



**KARAKTERISASI SIFAT FISIK DAN KIMIA NANOKITOSAN TERISI  
EKSTRAK KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DENGAN METODE  
GELASI IONIK**

**SKRIPSI**

oleh

**HUJJAH**

**NIM 141710101095**

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**

**2018**



**KARAKTERISASI SIFAT FISIK DAN KIMIA NANOKITOSAN TERISI  
EKSTRAK KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DENGAN METODE  
GELASI IONIK**

**SKRIPSI**

*diajukan guna memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan program sarjana  
di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian  
Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember*

**oleh**

**HUJAH**

**NIM 141710101095**

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

**2018**

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT sebagai tanda syukur atas limpahan rahmatNya yang telah memberikan kesempurnaan akal, petunjuk, serta kemudahan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik;
2. Ibu dan Bapak, Kakak serta sanak saudara tercinta atas semangat dan do'anya yang tidak pernah putus;
3. Bangsa dan negara tempat ku berpijak dan mengabdikan diri;
4. Para pemuda yang punya cita-cita besar sebagai manusia berpendidikan yang berharap dapat memajukan bangsa ini;
5. Guru-guruku sedari TK Bayangkari, SDN Pejagan 6, SMPN 1 Bangkalan, SMAN 1 Bangkalan, Madura yang telah mendidiku dengan sabar;
6. Dosen-dosen yang telah meluangkan waktu untuk membagi ilmu dan membimbingku dengan penuh kesabaran;
7. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
8. Teman-teman THP B 2014 dan seluruh kawan seperjuanganku di Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

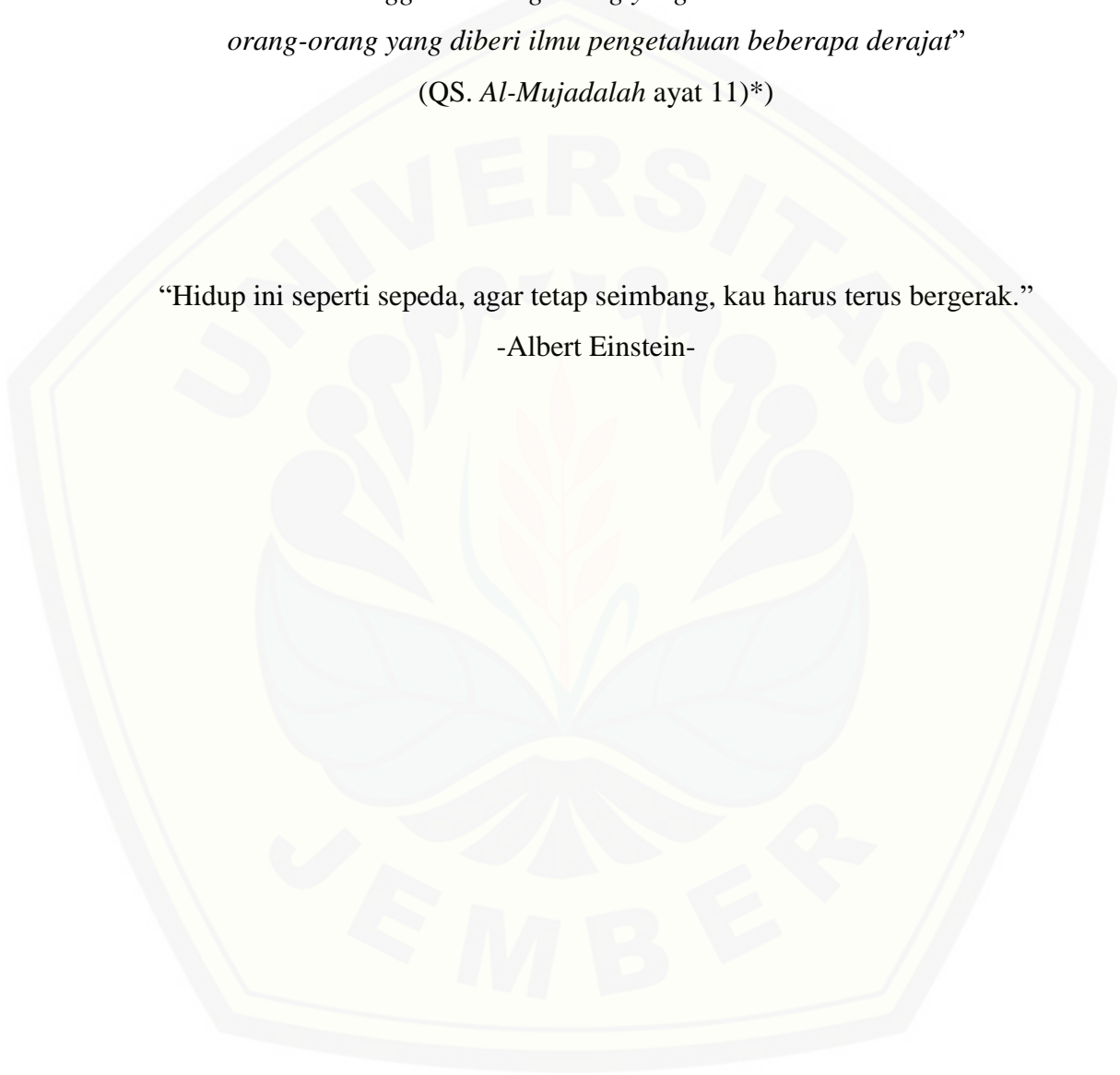
**MOTO**

*“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”*

*(QS. Al-Mujadalah ayat 11)\**

*“Hidup ini seperti sepeda, agar tetap seimbang, kau harus terus bergerak.”*

*-Albert Einstein-*



**HALAMAN PERNYATAAN**

Saya Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Hujjah

NIM : 141710101095

Judul : **Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan Metode Gelasi Ionik**

menyatakan dengan sesungguhnya karya ilmiah tersebut adalah benar-benar hasil karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya, tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan orang lain pada institusi manapun, kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim. 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, 23 Juli 2018

Yang menyatakan

Hujjah

NIM 141710101095

**SKRIPSI**

**KARAKTERISASI SIFAT FISIK DAN KIMIA NANOKITOSAN TERISI  
EKSTRAK KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DENGAN METODE  
GELASI IONIK**

oleh  
Hujjah  
NIM 141710101095

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Puspita Sari, S.TP., M.Ph.

