya dilakukan penambahan 1 mL TCA (2,8%), dan 0,5 mL TBA (1%). Campuran dipanaskan pada penangas air berisi air mendidih selama 8 menit kemudian didinginkan. Campuran diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam *trolox equivalent antioxidant capacity/ TEAC* (mmol TE/mL), dimana TE = *trolox equivalent*. Persamaan regresi kurva standart trolox yang digunakan yaitu $y = 0,072x - 0,002$ dengan $R^2 = 0,992$.

3.4 Analisis Data

Data diperoleh dari 3 kali ulangan kemudian data dihitung rata-rata, dihitung standar deviasinya. Data disajikan dalam bentuk tabel untuk mempermudah dalam interprestasi data. Analisa data dilakukan secara deskriptif.

BAB 4. PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Ekstrak Kopi Biji

Ekstraksi kopi biji arabika dilakukan dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut etanol. Bubuk kopi biji 400 gram diekstrak menggunakan soxhlet dengan penambahan pelarut 1:11 hingga diperoleh ekstrak sebanyak 120 mL. Hasil perhitungan rendemen basis kering ekstrak kopi biji diperoleh hasil sebesar 8,545% dan rendemen basis basah yaitu 30% , total padatan terlarut 5⁰ Brix, serta nilai pH sebesar 5,73. Ekstrak kopi biji disajikan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Ekstrak kopi biji

Ekstrak kopi biji dianalisis kandungan kimia meliputi total polifenol dan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil pengujian kimia ekstrak disajikan pada Tabel 4.1. Analisa total polifenol bertujuan untuk mengetahui banyaknya kandungan senyawa polifenol dalam ekstrak. Hasil analisis kandungan total polifenol ekstrak kopi biji arabika yaitu 34,81 mg GAE/mL. Kopi biji arabika mengandung senyawa polifenol yang lebih tinggi dibandingkan dengan kopi biji robusta. Naidu *et al.* (2008) telah melaporkan bahwa kopi biji arabika mengandung senyawa polifenol 32,19 % sedangkan kopi biji robusta 31,71 %. Kandungan polifenol dapat dijadikan sebagai acuan untuk identifikasi besarnya aktivitas antioksidan pada sampel (Prasad *et al.*, 2009).

Tabel 4.1 karakteristik ekstrak bubuk kopi biji

Parameter	Nilai
Total padatan terlarut (°brix)	5
pH	5,73
Rendemen ekstrak basis kering (%)	8,54 ± 0,481
Rendemen ekstrak basis basah basah (%)	30
Total Polifenol (mg GAE/mL)	34,81 ± 2,619
Aktivitas antioksidan mmol TE/mL	2,03 ± 0,050

Senyawa antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya kepada senyawa radikal bebas. Senyawa antioksidan dapat mencegah beberapa penyakit neugeneratif seperti kanker dan kardiovaskuler (Winarsih, 2007). Kopi mengandung senyawa antioksidan berupa asam klorogenat (Lee *et al.*, 2005). Mursu *et al* (2005) melaporkan bahwa senyawa asam klorogenat pada kopi mendominasi 90% dari kandungan total polifenol. Hasil analisis aktivitas antioksidan kopi biji arabika diperoleh aktivitas antioksidan 2,03 mmol TE/mL. Hal tersebut menunjukkan bahwa dalam setiap mL ekstrak kopi biji dapat menghambat aktivitas radikal setara dengan 2,03 mmol Trolox. Kopi biji memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kopi sangrai. Wiranata (2016) melaporkan bahwa kopi biji memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi untuk mereduksi radikal bebas 50% yaitu 2,49 mg/mL sedangkan kopi sangrai level *Dark* 6,49 mg/mL.

4.2 Karakteristik Nanopartikel pada Berbagai Konsentrasi Kitosan dan Penambahan Ekstrak Kopi Biji

Nanopartikel merupakan partikel yang memiliki ukuran 10-1000 nm (Mohanraj dan Chen 2006). Nanopartikel dengan menggunakan polimer dapat meningkatkan penyerapan dan mengendalikan pelepasan zat aktif dalam tubuh (Napsah dan Wahyuningsih, 2009) dan mampu masuk kedalam ruang antar sel yang tidak dapat ditembus oleh partikel dengan ukuran lebih besar (Buzea, 2007). Pada penelitian ini sintesis nanopartikel ekstrak kopi biji dilakukan dengan

metode gelasi ionik. Prinsip dari sintesis nanopartikel metode gelasi ionik yaitu adanya *Crosslink* ion positif amina dari kitosan dengan ion negatif pospat dari sodium tripolifospat membentuk jaringan tiga dimensi (Aghnotri, 2004). Kitosan dilarutkan dalam larutan asam glasial sehingga terbentuk senyawa (NH_3^+) dari gugus amina kitosan (NH_2). Gugus positif tersebut kemudian berikatan dengan tripolifospat dan senyawa aktif yang bermuatan negatif (Bhumkar dan Pokharkar, 2006; Kafshgari *et al.*, 2011). Nanopartikel ekstrak kopi biji dibuat dengan variasi kitosan 0,1 dan 0,2 % dengan penambahan ekstrak kopi biji 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 mL ekstrak. Karakteristik nanopartikel kopi biji meliputi efisiensi enkapsulasi, kandungan total polifenol dan kenampakan visual disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Karakteristik nanopartikel kopi biji (*green bean*), efisiensi enkapsulasi, kandungan polifenol dan kenampakan visual.

Konsentrasi kitosan (%)	Volume ekstrak (mL)	%EE	Total Polifenol (mg GAE/mL)	kenampakan visual
0,1	0,1	13,36 ± 5,609	0,46 ± 0,040	Opaque (+)
	0,2	10,60 ± 3,400	0,94 ± 0,048	Opaque (++)
	0,3	10,56 ± 0,204	1,36 ± 0,028	Opaque (++++)
	0,4	10,56 ± 0,080	1,69 ± 0,042	Opaque (++++)
	0,5	8,62 ± 0,072	1,98 ± 0,021	Opaque (+++++)
0,2	0,1	9,18 ± 3,838	0,47 ± 0,040	Opaque (+)
	0,2	8,96 ± 2,627	0,88 ± 0,019	Opaque (++)
	0,3	5,57 ± 0,511	1,46 ± 0,051	Opaque (++++)
	0,4	5,22 ± 1,847	1,84 ± 0,009	Opaque (++++)
	0,5	4,61 ± 0,653	1,96 ± 0,050	Opaque (+++++)

Keterangan opaque (+) = tingkat kekeruhan nanopartikel

4.2.1 Efisiensi Enkapsulasi Nanopartikel

Efisiensi enkapsulasi merupakan parameter penting dalam menentukan keberhasilan proses enkapsulasi. Besarnya senyawa aktif yang terjerap dalam nanopartikel dinyatakan sebagai efisiensi enkapsulasi (Chabib *et al.*, 2012). Pentingnya efisiensi dalam penentuan keberhasilan sintesis suatu partikel ini maka efisiensi enkapsulasi dijadikan sebagai parameter dalam menentukan formulasi terpilih.. Senyawa bioaktif, polimer dan metode yang digunakan dalam sintesis nanopartikel dapat mempengaruhi efisiensi enkapsulasi pada nanopartikel yang

dihasilkan (Mohanraj dan Chen, 2006). Efisiensi enkapsulasi (%EE) dapat dilihat pada Tabel 4.2. Nanopartikel kopi biji pada konsentrasi kitosan 0,1% dengan penambahan 0,1; 0,2;0,3;0,4 dan 0,5 mL ekstrak kopi berturut-turut yaitu 13,36; 10,60; 10,56; 10,56 dan 8,96 %. Efisiensi enkapsulasi pada konsentasi kitosan 0,2 % dengan penambahan ekstrak kopi 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 mL berturut-turut yaitu 9,18; 8,96; 5,57; 5,22 dan 4,61%.

Efisiensi enkapsulasi nanopartikel kopi biji pada konsentrasi kitosan 0,1 % memiliki efisiensi enkapsulasi lebih tinggi dibandingkan pada konsentrasi kitosan 0,2%. Penurunan penjerapan senyawa aktif pada konsentrasi kitosan 0,2% disebabkan karena adanya ketidakseimbangan antara kitosan dan STPP. Keseimbangan antara rasio kitosan dan STPP yang pada nanopartikel dapat mempengaruhi efisiensi enkapsulasi. Banyaknya *crosslinking* yang terbentuk antara gugus amin (NH_3^+) dan ion fosfat ($\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$) akan meningkatkan penjerapan zat aktif sehingga akan meningkatkan penjerapan zat aktif (Elzoghby, *et al.*, 2013). Penelitian sebelumnya telah dilaporkan oleh Wu *et al.* (2005) peningkatan konsentrasi kitosan menurunkan efisiensi enkapsulasi pada preparasi nanopartikel senyawa ammonium glycyhizinate dengan menggunakan metode gelas ionik. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Xu (2003) bahwa penambahan kitosan dari 0,2 mg/mL menjadi 2 mg/mL menurunkan efisiensi nanopartikel BSA. Konsentrasi kitosan diduga dapat meningkatkan viskositas larutan sehingga proses sintesis nanopartikel akan semakin sulit (Orienti *et al.*, 1996).

Efisiensi enkapsulasi nanopartikel kopi biji pada penambahan 0,1 mL ekstrak kopi biji dapat menjerap ekstrak secara optimal. Pada penambahan 0,2 hingga 0,4 mL ekstrak kopi masih dapat terjerap senyawa bioaktif. Penambahan ekstrak 0,5 mL penjerapan senyawa bioaktif menurun secara drastis. Penurunan penjerapan senyawa bioaktif pada penambahan ekstrak tersebut disebabkan karena zat aktif berlebih sehingga tidak mampu berikatan dengan kitosan dan Na-TPP (Yuwono *et al.*, 2015). Hasil serupa di laporkan oleh Wu *et al.* (2005) bahwa penambahan senyawa bioaktif menurunkan nilai efisiensi enkapsulasi nanopartikel.

4.2.2 Total Polifenol Nanopartikel Kopi Biji

Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder pada tanaman yang memiliki sifat tidak stabil (Sulistyo, 2000). Polifenol merupakan senyawa antioksidan yang kuat pada kopi yang mana jenis senyawa polifenol pada kopi didominasi oleh asam klorogenat (Lee *et al.*, 2008). Mursu *et al.* (2005) melaporkan bahwa kandungan asam klorogenat mencapai 90 % dari total polifenol pada kopi biji. Efek fungsional sehat yang ditimbulkan dengan konsumsi senyawa polifenol dari kopi biji yaitu dapat menurunkan berat badan dan antidiabetes (Henry *et al.*, 2010). Analisis senyawa polifenol dapat dilakukan dengan metode *folin coocalteu*. Prinsip metode *Folin Ciocalteu* didasarkan pada kemampuan sampel yang mengandung senyawa fenol untuk mereduksi reagen *Folin- Ciocalteu* berwarna kuning menjadi biru (Cicco, 2011). Intensitas warna biru yang dihasilkan menunjukkan semakin banyak senyawa polifenol yang terkandung dalam sampel. Hasil analisis kandungan total polifenol nanopartikel kopi biji dapat dilihat pada tabel 4.2.

Kandungan total polifenol nanopartikel kopi biji variasi kitosan 0,1% dengan penambahan ekstrak kopi 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 mL ekstrak kopi yaitu 0,46; 0,94; 1,36; 1,69 dan 1,98 mg GAE/mL sedangkan pada konsentrasi kitosan 0,2% yaitu 0,47; 0,88; 1,46; 1,84 dan 1,96 mg GAE/mL. Kandungan total polifenol nanopartikel kopi biji meningkat seiring dengan penambahan ekstrak kopi biji. Karakteristik ekstrak pekat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 34,81 mg GAE/mL sehingga dengan semakin banyak ekstrak kopi yang ditambahkan akan meningkatkan kandungan polifenol nanopartikel kopi biji. Golongan senyawa polifenol yang mendominasi kopi biji yaitu asam klorogenat (Lee *et al.*, 2008). Nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 0,1 dan 0,2% mengandung polifenol yang relatif sama. Hasil tersebut disebabkan karena kitosan tidak mengandung senyawa polifenol, sehingga dengan penambahan konsentrasi kitosan tidak menambah kandungan polifenol pada nanopartikel. Kitosan terbuat dari kulit kepiting, udang atau lobster (Liu *et al.*, 2012; Yi *et al.*, 2005).

4.2.3 Kenampakan Visual Nanopartikel Kopi Biji

Kenampakan visual pada nanopartikel kopi biji pada berbagai formulasi disajikan pada Tabel 4.2. Kenampakan visual nanopartikel kopi biji pada semua formulasi menunjukkan kondisi *opaque*. *Opaque* merupakan kondisi larutan partikel tidak tembus cahaya namun tidak terjadi kekeruhan. Peningkatan ekstrak kopi biji menunjukkan kondisi semakin *opaque* (semakin +) yang disebabkan karena semakin banyak senyawa bioaktif yang terperap dalam nanopartikel. *Crosslink* antara kitosan dan STPP terjadi karena adanya ikatan ion positif dari kitosan dan ion negatif yang berasal dari STPP (Mohanraj dan Chen, 2006).

4.2.4 Ukuran dan Distribusi Partikel

Ukuran dan distribusi partikel merupakan faktor penting yang menentukan keberhasilan nanopartikel. Ukuran partikel berpengaruh terhadap sifat nanopartikel yang dihasilkan, semakin kecil ukuran partikel yang terbentuk akan meningkatkan penyerapannya di dalam tubuh (Haskel, 2006; Sahoo dan Labhassetwar, 2006). Karakterisasi ukuran dan distribusi partikel dilakukan pada kedua formulasi kitosan 0,1 dan 0,2% dengan penambahan ekstrak kopi biji 0,3 dan 0,4 mL. Ukuran dan distribusi nanopartikel kopi biji disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Ukuran dan distribusi partikel.

Konsentrasi kitosan (%)	Ekstrak kopi biji (mL)	Ukuran partikel (nm)	Indeks polidispersitas (PDI)
0,1	0,3	290,06 ± 3,444	0,29 ± 0,039
	0,4	292,16 ± 6,312	0,28 ± 0,004
0,2	0,3	355,63±17,906	0,48 ± 0,032
	0,4	462,90±12,301	0,49 ± 0,024

Ukuran nanopartikel pada konsentrasi kitosan 0,1 % dengan penambahan ekstrak kopi biji 0,3 dan 0,4 ml yaitu 290,06; 292,16 nm, sedangkan pada konsentrasi kitosan 0,2% dengan penambahan 0,3 dan 0,4 ml yaitu 355,63 dan 462,9 nm. Peningkatan konsentrasi kitosan meningkatkan ukuran partikel yang terbentuk pada semua formulasi. Penambahan ekstrak kopi pada konsentrasi

kitosan 0,1% tidak meningkatkan ukuran partikel, sedangkan pada konsentrasi kitosan 0,2% penambahan ekstrak meningkatkan ukuran partikel. Hasil serupa telah dilaporkan oleh Dewantari *et al* (2013) pada preparasi nanopartikel sirih merah, semakin tinggi konsentrasi kitosan yang ditambahkan meningkatkan ukuran partikel. Peningkatan konsentrasi kitosan menyebabkan terjadinya aglomerasi molekul kitosan sehingga berdampak pada ukuran partikel yang dihasilkan menjadi lebih besar (Wahyono, 2010). Peningkatan konsentrasi kitosan dilaporkan dapat meningkatkan viskositas nanopartikel sehingga pembentukan partikel semakin sulit yang menyebabkan partikel yang terbentuk akan berukuran lebih besar (Ali, 2014). Hasil pengukuran nanopartikel kopi biji menunjukkan rentang nilai 200 hingga 463 nm, hasil tersebut telah memenuhi ukuran nanopartikel. Rentang nilai ukuran nanopartikel yaitu 10-1000 nm (Mohanraj dan Chen, 2006).

Indeks polidispersitas menunjukkan distribusi partikel dalam suatu larutan. Indeks polidispersitas pada konsentrasi kitosan 0,1% dengan penambahan ekstrak kopi 0,3 dan 0,4 mL yaitu 0,29 dan 0,28 PDI, sedangkan pada konsentrasi kitosan 0,2% dengan penambahan ekstrak kopi 0,3 dan 0,4 mL nilai indeks polidispersitasnya yaitu 0,48 dan 0,49 PDI. Indeks polidispersitas semakin besar menunjukkan partikel semakin tidak homogen (Lovelyn dan Attama, 2011). Nilai indeks polidispersitas meningkat dengan penambahan kitosan, hal ini berhubungan dengan ukuran partikel yang semakin meningkat. Peningkatan konsentrasi kitosan dapat meningkatkan ukuran partikel yang memungkinkan adanya aglomerasi pada nanopartikel sehingga ukuran partikel relatif tidak seragam (Wahyono, 2010) sehingga homogenitas nanopartikel mengalami penurunan. Rentang nilai indeks polidispersitas berada pada 0 sampai 1. Nilai indeks polidispersitas yang mendekati 0 mengindikasikan tingkat kemohogenan dispersi semakin tinggi. Nilai indeks polidispersitas lebih dari 0,5 mengindikasikan tingkat kehomogenan rendah (Avandi *et al*, 2010). Nilai indeks polidispersitas nanopartikel berkisar 0,2 hingga 0,5 sehingga dapat dikatakan bahwa nanopartikel yang terbentuk relatif homogen.