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Maryanto, M.Eng

**HALAMAN PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan Metode Gelasi Ionik” karya Hujjah, NIM 141710101095 telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal : Senin, 23 Juli 2018

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

**Dr. Puspita Sari, S.TP., M.PH**

NIP. 197203011998022001

**Dr. Ir. Maryanto, M.Eng**

NIP. 195410101983031004

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota,

**Dr. Triana Lindriati, S.T, M.P**

NIP. 196808141998032001

**Dr. Nurhayati, S.TP, M.P**

NIP. 197904102003122004

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember

**Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP, M.Eng**

NIP. 196809031994031009

## RINGKASAN

**Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan Metode Gelasi Ionik;** Hujjah, 141710101095; 2018: 71 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Indonesia merupakan negara penghasil kopi terbesar ketiga di dunia. Kopi jenis robusta mengandung asam klorogenat yang lebih tinggi dibandingkan dengan kopi jenis arabika. Asam klorogenat yang tergolong ke dalam senyawa polifenol dikenal sebagai sumber antioksidan, namun zat aktif dalam kopi robusta berupa polifenol bersifat tidak stabil sehingga menurunkan sifat bioavailabilitas di dalam tubuh. Permasalahan tersebut dapat diatasi dengan penggunaan teknologi nanoenkapsulasi. Gelasi ionik merupakan salah satu metode yang digunakan dalam sintesis nanopartikel. Prinsip metode gelasi ionik ini yaitu terjadinya sambung silang antara kitosan yang bersifat kationik akan membentuk ikatan silang dengan anionik yang terdapat pada tripolifosfat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik fisik dan kimia larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta dalam berbagai variasi konsentrasi kitosan dan ekstrak kopi robusta yang ditambahkan.

Penelitian ini dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi kitosan (0,1 dan 0,2%) dan variasi volume ekstrak kopi robusta (0,1; 0,2; 0,3; dan 0,4mL). Sintesis nanopartikel dilakukan dengan metode gelasi ionik menggunakan STTP 0,1%. Penelitian dilaksanakan dalam empat tahapan yaitu 1) ekstraksi bubuk kopi robusta sangrai, 2) pengujian karakteristik ekstrak kopi robusta meliputi pH, derajat brix, rendemen, dan total polifenol 3) sintesis nanopartikel 4) pengujian fisik dan kimia larutan nanopartikel kopi robusta meliputi uji visual, ukuran partikel, distribusi partikel, morfologi, pH, melanoidin, efektifitas enkapsulasi, total polifenol dan aktivitas antioksidan (DPPH, FRAP, dan OH Radikal).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi robusta dalam preparasi larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta dapat meningkatkan total polifenol, nilai melanoidin, ukuran partikel, namun dapat menurunkan efisiensi enkapsulasi (EE). Formulasi optimum dalam sintesis nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta yaitu kitosan 0,1% dengan penambahan ekstrak kopi robusta sebanyak 0,3mL. Nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta pada formulasi optimum memiliki warna yang mendekati minuman kopi pada umumnya, pH 5,34, ukuran dalam rentang skala nano dan dispersi ukuran yang relatif homogen, serta morfologi partikel yang sferis. Efisiensi enkapsulasi dari larutan optimum sebesar 37,51%, memiliki aktivitas antioksidan  $0,0887 \pm 0,0008$  mmol TE/mL (DPPH),  $0,119 \pm 0,002$  mmol TE/mL (FRAP), dan  $0,0335 \pm 0,0009$  mmol TE/mL (OH Radikal). Namun larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta memiliki kestabilan yang rendah dan mudah membentuk agregat.



## SUMMARY

**Characterization of Physical and Chemical Properties of Nanochitosan Filled by Robusta Coffee-Extract (*Coffea canephora*) using Ionic Gelation Method;** Hujjah, 141710101095; 2018: 71 pages; Department of Agricultural Technology Agricultural Technology Faculty University of Jember.

Indonesia is the third biggest coffee-producing countries in the world. Coffee robusta type of acidic klorogenat higher than with coffee Arabica type. Klorogenat acid which pertained to compounds known as polyphenols antioxidant source, however the active substances in the robusta coffee in the form of polyphenols are unstable so that it lowers the nature bioavailabilitas in the body. These problems can be overcome by the use of nanoenkapsulasi technology. Gelasi Ionic is one of the methods used in the synthesis of nanoparticles. The principle method of ionic gelasi is the occurrence of cross-connect between Chitosan cationic nature will form a cross-bonding with the anionic tripolifosfat. The purpose of this research is to know the physical and chemical characteristics of the nanokitosan solution filled robusta coffee extracts in various concentrations Chitosan and extracts of robusta coffee is added.