4.3 Karakteristik Nanopartikel Formulasi Terpilih

Penentuan formulasi terpilih diperoleh dari 3 parameter pengujian yaitu efisiensi enkapsulasi, total polifenol, ukuran dan distribusi partikel. Berdasarkan hasil pengujian dari ke 4 parameter diperoleh formulasi terpilih yaitu pada konsentrasi kitosan 0,1 % dengan penambahan ekstrak kopi 0,4 mL sebagai formulasi terpilih. Alasan terpilihnya formulasi tersebut yaitu masih dapat menjerap senyawa bioaktif yang tidak jauh berbeda dengan penambahan 0,2 dan 0,3 mL ekstrak dengan kandungan total polifenol tinggi. Ukuran partikel dalam skala nano dengan distribusi partikel yang homogen. Formulasi terpilih akan diuji fisik antara lain ukuran dan distribusi partikel, zeta potensial, FTIR, TEM dan uji kimia meliputi total polifenol dan aktivitas antioksidan (DPPH, OH radikal dan FRAP). Nanopartikel formulasi terpilih disajikan pada Gambar 4.6 dan karakteristik fisik dan kimia nanopartikel kopi biji formulasi terpilih disajikan pada Tabel 4.4.



Gambar 4.2. Nanopartikel formulasi terpilih

Tabel 4.4. Karakteristik nanopartikel formulasi terpilih (konsentrasi kitosan 0,1% penambahan ekstrak 0,4 mL).

Uji	Nilai
%EE (%)	10,17 % ± 1,695
Ukuran (nm)	292,16 ± 6,312
Indeks polidispersitas (PDI)	0,28 ± 0,004
Zeta potensial (mV)	38,63 ± 1,150
Polifenol mg GAE/mL	1,77 ± 0,0175
Antioksidan	
• DPPH mmol TE/mL	0,39 ± 0,005
• OH radikal mmol TE/mL	0,13 ± 0,002
• FRAP mmol TE/mL	0,14 ± 0,002
pH	5,20

Banyaknya senyawa yang terjerap dalam sistem nanopartikel ditunjukkan dengan nilai efisiensi enkapsulasi (Chabib *et al.*, 2012). Nilai efisiensi enkapsulasi semakin besar sebanding dengan jumlah senyawa bioaktif dalam sistem nanopartikel. Nanopartikel formulasi terpilih memiliki nilai efisiensi enkapsulasi sebesar 10,17%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penjerapan senyawa bioaktif ekstrak kopi biji menggunakan metode gelas ionik tidak efektif. Keberhasilan sistem nanopartikel idealnya harus memiliki nilai efisiensi enkapsulasi lebih dari 50% (Kafshgari *et al.*, 2010).

Ukuran partikel dan distribusi partikel menentukan keberhasilan nanopartikel yang terbentuk. Ukuran nanopartikel formulasi terpilih yaitu 292,16 nm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ukuran nanopartikel kopi biji telah memenuhi rentang ukuran nano yaitu 10- 1000 nm (Mohanraj dan Chen, 2006). Distribusi partikel menunjukkan tingkat kehomogenan partikel dalam suatu larutan. Distribusi partikel dinyatakan dalam indeks polidispersitas (PDI), rentang nilai indeks polidispersitas yaitu 0 hingga 1. Hasil pengujian nanopartikel perlakuan terpilih sebesar 0,28 PDI, hal ini menunjukkan nanopartikel kopi biji yang dihasilkan pada perlakuan terpilih memiliki distribusi partikel relatif homogen. Nilai distribusi partikel lebih dari 0,5 menunjukkan tingkat kehomogenan yang rendah (Avandi *et al.*, 2010).

Nilai zeta potensial menunjukkan kestabilan dan sifat muatan nanopartikel. perbedaan muatan pada nanopartikel yang terbentuk akan berpengaruh terhadap gaya tolak menolak antar partikel (Napsih dan Wahyuningsih, 2009). Nanopartikel memiliki sifat stabil pada nilai zeta (+/-) 30 mV (Mudrock *et al.*, 2008). Nilai zeta potensial nanopartikel kopi biji formulasi terpilih yaitu + 38,93 mV. Hasil tersebut menunjukkan bahwa nanopartikel formulasi terpilih bersifat stabil karena memiliki nilai zeta melebihi 30 mV. Nilai zeta potensial nanopartikel lebih dari 30 mV dapat mencegah adanya agregasi antar partikel (Mohanraj dan Chen, 2006)

Nanopartikel formulasi terpilih memiliki pH 5,2, menunjukkan bahwa pH nanopartikel yang dihasilkan sedikit asam. pH nanopartikel mempengaruhi terhadap ionisasi kitosan yang akan berpengaruh terhadap kekuatan partikel yang

terbentuk. Nilai pH yang rendah memungkinkan interaksi secara ionik lebih banyak dibandingkan pada kondisi pH yang lebih tinggi (Dewantari, 2013). Kitosan larut dalam pH asam membentuk gugus amina bermuatan positif (NH_3^+) yang akan berinteraksi dengan gugus negatif dari polianion tripolipospat (Bhumkar dan Pokharkar, 2006).

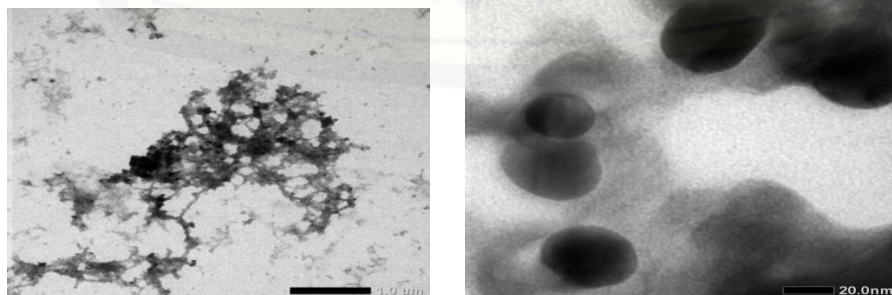
Nanopartikel idealnya dapat menjerap senyawa bioaktif dengan konsentrasi yang tinggi. Kandungan senyawa bioaktif yang memiliki efek fungsional sehat pada kopi biji yaitu senyawa polifenol yang didominasi oleh asam klorogenat (Lee *et al.*, 2008). Total polifenol yang terkandung dalam nanopartikel perlakuan terpilih yaitu 1,77 mg GAE/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa nanopartikel kopi biji mengandung senyawa polifenol yang relatif tinggi.

Antioksidan adalah senyawa yang dapat memutus reaksi berantai radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya (Kumalaningsih, 2006). Radikal bebas merupakan senyawa yang kehilangan pasangan elektronnya, sehingga radikal bebas tidak stabil dan mudah bereaksi dengan zat lain seperti lemak, protein maupun DNA dalam tubuh (Winarti, 2010). Senyawa-senyawa pada bahan pangan yang dapat bersifat sebagai antioksidan diantaranya α -tokoferol, asam askorbat, karatenoid, asam amino, peptida, protein, flavonoid dan fenol (de Oliveira *et al.*, 2012).

Aktivitas antioksidan nanopartikel kopi biji dengan formulasi terpilih diuji dengan tiga metode analisis antioksidan antara lain DPPH, FRAP dan radikal OH. Analisis antioksidan metode DPPH banyak dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan karena metodenya sederhana, cepat dan memerlukan sedikit sampel (Huang *et al.*, 2005). Reaksi yang terjadi pada metode DPPH didasarkan pada mekanisme transfer elektron senyawa antioksidan, sehingga radikal DPPH akan stabil (Saputra, 2015). Analisis kandungan antioksidan metode FRAP banyak digunakan untuk menguji antioksidan yang berasal dari tumbuhan. Kelebihan metode FRAP yaitu murah, cukup sederhana dan cepat (Benzie dan Strain, 1996). Reaksi yang terjadi pada metode FRAP didasarkan pada kemampuan senyawa aktif dalam mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} (Halvorsen *et al.*, 2002).

Analisis antioksidan dilakukan dengan metode radikal OH. Radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling reaktif dan berbahaya (Shi *et al.*, 1992). Prinsip dari metode ini adalah menghasilkan radikal hidroksil melalui reaksi foton, reaksi antara kompleks besi-EDTA dengan H₂O₂ karena keberadaan asam askorbat. Radikal hidroksil yang terbentuk akan menyerang deoksiribosa sehingga membentuk produk dan campuran dipanaskan pada kondisi asam sehingga terbentuk malonaldehid (MDA) yang terdeteksi ketika bereaksi dengan TBA (asam tiobarbiturat) ditandai dengan terbentuknya warna merah (Halliwell *et al.*, 1987). Aktivitas antioksidan didasarkan pada kemampuan sampel untuk bereaksi dengan radikal hidroksil dan mengurangi warna merah. Aktivitas antioksidan semakin tinggi nilai absorbansi semakin rendah. Hasil analisis aktivitas antioksidan pada ketiga pengujian DPPH, FRAP dan radikal OH berturut turut yaitu 0,39; 0,14; 0,13 mmol TE/mL. Senyawa yang dapat memberikan aktivitas antioksidan pada kopi biji berupa asam klorogenat yang termasuk dalam senyawa polifenol (Lee *et al.*, 2008). Kandungan asam klorogenat pada kopi mencapai 90% dari total polifenol (Mursu *et al.*, 2005).

Pengujian morfologi partikel bertujuan untuk mengetahui bentuk nanopartikel. Pengujian morfologi nanopartikel dilakukan dengan menggunakan *Transmisi Electron Microscopy* (TEM). Hasil pengujian menunjukkan bahwa partikel yang terbentuk relatif sferis bulat. Partikel yang berbentuk bulat atau sferis, Bagian berwarna gelap pada partikel tersebut menunjukkan adanya ekstrak kopi biji yang terjepit dalam matriks nanopartikel (Taurina *et al.*, 2013). Morfologi nanopartikel disajikan pada Gambar 4.3 .

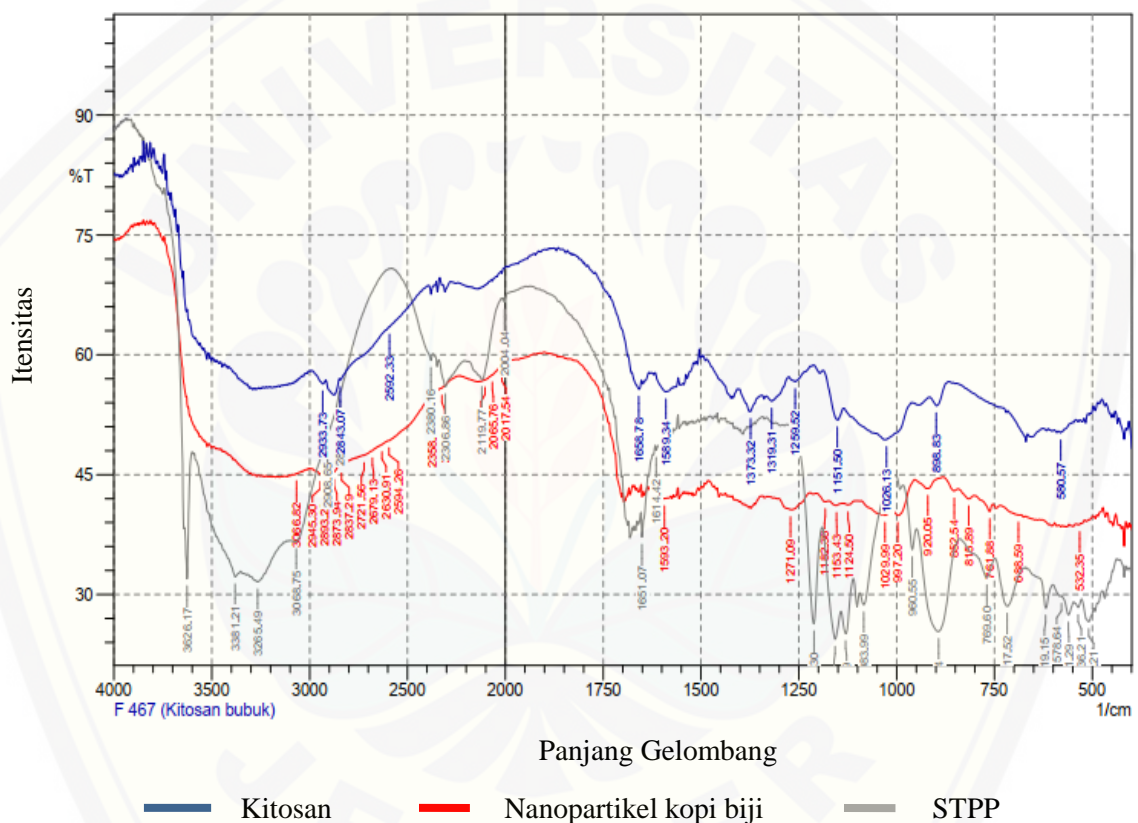


(a) Perbesaran 40.000 x

(b) perbesaran 80.000x

Gambar 4.3 Morfologi nanopartikel

Spektroskopi *forier transform infrared* (FTIR) merupakan suatu teknik analisa yang digunakan untuk mengetahui adanya gugus fungsi suatu bahan. Spektrum infra merah digunakan untuk mendeteksi keberadaan gugus fungsi yang digunakan untuk identifikasi senyawa pada sampel polimer (Zhang *et al.*, 2007). Spektra FTIR dari kitosan, STPP, dan kompleks antara kitosan dan STPP diukur pada bilangan gelombang 4000- 400 cm^{-1} . Hasil FTIR nanopartikel kopi biji formulasi terpilih disajikan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Spektrum FTIR nanopartikel kopi biji

Berdasarkan hasil spektra FTIR pada Gambar 4.4 menunjukkan adanya serapan pada gugus hidroksi (-OH) dari kitosan pada bilangan panjang gelombang 3400,5 cm^{-1} . Gugus amina primer (N-H) terdapat pada panjang gelombang 1589,34 cm^{-1} dan terdapat gugus C=O pada panjang gelombang 1658,78 cm^{-1} . Hasil spektra STPP murni ditunjukkan oleh adanya gugus fosfat (P=O) pada bilangan panjang gelombang 1157,9 cm^{-1} . Nanopartikel kopi biji memiliki puncak-puncak spesifik pada panjang gelombang 3080,32 (gugus OH), 1593,20

cm^{-1} (gugus NH), $2873,94 \text{ cm}^{-1}$ (gugus C-O). Bilangan gelombang kitosan murni, STPP dan nanopartikel kopi biji disajikan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5. Bilangan gelombang kitosan murni, STPP dan nanopartikel kopi biji.

Gugus Fungsi	Bilangan gelombang cm^{-1}			
	Kitosan	STPP	Nanopartikel	Acuan
-OH	3400,5	-	3066,82	3400-3000 (Iswandana, 2013)
N-H	1589,3	-	1593,20	1640-1550 (Pavia <i>et al.</i> , 2009)
C=O	1658,78	1651,107	-	1800-1650 (Pavia <i>et al.</i> , 2009)
P=O	-	1157,29	1153,43	1153 (Wahyono, 2010)
C-O	-	-	2873,94	2879 (Nasrullah, 2013)

Tabel 4.5 menunjukkan adanya perubahan bilangan gelombang pada nanopartikel kopi biji. Adanya pergeseran bilangan gelombang menunjukkan adanya interaksi antara kitosan dan sodium tripolifopat (Iswandana, 2013). Gugus fungsi yang mengalami pergeseran yaitu pada -OH, N-H, dan adanya gugus C-O yang mengindikasikan senyawa fenol pada nanopartikel kopi biji.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa konsentrasi kitosan 0,1% memiliki efisiensi penyerapan senyawa bioaktif lebih tinggi dibandingkan pada konsentrasi kitosan 0,2%. Penambahan ekstrak kopi biji 0,5 mL terjadi penurunan efisiensi enkapsulasi secara drastis pada kedua formulasi kitosan. Kandungan polifenol meningkat dengan penambahan ekstrak kopi, namun tidak meningkat dengan bertambahnya konsentrasi kitosan. Ukuran dan distribusi partikel meningkat dengan bertambahnya konsentrasi kitosan.

Formulasi nanopartikel terpilih yaitu pada konsentrasi 0,1% dengan penambahan ekstrak kopi 0,4 mL memiliki karakteristik efisiensi enkapsulasi 10,17 %, ukuran partikel 292,16 nm, distribusi partikel 0,28 PDI, nilai zeta potensial 38,93 mV, morfologi bulat sferis dan kandungan total polifenol 1,77 mg GAE/ml, Aktivitas antioksidan DPPH 0,39 mmol TE/mL, FRAP 0,13 mmol TE/mL, Radikal OH 0,14 mmol TE/ mL