This research was conducted by varying the concentration of Chitosan (0.1 and 0.2%) and volume variations of robusta coffee extract (0.1; 0.2; 0.3; and 0, 4mL). The synthesis of nanoparticles is conducted by the method of ionic gelasi using STTP 0.1%. The research was carried out in four stages, namely 1) extraction of powdered roasted robusta coffee, 2) testing the characteristics of robusta coffee extracts include pH, degrees brix, yield, and total polyphenols 3) synthesis of nanoparticles 4) physical and chemical testing solution Nanoparticle robusta coffee includes a visual test, particle size, particle distribution, morphology, pH, melanoidin, effectiveness of encapsulation, the total polyphenol and antioxidant activity (DPPH, FRAP, and OH Radical).

The results showed that the increase in the concentration of Chitosan and the addition of extracts of robusta coffee in preparation of aqueous extract of robusta coffee-filled nanokitosan can increase the total polyphenols, melanoidin, particle size, but can be lowers the efficiency of encapsulation (EE). The optimum formulation for the synthesis of nanokitosan robusta coffee extract that is loaded Chitosan 0.1% with the addition of robusta coffee extracts as much as 0, 3mL. Nanokitosan robusta coffee extracts filled in the optimum formulation has the color of approaching coffee drinks in General, 5.34, pH measurement in the range of nano-scale size and dispersion is relatively homogeneous, as well as the morphology of the particles sferis. Optimum solution of encapsulation efficiency of 37.51%, have antioxidant activity  $0.0887 + 0.0008$  TE mmol/mL (DPPH),  $0.119 + 0.002$  TE mmol/mL (FRAP), and TE +  $0.0009$   $0.0335$  mmol/mL (OH Radical). But the solution of nanokitosan filled the extract robusta coffee has a low stability and easy to form aggregates.

## PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya yang telah memberikan hikmah, kekuatan, kemudahan, kesempatan, kesabaran keikhlasan dan segala macam kenikmatan tak terkira kepada penulis dalam mengerjakan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan Metode Gelasi Ionik”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari adanya kerjasama, motivasi, dan bantuan dari berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung. Segenap kerendahan hati pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak berikut:

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 sekaligus dosen pembimbing akademi dan Dr. Ir. Maryanto, M.Eng selaku dosen pembimbing anggota yang telah banyak meluangkan waktu, pikiran, perhatian untuk memberikan bimbingan yang tulus, petunjuk, serta motivasi dengan penuh kesabaran
4. Dr.Triana Lindriati, S.T., M.P selaku dosen penguji utama dan Dr. Nurhayati, S.Tp, M.P selaku dosen penguji anggota atas kecermatan dan ketelitian sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan lebih sempurna
5. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Balitbangtan) yang mendani penelitian ini melalui program Penelitian Kerja sama Penelitian, Pengkajian, dan Pengembangan Pertanian Strategis (KP4S)

6. Bapak Mistar, Mbak Sari, Mbak Ketut, dan Mbak Wim yang telah memberikan petunjuk penggunaan alat selama penelitian sehingga proses penelitian berjalan lebih lancar
7. Ibu, Bapak, dan keluarga terhebat yang tak pernah lelah mendoakan, memberikan motivasi serta dukungannya baik materil maupun moril, tanpa kalian mungkin skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik di waktu yang tepat;
8. Teman-teman seperjuangan proyek penelitian nanopartikel Maisaroh, Fita, Wulan dan Yanuar yang telah berbagi suka dan duka yang bermakna selama penelitian berlangsung hingga skripsi dapat diselesaikan dengan baik;
9. Keluarga Apartemen B (Dewi, Wulan, Urba, Tari dan anak bawang Indah) yang telah berbagi dan bersama-sama melewati suka & duka tak terlupa dalam “rumah” dan kampus;
10. Keluarga THPB 2K14 yang saling berbagi pengalaman serta memberikan motivasi untuk tetap bersemangat dalam suasana suka duka yang indah;
11. Kelompok “PASTEURISASI” yang telah berbagi kebersamaan selama 4 tahun dan tak lepas saling memberikan motivasi hingga usai;
12. Seluruh pejuang gelar S.TP angkatan 2014 yang tetap semangat berjuang bersama-sama;
13. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu yang turut memberikan dukungan dan membantu dalam pelaksanaan penelitian skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

Besar harapan penulis agar skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak dalam mengembangkan ilmu pengetahuan. Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dan bermanfaat guna kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini membawa manfaat dan menambah pengetahuan bagi pembaca.

Jember, 23 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>viii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Perumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Kopi .....</b>	<b>4</b>
2.1.1 Produktivitas Kopi di Indonesia .....	4
2.1.2 Biji Kopi .....	4
2.1.3 Kandungan Biji Kopi .....	6
<b>2.2 Nanopartikel .....</b>	<b>9</b>
2.2.1 Definisi Nanopartikel .....	9
2.2.2 Metode Pembuatan Nanopartikel .....	11
2.2.3 Karakteristik Nanopartikel .....	12
<b>2.3 Metode Gelasi Ionik .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4 Kitosan .....</b>	<b>16</b>
<b>2.5 Antioksidan .....</b>	<b>19</b>
2.5.1 Definisi Antioksidan .....	19
2.5.2 Antioksidan pada Kopi .....	20
2.5.3 Aktivitas Antioksidan Polifenol .....	22
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>24</b>
3.2.1 Alat Penelitian .....	24
3.2.2 Bahan Penelitian .....	24
<b>3.3 Pelaksanaan Penelitian.....</b>	<b>24</b>
3.3.1 Rancangan Penelitian.....	24
3.3.2 Ekstraksi Kopi Robusta .....	25