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan yaitu perlu dilakukan penelitian tentang kelayakan industri nanopartikel kopi biji untuk mengetahui potensi secara ekonomi.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 1995. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists*. Arlington, Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists, Inc
- AAK.1988. *Budidaya Tanaman Kopi*. Yogyakarta : Kansinus.
- Agnihotri, S. A., N. Malikarjuna., dan T. M. Aminabhavi. 2004. Recent Advances on Chitosan-Based Micro and Nanoparticles in Drug Delivery. *J. of Controlled Release*. 100: 5-28
- Akagawa, M, dan K. Suyama. 2001. Amine Oxidase Like Activity of Pooliphenols. *Jurnal Biochemyst*. 268.(7): 1953-1963.
- Alishahi, A., A. Mirvaghefi., M.R. Tehrani., H. Farahmand., S.A Shajaosadati., F.A Dorkoosh, dan M.Z. Elsabee., 2011. Shelf Life and Delivery Enhancement of Vitamin C Using Chitosan Nanoparticles. *Food Chem* ; 126:935-940.
- Ali, Y.G., P. Darmadji., Y. Pranoto. 2014. Optimasi nanopartikel Asap Cair Tempurung Kelapa Dengan Response Surface Methodology Dan Karakterisasi Nanokapsul. *Jurnal Teknologi dan Hasil Pertanian*. 25(1).
- Amalia, A., M. Jufri., E. Anwar. 2015. Preparasi dan Karakterisasi Sediaan Solid Lipid Nanoparticle (SLN) Gliklazid. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 13(1); 108-114.
- Andasari, D.S. 2017. Formulasi Nanopartikel Zerumbon dari Rimpang Lempuyung Gajah (Zingiber zerumbet L) Enkapsulasi dengan Kitosan dan Aktivitas Sitotoksiknya Terhadap Sel Kanker T47D. *Tesis*. Surakarta. Program Study Magister Farmasi Sekolah Pasca Sarjana Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Andarwulan, N., D. Fardiaz., G.A. Wattimena dan K. Shetty. (1999). Antioxidant Activity Associated with Lipid and Phenolic Mobilization during Seed Germination of *Pangium Edule Reinw.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.47: 3158-3163.
- Anshori, M. A. 2014. Analisis Keragaman Morfologi Koleksi Tanaman Kopi Arabika dan Robusta Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar Sukabumi. *Skripsi*. Bogor: Departemen Agronomi dan Hortikultura Institut Pertanian Bogor.

- Avandi, M. R., A. M. Sagedhi., N. Mohammadpour., S.Abedin., F.Aytabi., R.Dinarvand., M. R.Tehrari. 2010. Preparation and Characterization of Insulin Nanoparticles Using Chitosan and Arabic Gum with Ionic Gelation Method. *Nanomedicine*. 6: 58-63.
- Ayalign, A., K. Sabally. 2012. Determination of Chlorogenic Acid (CGA) in Coffee Beans Using HPLC. *American Journal of Research Communication*. 1(2): (78-91)
- Aziz, T., C. Ratih, dan F.Asima., 2009. Pengaruh Pelarut Heksana dan Etanol, Volume Pelarut dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi. *Jurnal Teknik Kimia*. 1 (16)
- Benzie, I, 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.
- Bhumker, D.R, dan V.B. Pokhaskar. 2006. Studies on Effect of pH on Cross-linking of Chitosan with Sodium Tripoliphosphate: A Technical Note, *AAPS PharmSciTech*. 7(2):E1-E6.
- Bowman, K, dan K.W. Leong. 2006. Chitosan Nanoparticles for Oral Drug and Gene Delivery, a Review. *International Journal Nanomedicine*. 1(2): 117-128.
- Buzea, C, dan R. Pacheco. 2007. Nanomaterial and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biophase*. 2(4): (17-71).
- Chabib, L., R. Viren., A. P Dimas., I. Zullies., M.Ronny., I. Hilda. 2012. Formulasi Snedds (Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System) Gamavuton ; Uji Aktivitas Penurunan Sitokinin TNF- α . *Prosiding Penelitian Seminar Nasional Seri 6*. 200-2009
- Coulter, B. 2008. Delsa Nano Series. Available at http://www.dafratec.com/pdf/catalogo_DelsaNano.pdf (13 Januari 2018).
- Couvreur, P., G. Barrat., E.Fattal., P. Legrand., C. Vauthie., 2002, Nanocapsule Technology: a Review. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 19: 99-134.
- Daglia, M., A. Pappeti., C. Gregotti., F. Berte., G. Gazzani. 2000. In Vitro Antioxidant and ex Vivo Protective Activities of Green and Roasted Coffee. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 8(5): (1449-1454).

- Departemen Kesehatan, Dirjen POM. 1995. Farmakope Indonesia (Edisi IV). Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dewantari, K. T., S. Yuliani, dan S. Yasni. 2013. Ekstraksi dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Sirih Merah (*Piper crocatum*). *Jurnal Pascapanen*.10(2): 58-65.
- De Oliveira, A. M. F., L. S Pinheiro., C. K Pereire., W. N Matias., R. A Gomes., O. S Chaves., M. de Souza., R.N Almeida., T.S Aziz,. 2012.. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Same Malvaceae Family Species. *Antioxidant*. 1: 33-43.
- Dias, R. C. E, dan M. T Benassi. 2015. Discrimination Between Arabica and Robusta Coffees Using Hydrosoluble Compounds : Its the Efficiency of the Parameters Dependt on the Roast Degree. *Journal Beverages*. 1: 127-139.
- Direktorat Jenderal Industri Agro dan Kimia. 2009. *Industri Pengolahan Kopi*. Jakarta: Departemen Perindustrian.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2017. *Statistik Perkebunan Indonesia 2015-2017*. Jakarta; Direktorat Jenderal Perkebunan
- Donsi, F., M. Sessa., H. Mediouni., A. gaidi, dan G. Ferrari. 2011. Encapsulation of Bioactive Compounds in Nanoemulsion Based Delivery System. *Procedia Food Science*. 1:1666-1671.
- Dutta, P. K., J. Dutta, dan V.S Tripathi. 2004, Chitin and Chitosan: Chemistry, Properties and Aplications. *Journal of Scientific & Industrial Research*. Vol 63 (20-31).
- El-Kamel A H., I.M Fagih, dan A.A Ibrahim. 2007. Testosterone Solid Lipid Nanoparticles for Transdermal Drug Delivery. Formulation and Physicochemical Characterization. *Journal of Microencapsulation*. 24(5): 457-75.
- Elzoghby, A.O., M. W. Helmy., W. M. Samy, dan N. A. Elgindy. 2013. Novel Ionically Crossinked Casein Nanoparticles for Flutamide Delivery: Formulation Characterization, and In Vivo Pharmacokinetics. *International Journal*.8: 1721-1732.
- Esquel, P, dan V.M. Jimenez. 2012. Funktional Properties of Coffee by Product. *Food Research International*. 46 : 488-495.
- Fang, Z, dan B. Bhandari. 2010. Encapsulation of Polyphenols-a review T. *Trends in Food Science and Technology*. 21 (10): 510-523.

- Farah, A., T. D. Paulus, D. P. Moreira., L. C. Trugo, dan P. R. Martin. 2006. Chlorogenic Acids and Lactones in Regular and Water Decaffeinated Arabica Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(2): 374-381.
- Farhaty, N. 2017. Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat Pada Biji Kopi. *Jurnal Farmaka*. 4(3): 1-19.
- Farmakologi UI.2012. Farmakologi dan Terapi. Jakarta: Gaya Baru.
- Halupi, R, dan E. Martini. 2013. *Pedoman Budi Daya dan Pemeliharaan Tanaman Kopi di Kebun Campur*. World Agroforestry Centre (ICRAF) Southeast Asia Regional Program: Bogor.
- Halliwell, B., J. M. Gutteridge, dan O. I. Arouma., 1987. The Deoxyribose Method: A Simple Test Tube Assay for The Determination of Rate Constants for Reactions of Hydroxyl Radicals. *Journal Anaalysisl. Biochemical*. 165, 215-219.
- Halvorsen, B. L., K. Holte., M. C. W. Myhrstad., I. Barikmo., E. Hvattum., S. F. Reberg., A. B. Wold., K. Haffner., H. Baugerod., L. F. Andersen., O. Moskaug., D. R. Jacobs., J. dan R. Blomhoff. 2002. A Systematic Screening of Total Antioxidant In Dietary Plants. *J. Nutrition*. 132 : 461- 471.
- Haskell, R. J. 2006. Physical Characterization of Nanoparticles, in : Nanoparticles Technology for Drug Delivery. New York : Taylor & Franncis Group.
- Henry, V.C., A. Ibarra., M. Roller., J. M Merllon, dan X. Vitrac. 2010. Contribution of Chlorogenic Acids to the Inhibition of Human Hepatic Glucose-6-Phospatase Activity in Vitro by Stevol, a Standardized Decaffeinated Green Cofee Extract. *Journal Agric Food Chem*. 58 (7): 4141-4144.
- Hidgon, J. V, dan Frei, B. 2006. Coffee and Health: a review of recent human research. *Critical Review in Food Science and Nutrition* . 46 : (101-123).
- Huang, S. C., G. Yen., L. Chang., W. Yen, dan P. Duh. 2005. Identification of an Antioxidant Ethyl Protocatechuate in Peanut Seed Testa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 2380-2383.
- Iswandana, R., E. Anwar, dan M. Jufri. 2013. Formulasi Nanopartikel Verapamil Hidroklorida dari Kitosan dan Natrium Tripolipospat dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 6(4).
- Iwayashi, H., T. Ishii., R. Suganta, dan R. Kido. 1990. The Effect of Caffeic Acid and Its Related Catecholas on Hydroxyl Radical Farmation by 3-