3.3.3 Sintesis Nanopartikel .....	25
3.3.4 Parameter Pengamatan .....	26
3.3.5 Prosedur Analisa .....	27
<b>3.4 Analisis Data.....</b>	<b>31</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>32</b>
<b>4.1 Karakteristik Ekstrak Kopi Robusta .....</b>	<b>32</b>
<b>4.2 Karakterisasi Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta pada berbagai Formulasi .....</b>	<b>34</b>
4.2.1 Efisiensi Enkapsulasi Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta .....	35
4.2.2 Total Polifenol Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta .....	38
4.2.3 Melanoidin Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta .....	40
4.2.4 Kenampakan Visual Polifenol Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta .....	42
4.2.5 Ukuran dan Distribusi Patikel Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta .....	44
<b>4.3 Karakterisasi Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta Formulasi Terpilih .....</b>	<b>45</b>
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>53</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>53</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>53</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>65</b>

**DAFTAR TABEL**

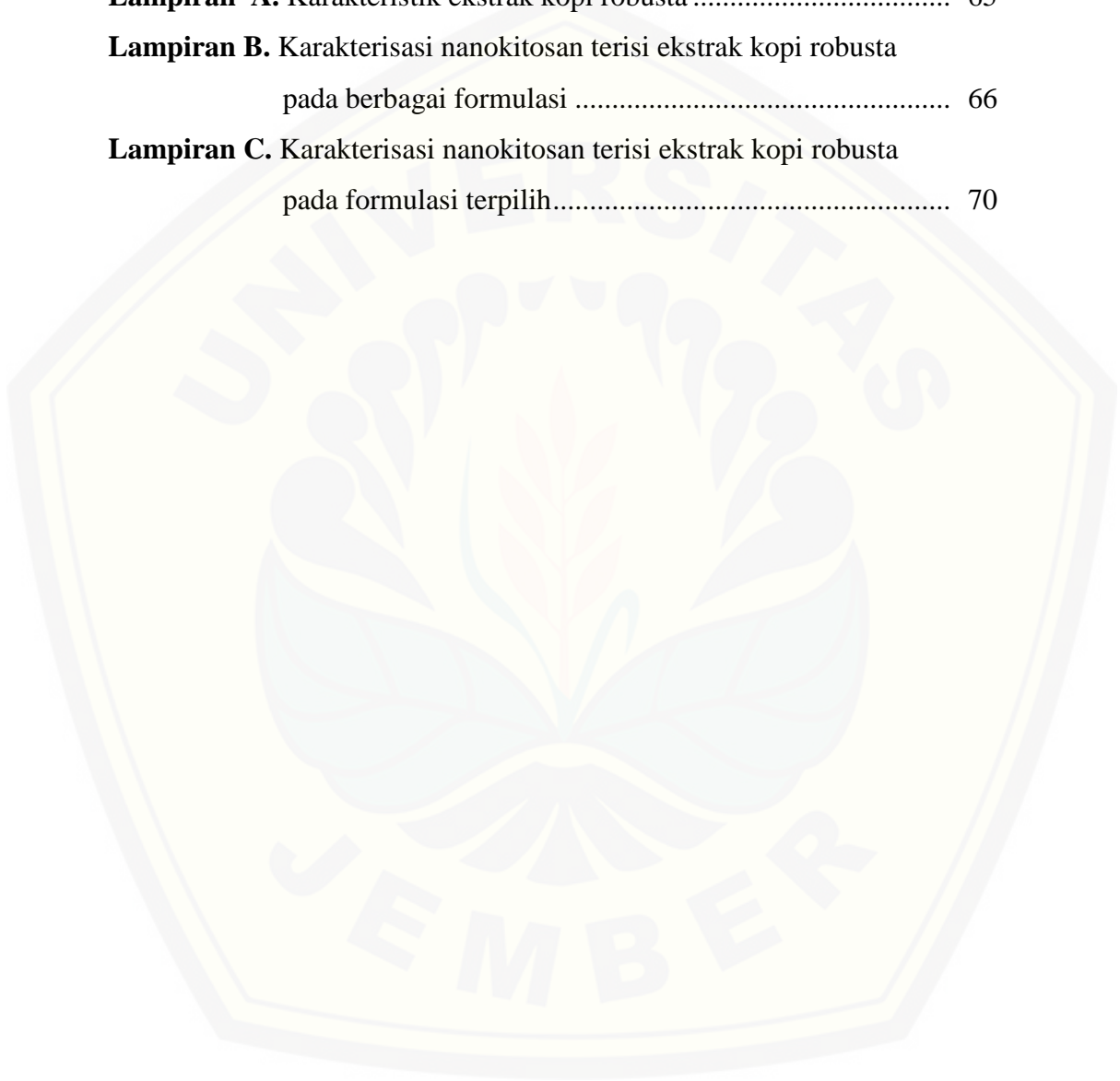
	<b>Halaman</b>
<b>Tabel 2.1</b> Kandungan kimia yang terdapat pada biji kopi arabika dan robusta .....	7
<b>Tabel 4.1</b> Karakteristik ekstrak kopi robusta .....	33
<b>Tabel 4.2</b> Karakterisasi nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta pada berbagai formulasi .....	35
<b>Tabel 4.3</b> Ukuran dan distribusi partikel nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta .....	44
<b>Tabel 4.4</b> Karakteristik fisik dan kimia sampel formulasi terpilih .....	46
<b>Tabel 4.5</b> Bilangan gelombang kitosan murni, STTP, ekstrak kopi robusta dan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta .....	49

**DAFTAR GAMBAR**

	<b>Halaman</b>
<b>Gambar 2.1</b> Penampang melintang buah kopi.....	5
<b>Gambar 2.2</b> Ilustrasi penyerapan senyawa bioaktif pada sistem nanopartikel .....	9
<b>Gambar 2.3</b> Proses gelasi ionik antara kitosan dan TPP .....	15
<b>Gambar 2.4</b> Interaksi ionik antara kitosan dan TPP .....	15
<b>Gambar 2.5</b> Struktur kitosan .....	17
<b>Gambar 2.6</b> Struktur senyawa asam klorogenat .....	20
<b>Gambar 2.7</b> Struktur hidropiridone dan piranone dari melanoidin sebagai sekuestran logam Fe.....	22
<b>Gambar 2.8</b> Mekanisme pemutusan rantai radikal bebas .....	23
<b>Gambar 3.1</b> Diagram proses ekstraksi kopi robusta .....	25
<b>Gambar 3.2</b> Diagram pembuatan larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta .....	26
<b>Gambar 4.1</b> Ekstrak kopi robusta .....	32
<b>Gambar 4.2</b> Kenampakan senyawa yang terikat pada nanopartikel....	40
<b>Gambar 4.3</b> Penampakan larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta pada formulasi terpilih .....	45
<b>Gambar 4.4</b> Analisis spektrum inframerah nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta formulasi terpilih .....	48
<b>Gambar 4.5</b> Morfologi partikel nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta formulasi terpilih .....	49
<b>Gambar 4.6</b> Aktivitas antioksidan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta formulasi terpilih.....	51

**DAFTAR LAMPIRAN**

	<b>Halaman</b>
<b>Lampiran A.</b> Karakteristik ekstrak kopi robusta .....	65
<b>Lampiran B.</b> Karakterisasi nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta pada berbagai formulasi .....	66
<b>Lampiran C.</b> Karakterisasi nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta pada formulasi terpilih.....	70





## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara penghasil kopi terbesar ketiga di dunia. Dua jenis kopi yang dibudidayakan di Indonesia yaitu kopi arabika dan robusta. Menurut data Statistik Perkebunan Indonesia (2017), Ditjen Perkebunan mencatat total produksi kopi robusta (*Coffea canephora*) pada tahun 2017 lebih tinggi jika dibandingkan kopi jenis arabika dengan angka produksi mencapai 463.775 ton, sedangkan kopi arabika hanya mencapai 173.765 ton. Produktivitas yang tinggi menjadikan potensi yang cukup besar untuk pengembangan produk turunan dari kopi jenis robusta. Keunggulan lain dari kopi jenis robusta ini yaitu kandungan asam klorogenat yang lebih tinggi dibandingkan dengan kopi jenis arabika (Farah, 2012).

Kopi mengandung berbagai komponen kimia di dalamnya seperti kafein, asam klorogenat, trigonelin, karbohidrat, lemak, asam amino, asam organik, aroma volatil dan mineral yang dapat menghasilkan efek menguntungkan dan membahayakan bagi kesehatan penikmat kopi (Hidgon dan Frei, 2006). Kandungan asam klorogenat dalam kopi mempunyai sifat fungsional sehat bagi tubuh, salah satunya berfungsi sebagai sumber antioksidan (Farhaty, 2017). Senyawa yang memiliki sifat antioksidan dapat mencegah berbagai macam penyakit yang berhubungan dengan stress oksidatif seperti kanker, kardiovaskular, penuaan dan penyakit neudegeneratif (Belay *et al.*, 2009). Menurut Ramalakshmi dan Raghavan (2000) kandungan antioksidan dalam kopi lebih banyak dibandingkan antioksidan pada teh dan coklat. Berdasarkan pernyataan tersebut diharapkan produk turunan kopi dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan yang baik saat dikonsumsi.

Menurut Sulistyoyo *et al.* (2000) senyawa fenol mempunyai sifat yang tidak stabil. Asam klorogenat dalam kopi yang termasuk kedalam golongan senyawa fenol yang tidak stabil sehingga menyebabkan menurunnya sifat bioavailabilitas. Alternatif solusi dari masalah tersebut yaitu penggunaan teknologi

nanoenkapsulasi. Menurut Kailaku *et al.* (2013) penerapan teknologi nanoenkapsulasi dapat meningkatkan kestabilan senyawa bioaktif, sehingga dapat menghasilkan kelarutan dan bioavailabilitas yang baik. Keunggulan lain dari sistem nanopartikel yaitu sebagai pembawa dan pengantar yang lebih cepat dan lebih akurat dalam mencapai target (Mohanraj dan Chen, 2006).

Beberapa metode yang digunakan dalam pembuatan nanopartikel antara lain dispersi polimer, polimerisasi monomer, dan gelasi ionik. Metode gelasi ionik merupakan salah satu metode pembuatan nanopartikel yang paling sederhana dan biayanya yang relatif murah. Prinsip metode gelasi ionik yaitu penyambung silang polielektrolit dengan proses kompleksasi antara polielektrolit yang bermuatan sehingga terbentuk membran kompleks polielektrolit pada permukaan yang meningkatkan kekakuan (Irianto, 2011).

Kitosan merupakan bahan biopolimer yang sering digunakan dalam pembentukan nanopartikel, karena kitosan memiliki sifat non toksik yang diharapkan dapat melindungi sifat fungsional dari senyawa bioaktif. Kitosan juga memiliki kemampuan dalam mengontrol pengeluaran zat aktif, tidak perlu menggunakan pelarut organik karena kitosan larut dalam asam (Dhudani and Kosaraju, 2010). Tripolifosfat berfungsi dalam membentuk sambung silang ionik antara molekul dengan kitosan sehingga dapat digunakan sebagai bahan penguat (Mi *et al.*, 1999). Keberhasilan dari pembuatan nanopartikel sangat dipengaruhi oleh komposisi kitosan dan TPP sebagai parameter kunci dalam mengendalikan sifat dan struktur sistem nanopartikel.