- Hydroxyanthranilic Acid, Ferric Chloride and Hydrogen Peroxide. *Archives Biochemistry and Biophysic*. 276 (1): (242-247).
- Jaiswal, R., M. A. Patras., P. J. Evaruchira., N. Kuhnert. 2010. Profile and Characterization of the Chlorogenic Acids in Green Robusta Coffee Beans by LC-MS : Identification of Seven New Classes of Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* . 58 (15): 8722-8737.
- Jonassen, H., A. Treves., A. L. Kjoniksen., G. Smistad., M. Hiorth. 2013. Preparation of Lonically Croos-Linked Pectin Nanoparticles in the Presence of Chlorides of Divalent and Monovalent Cations. *Biomacromolecules* 2013. (14) 3523-3531.
- Kafshgari, M. H., M. Khorram., M. Khodadoast, dan S. Khavari. 2011. Reinforcement of Chitosan nanoparticles Obtained by anionic Cross-linking Process. *Journal Polimer*. 20(5): 445-456.
- Kalisapathy, K. 2002. Mikroenkapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and Potential application. *curr.Issues Intest Microbiol*.13: 39-48.
- 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.
- Kementrian Pertanian. 2016. *Outlook Kopi Komoditas Pertanian Subsektor Perkebunan*. Jakarta: Sekretariat Jendral Kementrian Pertanian.
- Kim, Y.D dan C.V. Morr. 1996. Microencapsulation properties of gum arabics and several food proteins : spray dried orange oil emulsion particles. *Journal of Agriculture. And Food Chemistry*. 44 (5) : 1314-1320.
- Krasekoopt, W., B. Bhandari dan H. C. Death. 2003. Evaluation of Encapsulation Techniques of Probiotik Youghurt. *International Dairy Journal*.14 :737-743.
- Kumalaningsih, S. 2006. Antioksidan Alami: Penangkal Radikal Bebas, Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan. Surabaya: Trubus Agrisarana.
- Kumar, R. 2000. Reactive and functional polymer. *A review of chitin and chitosan application*. 46: 1-27.
- Kurniasih, M., H. N. Aprilita., I. Kartini. 2011. Sintesis dan Karakterisasi Crosslink Kitosan dengan Tripolifospat. *Molecul* 6 (1); 19-24.
- Laili, H. N., W. Lina, dan O. R. Lusia. 2014. Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan-Naringenin dengan Variasi Rasio Massa Kitosan-Natrium Tripolifosfat. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2(2).

- Laili., R. Matien., Adhyatmika, dan V. Farida. 2014. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Jurnal Farmaseutik*. 8(1): 133-144.
- Lee, J. H., J. H. Park., Y. S. Kim, dan Y. Han. 2008. Chlorogenic Acid, a Polyphenolic Compound, Treats Mice With Septic Arthritis Caused by *Candida Albicans*. *Journal of International Immunopharmacology*. 8: (1681-1685).
- Lingga, L. 2012. *Bebas Hipertensi Tanpa Obat*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Liu, H., C. Gao. 2009. Preparation and properties of ionically cross-linked chitosan nanoparticles. *Polymers for Advanced Technologies*. 20: 613-619
- Liu, S., J. Sun., L. Yu ., C. Zhang., J. Bi., F. Zhu., M. Qu., C. Jiang, C, dan Q. Yang. 2012. Extraction and characterization of chitin from the beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky. *Molecules*. 17 : 4604-4611.
- Lopez-Leon, T., E. L. Carvalho., B. Seijo., J. L. vinuesa., B. Gozailles. 2005. Physicochemical Characterization of Chitosan Nanoparticles. Electrokinetic and Stability Behavior. *Journal Colloid and Interface Sci*. 283(2): 344-351.
- Lovelyn C, dan A.A. Attama. 2011, Current State of Nanoemulsion in Drug Delivery. *Journal of Biomaterial and Nanobiotechnology*. 215: 626-639.
- Martien, R., A. Adhyatmika., V. Farida, dan D. P. Sari. 2012. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Majalah Farmasetik*. Vol. 8(1).
- Meng, Shengi., C. Jimmei., Q. Feng., J. Jinghua., Y. Hu. 2013. *Roles of Chlorogenic Acid on Regulating Glucose and Lipids Metabolism: A review*. <http://dx.doi.org>. [Diakses pada 13 Mei 2017].
- Mi, F.L., S.S. Shyu., S.T. Lee, dan T. B.Wong. 1999. Kinetic Study of Chitosan Tripolyphosphate Complex Reaction and Acid-Resistive Properties of The Chitosan-Tripolyphosphate Gel Beads Prepared by In-Liquid Curing Method. *Journal of Polymer Sci.*: 37.1551-1564.
- Mohanraj dan Y. Chen. 2006. Nanoparticles- A Review. *Trop Journal Pharm Res*. 5 :561-573.
- Mukharomah, U., S. H Susetyorini, dan S.Amina. 2010. Kadar Vitamin C, Mutu Fisik, pH dan Mutu Organoleptik Sirup Rosela (*Hibiscus Sabdariffa*, L) Berdasarkan cara Ekstraksi. *Jurnal Pangan dan Gizi* . 1(01).

- Mursu, J., S. Voutilainen., T. Nurmi., G. Alfthan., J. K. Virtanen., T. H. Rissanen., P. Happen., K. Nyyssonen., J. Kaikkonen., R. Salonen, dan J. T. Salonen. 2005. The Effect Consumption on Lipid Peroxidation and Plasma Homosyteic Concentration :a Clinical Trial: *Free Radical Biology and Medicine*.38: 527-534.
- Muzzarelli, R.A, dan M. G. Peter. 1997. *Chitosan Handbook*. European Chitin Society
- Naidu, M., G. Sulochanamma., S. R. Sampathu., dan P. Srinivis. 2008. Studie on Extraction and Antioxidant Potential of Green Coffee. *Article in Food Chemistry*.107 (1). 377-384.
- Nasrullah, N. 2013. Pengklasifikasian Propolis Lebah Madu (*Trigona Spp*) dari Tempat Wilayah di Indonesia dengan Menggunakan Pendekatan Metabolomik Berbasis FTIR. *Tesis*. Bogor. Sekolah pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Napsah, R, dan I. Wahyuningsih. 2014. Preparasi Nanopartikel Kitosan-TPP/ Ekstrak Etanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleriamacrococarpa* (Scheef) Boerl) Dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi dan Komunitas*. 11. (1). 7-12.
- Ong, K.W., H. Annie., H. T. Kwong. 2013. Anti Diabetic and Anti Lipidemic Effects of Chlorogenic Acid are Mediated by AMPK Activation. *Biochemical Pharmacology*. 85 :1341-1351.
- Panggabean, E. 2011. Buku Pintar Kopi. Jakarta Selatan: PT Agro Media Pustaka hlm 124-132.
- Paull, J., K. Lyons. 2008. *Nano in food threat or opportunity for organic food*. Italy: Organic World Congress.
- Pavia L. D., M. G. Lampman, S. G. Kriz, dan R. J. Vyvyan. 2009. *Introduction Spectroscopy*. Beligham, Wasington. Departement of Chemistry Wastern Wasington University.
- Prabaharan, M. 2008. Review Paper: Chitosan Derivaties as Promising Material for Controlled Drug Delivery : *Journal Biomater Appl*.23(1): 5-36.
- Prastowo. B., E. Karmawati., Rubijo., Siswanto., C. Indrawanto, dan S. J. Munarso. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan; Bogor.

- Prusty, A. K dan S. K. Sahu., 2009. Biodegradable Nanoparticles - A Novel Approach for Oral Administration of Biological Products. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology* .2 : 503–508.
- Rachmania, D., 2011, Karakteristik nano kitosan cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan metode gelasi ionik. *Skripsi*. Bogor .Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Rawat, M., D. Singh, dan S. Saraf. 2006. Nanocarries: Promising Vehicle for Bioactive Drugs. *Biol Pharm Bull*.29 (9):1790-1798.
- Rejo, A., S. Rahayu, dan T. Pangabean. 2009. Karakteristik Mutu Biji Kopi Pada Proses Dekafeinasi. *Skripsi*. Indaralaya : Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
- Ridwansyah. 2003. *Pengolahan Kopi*. Sumatera Utara. Digitized by USI digital Library.
- Ru J., Z. Huayue., L. Xiaodong, dan X. Ling . 2009. Visible Light Photocatalytic Decolourization of C. I. Acid Red 66 by Chitosan Capped CdS Composite Nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*. 152 :537–542.
- Sahoo S.K, dan V. Labhasetwar. 2006. Nanotech Approaches to Drug Delivery and Imaging. *Drug Discov*. 8 (24):1112–1120.
- Sahu, A.K., T. Kumar, dan V. Jain. 2014. Formulation Optimization of Erythromycin Solid Lipid Nanocarrier Using Response Surface Methodology. *BioMed Res. I*.
- Sanguansri, P, dan M. N. Augustin. 2006. Nanoscale Material Development- a Food Industry Perspective. *Trends in Food Science and Technology*. 17 (10): 574-556.
- Sato, Y., L. Shirou., K. Toshimitsu., O. Jiro., K. Masaki dan H. Takeshi. 2007. Metabolized in Human. *The Journal of Nutrition*: 137: 2198-2201.
- Saputra, M.A. 2015. Hubungan Kadar Pigmen dan Kadar Senyawa Fitokimia Daun Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dengan Aktivitas Antioksidan. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Sharma, R., M. Ahuja, dan H. Kaur. 2012. Thiolated Pectin Nanoparticles: Preparation, Characterization and Ex-vivo Cornel Permeation Study. *Carbohydrate Polymers*, Vol. 87(2): 1606-1610.