Penelitian mengenai sintesis nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik telah dilakukan diantaranya penelitian yang dilakukan Stoica *et al.* (2013) tentang preparasi nanopartikel polifenol dari *Rosa canina* menggunakan metode gelasi ionik dengan bahan kitosan-tripolifosfat. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Alishahi, (2011) yaitu sintesis nanopartikel vitamin C dengan bahan sintesis berupa kitosan dan sodium tripolifosfat. Penelitian mengenai nanopartikel polifenol dari ekstrak kopi robusta sangrai belum dilaporkan sebelumnya, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui karakteristik fisik dan

kimia larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta dalam berbagai variasi konsentrasi kitosan dan ekstrak kopi robusta yang ditambahkan.

## 1.2 Perumusan Masalah

Kopi mengandung senyawa asam klorogenat yang bertindak sebagai antioksidan, namun senyawa bioaktif terutama senyawa polifenol pada kopi bersifat tidak stabil sehingga menurunkan sifat bioavailabilitas didalam tubuh. Alternatif solusi dari masalah tersebut yaitu penggunaan teknologi nanoenkapsulasi. Metode yang paling sederhana dengan biaya yang relatif murah dalam pembuatan nanopartikel yaitu metode gelasi ionik. Prinsip metode gelasi ionik yaitu terjadinya sambung silang antara kitosan yang bersifat kationik akan membentuk ikatan silang dengan anionik yang terdapat pada tripolifosfat. Keberhasilan dari pembuatan nanopartikel sangat dipengaruhi oleh komposisi kitosan, TPP, dan senyawa bioaktif sebagai parameter kunci dalam mengendalikan sifat dan struktur sistem nanopartikel. Penelitian pembuatan larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai belum pernah dilaporkan, sehingga perlu dilakukan penelitian pembuatan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta dengan variasi konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi robusta sangrai untuk mengetahui karakteristik fisik dan kimia.

## 1.3 Tujuan Penelitian

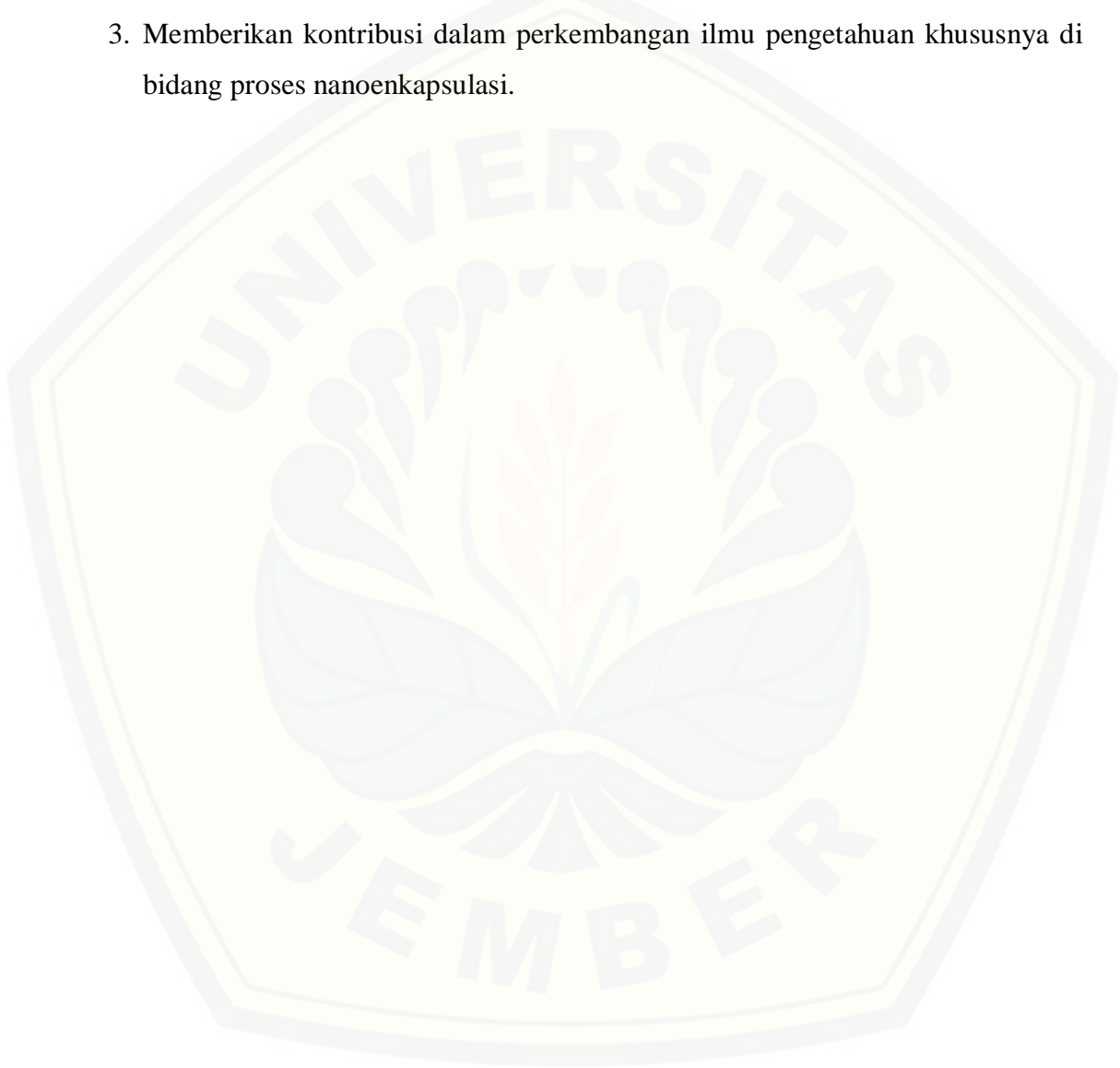
Tujuan penelitian yaitu:

1. Mengetahui karakteristik fisik dan kimia larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai yang dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi kitosan dan ekstrak kopi robusta.
2. Mengetahui karakteristik fisik dan kimia nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai pada formulasi terpilih.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian sebagai berikut:

1. Sebagai alternatif diversifikasi produk kopi
2. Menyediakan minuman nanopartikel berbahan dasar kopi yang mempunyai sifat fungsional kesehatan sebagai antioksidan bagi tubuh.
3. Memberikan kontribusi dalam perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang proses nanoenkapsulasi.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kopi

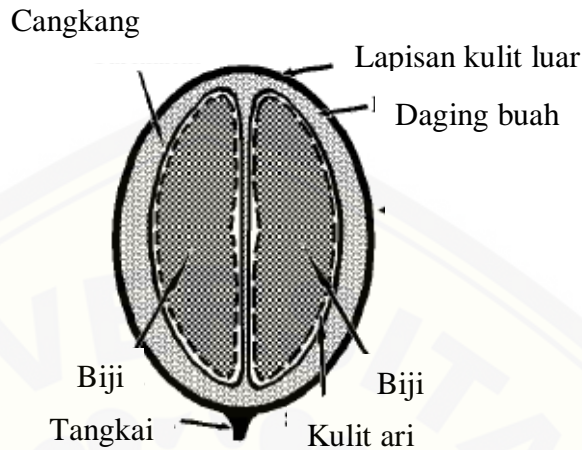
#### 2.1.1 Produktivitas Kopi di Indonesia

Kopi merupakan salah satu jenis tanaman perkebunan yang dibudidayakan di Indonesia dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Menurut Farhaty (2017), kopi menempati urutan kedua dari semua komoditas pangan yang dikonsumsi dan diperdagangkan diseluruh dunia. Dua spesies kopi yang sering dibudidayakan dan memberikan nilai ekonomis yaitu *Coffea arabica* yang dikenal sebagai kopi arabika dan *Coffea canephora* atau kopi robusta. Kopi jenis arabika lebih banyak dikonsumsi jika dibandingkan dengan kopi jenis robusta di pasar dunia. Konsumsi kopi arabika mencapai 70% dan untuk kopi jenis robusta hanya berkisar 26% (Rahardjo, 2012). Berbanding terbalik dengan produksi kopi di Indonesia, kopi jenis robusta lebih banyak diproduksi jika dibandingkan dengan kopi jenis arabika. Menurut data Statistik Perkebunan Indonesia (2017), Ditjen Perkebunan mencatat total produksi kopi robusta pada tahun 2017 lebih tinggi jika dibandingkan kopi jenis arabika dengan angka produksi mencapai 463.775 ton, sedangkan kopi arabika hanya mencapai 173.765 ton. Produktivitas kopi yang tinggi dapat dijadikan sumber bahan baku untuk pembuatan berbagai produk turunan kopi.

#### 2.1.2 Biji Kopi

Buah kopi matang mempunyai warna kulit yang merah sedangkan buah kopi yang masih muda kulit buah berwarna hijau. Buah kopi terdiri atas daging buah dan biji. Daging buah terdiri dari 3 bagian yaitu lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging (mesokarp) dan lapisan kulit tanduk (endokarp) yang tipis tetapi keras. Biji kopi terdiri atas kulit biji dan endosperm. Endosperm merupakan bagian yang bisa dimanfaatkan sebagai bahan untuk pembuatan kopi (Najiyati *et al.*, 2001). Daging buah kopi yang sudah matang memiliki lendir dan senyawa gula yang rasanya manis. Kulit tanduk buah kopi memiliki struktur agak keras dan membungkus sepasang biji kopi bagian dalam dari buah kopi adalah biji kopi.

Struktur biji kopi yaitu : (1) Kulit air; (2) lembaga; (3) celah atau *center cut* (Panggabean, 2011). Ilustrasi penampang melintang buah kopi disajikan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Penampang melintang buah kopi

Menurut Panggabean (2011), pada pengolahan biji kopi proses penyangraian sangat menentukan warna dan cita rasa produk kopi yang akan dihasilkan. Tahap awal penyangraian adalah membuang uap air pada suhu penyangraian  $100^{\circ}\text{C}$  dan berikutnya tahap pirolisis pada suhu  $180^{\circ}\text{C}$ . Pada tahap pirolisis terjadi perubahan-perubahan komposisi kimia dan pengurangan berat sebanyak 10%. Perubahan sifat fisik dan kimia terjadi selama proses penyangraian, seperti *swelling*, penguapan air, terbentuknya senyawa mudah menguap, karamelisasi karbohidrat, pengurangan serat kasar, denaturasi protein, terbentuknya gas  $\text{CO}_2$  sebagai hasil oksidasi dan terbentuknya aroma yang karakteristik pada kopi. *Swelling* selama penyangraian disebabkan karena terbentuknya gas-gas yang sebagian besar terdiri dari  $\text{CO}_2$  kemudian gas-gas ini mengisi ruang dalam sel atau pori-pori kopi (Buffo dan Cardelli-Freire, 2004).