- Shu, X.Z, dan K. J. Zhu Controlled Drug Release Properties of Ionically Crosslinked Chitosan Beads: the Influence of Anion Structure: *International Journal Pharm.* 1 (2): 217-225.
- Silvia, H.D., M. A. Cerqueira, dan A. A.Vicente. 2012. Nanoemulsions for Food applications : Development and Characterization. *Food Bioproses technology.*5:854-867.
- Singh, B., S. Bandopadhyay., R. Kapil., R. Singh, dan O. Katare. 2009. Self Emulsifying Drug Delivery System (SEDDS) :Formulation development,characterization,and application. *Crit Rev Ther Drug Carrier.*26: 127-521.
- Singh, R, dan J. W. Liliard. 2009. Nanoparticle Based Target Drug Delivery. *Experimental and Molecular Pathology.*86 : 215-223.
- Song, X. Y. Zhao., W. B. Wu., Y. Bi., Z. Cai., Q. Chen, dan Y. H. Li. 2008 PLGA nanoparticles simultaneously loaded with vincristine sulfate and verapamil hydrochloride: Systematic study of particle size and drug entrapment efficiency. *International Journal of Pharmaceutics.* 350: 320-329.
- Soppimath, K.S., T. M. Aminabhavi., A. R. Kulkarni, dan W. E. Rudzinski. 2000. Biodegradable Polymeric Nanoparticles as Drug Delivery Devices.*Journal of Controlled Release.*20 : 1-20.
- Ru, J., Z. Huayue., L. Xiaodong dan X. Ling. 2009. Visible Light Photocatalytic Decolourization of C. I. Acid Red 66 by Chitosan Capped CdS Composite Nanoparticles. *Chemical Engineering Journal.* 152 :537–542.
- Suhartono, J., D. S. Pertiwi., A. Faslah dan Y. F. Saputra. 2005.Penentuan Koefisien Perpindahan Masa Pada Dekafeinasi Kopi Dengan Pelarut Methylene Chloride. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses.* Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Nasional.
- Sulistyo, J., R. Handayani, dan M. Hawab. 2002. Aktivitas Antioksidasi Polifenol Glikosida Hasil Reaksi Transglikosilasi Enzim CGTase Dari Bacillus Macerans. *BioSmart.* 4(2); 18-22.
- Sundar S., J. Kundu dan S. C. Kundu. 2010. Biopolymeric Nanoparticles. IOP Publishing- *Science and Technology of Advanced Materials* .11(1):1–13.
- Suptijah P., E. Salamah., H. Sumaryanto., S. Purwaningsih, dan J. Santoso. 1992. Pengaruh berbagai isolasi khitin kulit udang terhadap mutunya. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* 3(1):1-9.
- Swarbrick, J, dan J. Boylan. 2002. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology.*New York : Marcel Dekker.

- Taroreh, M., S. Raharjo., P. Hastuti, dan A. Murdianti. 2015. Ekstraksi Daun Gedi (*Abelmoschus Monihot L*) Secara Sekuensial dan Aktivitas Antioksidannya. *Agritech*. 35 (3); 280-287.
- Taurina, W., R. Martien, dan H. Ismail. 2013. Preparasi Nanopartikel Gamavuton-0 Menggunakan Kitosan Rantai Pendek dan Tripolifospat Sebagai Cross Linker. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 10. (2)
- Tiyaboonchai, W. 2003. Chitosan Nanoparticles a Promising System for Drug Delivery. *Nareusan University Journal*. 11(3): 51-56.
- Thassu, D., Y. Pathak, dan M. Deleers. 2007. Nanoparticulate Drug-Delivery Systems: an Overview. Di dalam: Thassu D, Pathak Y, Deleers M, editor. *Nanoparticulates Drug Delivery Systems*. New York: *Information healthcare*. Hlm. 1–31.
- 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.
- Vinson, J.A., B. R. Burnham, dan M. V Nagendran. 2012. Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled, Linear dose, Crossover Study to Evaluate the Efficiency and Safety of Green Coffee Bean Extract In Overweight Subject. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 5: 21-27.
- Wahyono, D. 2010. Ciri Nanopartikel Kitosan Dan Pengaruhnya Pada Ukuran Partikel Dan Efisiensi Penyalutan Ketoprofen. *Tesis*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Wanatabe, T., A. Yoichi., M. Yuki., K. Tatsuya., O. Wataru, dan K. Yasushi. 2006. The Blood Pressure and Safety of Chlorogenic Acid From Green Bean Extract in Essential Hypertension. *Clinical and Experimental Hypertention*. 28: 439-449.
- Wang, G.F., L. P Shi., Y. D. Ren., Q. F. Liu., H. F. Liu., R. J. Zhang., Z. Li., F. H. Zhu., P. L. He., W. Tan., P. Z. Tao, dan C. Li. 2009. Antihepatitis B Virus Activity of Chlorogenic Acid, Kuinat Acid and Cafeic Acid In Vivo and In Vitro. *Antiviral Research*. 83: 186-190.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.

- Wiranata, R. 2016. Pengaruh Tingkat Pengyangraian Terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Kopi Robusta (*Coffea Canephora L*).*Skripsi*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Wukisari, Tuti. 2006. Enkapsulasi Ibuprofen dengan Penyalut Alginat-Kitosan. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wu Yan., W. Yang., C. Wang., J. Hu, dan S. Fu. 2005. Chitosan Nanoparticles as a Novel Delivery System for Ammonium Glycyrrhizinate. *International Journal Of Pharmaceutical*. 295: 235-245.
- Xu Yongmei, dan Du Yumin. 2003. Effect of molecular Structur of Chitosan on Protein Delivery Properties of Chitosan Nanoparticle. *International Journal of Pharmaceutics*. 250.(215-226)
- Yamaguchi T., H. Takamura., T. Matoba, dan J. Tereo. 1998. HPLC method for evaluation of the free radical- *scavenging activity* of foods by using 1,1,-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci. Bioetanol. Biochem*. 62: 1201-1204.
- Yu Hi., S. Kiran., M. I. Kurt., H. J. Jyuhn., L. M. Wu, dan W. S. Hsing. 2008. Multi-Ion Crosslinked Nanoparticles with pH-Responsive Characteristics for Oral delivery of Protein Drug.*Journal of Controlled Release*. 132(2): 141-149.

LAMPIRAN A. Data Karakteristik Ekstrak Kopi Biji

1. Total Padatan Terlarut

Total Padatan Terlarut (Brix)				
Ulangan	Brix	Rerata	Stdev	RSD
1	5			
2	5	5	0	0
3	5			

2. Rendemen Ekstrak Kopi Biji Basis Kering

Ulangan	Rendemen (%)	Rata-rata	Stdev	RSD
1	8,886			
2	8,205	8,5455	0,48153972	5,635009

3. Rendemen Ekstrak Kopi Biji Basis Basah

Sampel	total bubuk kopi biji (gr)	volume ekstrak (mL)	rendemen basis basah (%)
bubuk kopi biji arabika	400	120	30

4. PH Ekstrak Kopi Biji

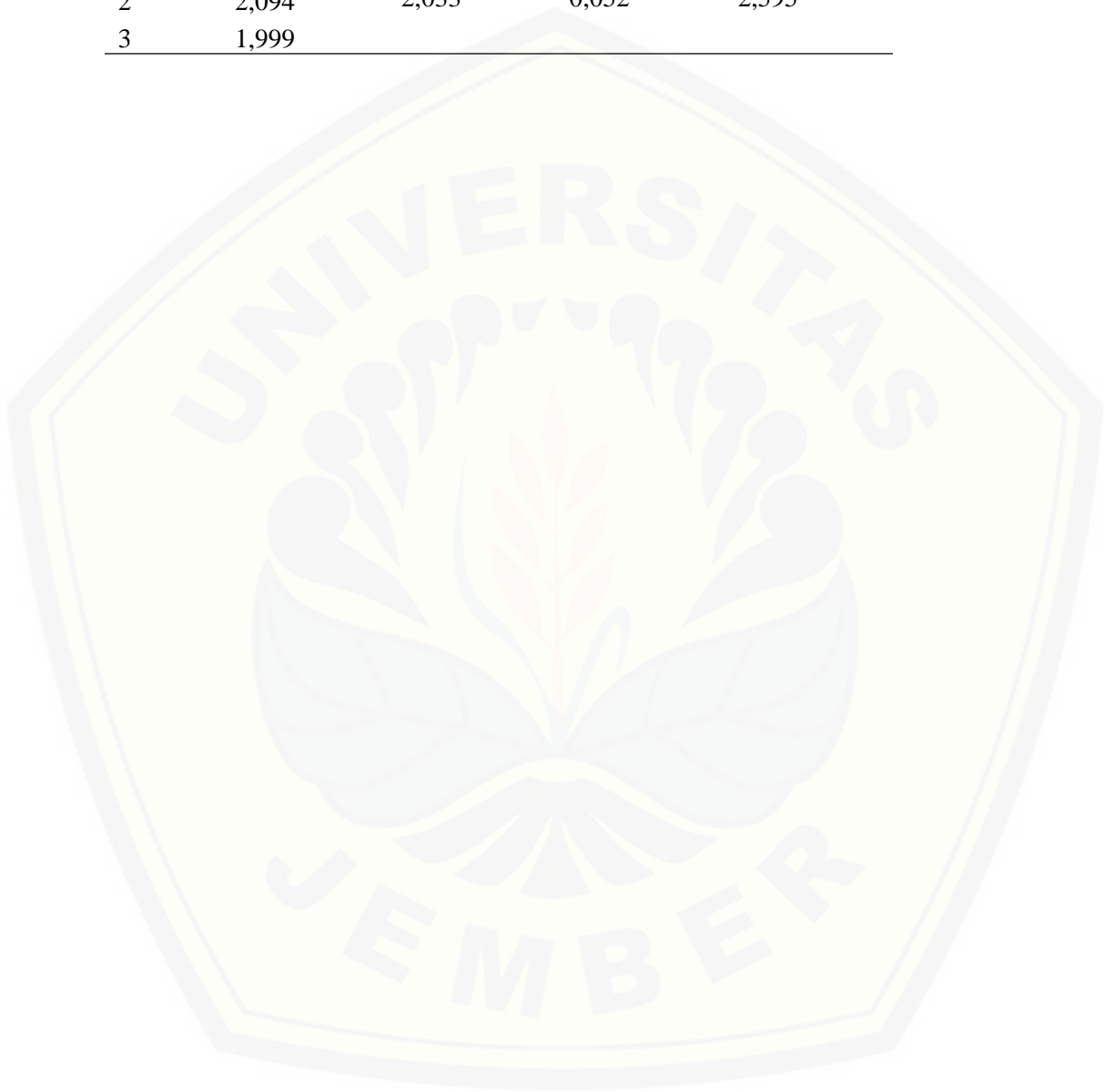
Nilai pH Green Bean				
Ulangan	pH	Rata-rata	Stdev	RSD
1	5.88			
2	5,76	5,73	0,04242641	0,740425949
3	5,7			

5. Kandungan Total polifenol Ekstrak Kopi Biji

Ulangan	mg GAE/ml	Rata-rata	Stdev	RSD
1	37,73584906			
2	32,67720551	34,812	2,619	7,525
3	34,02345742			

6. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kopi Biji

Ulangan	mmol TE/ml	Rata rata	STDEV	RSD
1	2,007			
2	2,094	2,033	0,052	2,595
3	1,999			



LAMPIRAN B. Data Karakteristik Nanopartikel Kopi Biji

1. Efisiensi Enkapsulasi

Kitosan	Ekstrak kopi biji (mL)	Ulangan	EE	Rata-rata	STDEV	RSD	
0,1%	0,1	1	17,328	13,361	5,609	41,984	
		3	9,395				
	0,2	1	13,005	10,601	3,400	32,074	
		2	8,197				
	0,3	2	10,709	10,564	0,204	1,937	
		3	10,420				
	0,4	1	10,619	10,562	0,080	0,760	
		3	10,505				
	0,5	2	8,568	8,620	0,0725	0,841	
		3	8,671				
	0,2%	0,1	1	6,472	9,186	3,838	41,783
			2	11,900			
0,2		2	7,104	8,962	2,627	29,319	
		3	10,820				
0,3		1	5,210	5,572	0,511	9,183	
		3	5,933				
0,4		2	3,918	5,224	1,847	35,355	
		3	6,530				
0,5		1	4,156	4,618	0,653	14,142	
		2	5,080				

2. Kandungan Total Polifenol

Kitosan	Ekstrak kopi biji(mL)	Ulangan	Rata-rata analisa	STDEV	RSD
0,1%	0,1	1	0,468	0,040	8,470
		2			
		3			
	0,2	1	0,921	0,052	5,629
		2			
		3			
	0,3	1	1,364	0,028	2,074
		2			
		3			
	0,4	1	1,698	0,042	2,474
		2			
		3			
	0,5	1	1,989	0,021	1,071
		2			
		3			
0,2%	0,1	1	0,478	0,040	8,366
		2			
		3			
	0,2	1	0,886	0,019	2,089
		2			
		3			
	0,3	1	1,486	0,051	3,432
		2			
		3			
	0,4	1	1,845	0,009	0,499
		2			
		3			
	0,5	1	1,963	0,050	2,555
		2			
		3			

3. Ukuran Partikel

Kitosan	Ekstak kopi biji (ml)	Ulangan sampel	Ukuran Partikel	Rerata	STDEV	RSD
0,1%	0,3	1	292,3	290,067	3,4443	1,187
		2	291,8			
		3	286,1			
	0,4	1	289,9	292,167	6,312	2,160
		2	299,3			
		3	287,3			
0,2%	0,3	1	374,9	355,633	17,906	5,035
		2	352,5			
		3	339,5			
	0,4	1	462,7	462,9	12,301	2,657
		2	475,3			
		3	450,7			

4. Distribusi Partikel

Kitosan	Sampel kopi (ml)	Ulangan sampel	Distribusi Partikel	Rerata	Stdev	RSD
0,10%	0,3	1	0,339	0,296	0,039	13,416
		2	0,26			
		3	0,291			
	0,4	1	0,29	0,285	0,004	1,580
		2	0,285			
		3	0,281			
0,20%	0,3	1	0,516	0,480	0,032	6,838
		2	0,475			
		3	0,451			
	0,4	1	0,511	0,509	0,496	4,893
		2	0,509			
		3	0,468			

5. Stabilitas Visual

Kitosan	ekstrak kopi green bean(mL)		Stabilitas Visual
		ULANGAN	
0,1	0,1	1	opaque (+)
		2	opaque (+)
		3	opaque(+)
	0,2	1	opaque (++)
		2	opaque (++)
		3	opaque (++)
	0,3	1	opaque (+++)
		2	opaque (+++)
		3	opaque (+++)
	0,4	1	opaque (++++)
		2	opaque (++++)
		3	opaque (++++)
	0,5	1	opaque (+++++)
		2	opaque (+++++)
		3	opaque(+++++)
0,2	0,1	1	opaque (+)
		2	opaque (+)
		3	opaque(+)
	0,2	1	opaque (++)
		2	opaque (++)
		3	opaque (++)
	0,3	1	opaque (+++)
		2	opaque (+++)
		3	opaque (+++)
	0,4	1	opaque (++++)
		2	opaque (++++)
		3	Opaque (++++)
	0,5	1	opaque (+++++)
		2	opaque (+++++)
		3	opaque(+++++)

LAMPIRAN C. Data Karakteristik Nanopartikel Kopi Biji

1. Efisiensi Enkapsulasi

Kitosan	ml kopi	ulangan	EE	Rata rata	STDEV	RSD
0,1%	0,4	1	10,54395	10,17395	1,695319	16,66333
		2	8,324192			
		3	11,65372			

2. pH Nanopartikel

Ulangan	pH	Rata-rata	STDEV	RDS
1	5,2	5,2		

3. Kandungan Total Polifenol

kitosan	kopi (mL)	ulangan	Rata –rata	STDV	RSD
0,1%	0,4	1	1,771	0,017	0,992
		2			
		3			

4. Aktivitas Antioksidan DPPH

Konsentrasi Kitosan	ekstrak kopi (mL)	Ulangan	Rata rata	STDEV	RSD
0,1%	0,4 mL	1	0,392	0,005	1,448
		2			
		3			

5. Aktivitas Antioksidan FRAP

konsentrasi kitosan	ekstrak kopi (mL)	Ulangan	Rata rata	STDEV	RSD
0,1%	0,4 mL	1	0,147	0,002	1,654
		2			
		3			

6. Aktivitas Antioksidan Radikal OH

Kitosan	Ekstrak Kopi biji (mL)	Ulangan	Rata rata	STDEV	RSD
0,1%	0,4 mL	1	0,138	0,00294	2,1337
		2			
		3			