Biji kopi secara alami mengandung cukup banyak senyawa calon pembentuk cita rasa dan aroma khas kopi antara lain asam amino dan gula. Proses penyangraian pada suhu diatas  $180\text{-}200^{\circ}\text{C}$  dapat menyebabkan perubahan besar dalam komposisi kimia dan aktivitas biologis kopi sebagai akibat dari hasil reaksi *Maillard* dan *Strecker*. Senyawa gula akan terkaramelisasi menimbulkan aroma khas dalam proses penyangraian. Senyawa yang menyebabkan rasa sepat atau rasa asam seperti tanin dan asam asetat akan

hilang dan sebagian lainnya akan bereaksi dengan asam amino membentuk senyawa melanoidin yang memberikan warna coklat. Karbohidrat di dalam biji kopi berupa senyawa larut air atau tidak larut air. Jenis karbohidrat yang terdapat dalam kopi di antaranya arabinosa, fruktosa, mannanosa, galaktosa, dan glukosa. Polisakarida berupa selulosa dan hemiselulosa dijumpai pada dinding sel biji kopi (Panggabean, 2011). Kandungan karbohidrat pada arabika adalah sekitar 6-8,3 % basis kering dan Robusta 3,1- 4,1%. Glukosa berkorelasi negatif dengan tingkat aroma, tetapi berkorelasi positif dengan kemanisan. Karbohidrat berpengaruh terhadap warna coklat pada kopi yang sudah disangrai, membentuk cita rasa, dan berperan kepada pembentukan senyawa mudah menguap. Karbohidrat berubah menjadi polisakarida larut air, oligosakarida, melanoidin, karamel dan senyawa mudah menguap pada proses penyangraian (Varnam dan Sutherland, 1994).

### 2.1.3 Kandungan Biji Kopi

Banyaknya komponen kimia di dalam kopi seperti kafein, asam klorogenat, trigonelin, karbohidrat, lemak, asam amino, asam organik, aroma volatil dan mineral dapat menghasilkan efek yang menguntungkan bagi kesehatan penikmat kopi. Komposisi kimia dari biji kopi bergantung pada spesies dan varietas dari kopi serta faktor-faktor lain yang berpengaruh antara lain lingkungan tempat tumbuh, tingkat kematangan, dan kondisi penyimpanan. Proses pengolahan juga akan mempengaruhi komposisi kimia dari kopi. Penyangraian akan mengubah komponen yang bersifat labil membentuk komponen yang kompleks (Panggabean, 2011). Perbedaan pada 2 jenis kopi antara lain dari segi rasa, aroma dan ukuran ini tentu berhubungan dengan komponen kimia yang terdapat pada 2 jenis kopi arabika dan robusta (Gunalan, 2012). Komposisi kimia kopi arabika dan robusta dengan perlakuan sangrai dan tidak disangrai dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 menjelaskan bahwa biji kopi hijau robusta paling banyak mengandung asam klorogenat dibandingkan dengan biji kopi lainnya (Farah, 2012). Nilai kandungan asam klorogenat pada biji kopi robusta sangrai mencapai 3,3-3,8 mg per gram biji kopi, sedangkan kandungan senyawa asam klorogenat

pada kopi arabika sangrai sebesar 1,9-2,5 mg per gram biji kopi. Perbedaan kandungan asam klorogenat tidak hanya didasarkan pada jenis saja, namun faktor pemanasan atau penyangraian biji kopi hijau juga dapat berpengaruh terhadap kandungan asam klorogenat dalam biji kopi. Pada proses penyangraian biji kopi terjadi perubahan secara fisik maupun kimia. Selama penyangraian sebagian besar asam klorogenat akan menjadi asam kafeat dan asam kuinat (Yusianto, 2014).

Tabel 2.1. Kandungan kimia yang terdapat pada biji kopi arabika dan robusta

Komponen	Konsentrasi (g/100 g)		Konsentrasi (g/100 g)	
	Kopi Arabika Hijau	Kopi Arabika Sangrai	Kopi Robusta Hijau	Kopi Robusta Sangrai
Sukrosa	6-9	4,2-tr	0,9-4,0	1,6-tr
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 Nikotinik	-	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
Melanoidin	-	25	-	25

Sumber: Farah (2012)

Senyawa senyawa kimia pada biji kopi dapat dibedakan atas senyawa volatil dan non volatil. Senyawa voaltil adalah senyawa yang mudah menguap terutama jika terjadi kenaikan suhu. Senyawa volatil yang berpengaruh terhadap aroma kopi antara lain golongan aldehid, keton dan alkohol, sedangkan senyawa non volatil yang berpengaruh terhadap mutu kopi antara lain kafein, asam klorogenat, hidrokarbon alifatik, asam, alkohol, tiol, furan, piro, piridin, quinin, fenol (asam



alifatik) dan amin aromatik (Ramanaviciene *et al.*, 2003). Golongan asam pada kopi akan mempengaruhi mutu dan memberikan aroma serta citarasa yang khas. Efek dari pemanggangan kopi yaitu meningkatkan kepahitan kopi karena adanya pelepasan asam kafein dan pembentukan lakton dan derivatif fenol lain yang bertanggung jawab untuk rasa dan aroma. Proses penyangraian akan menguraikan asam klorogenat menjadi derivat fenol dan dapat menyebabkan nilai kandungan menjadi berkurang didalam biji kopi tersebut. Pada proses penyangraian, asam *dicaFFEoylquinic* (diCQA) mengalami hidrolisis menjadi mono ester dan asam kafein namun pada proses ini fenol yang bersifat volatil meningkat (Susan *et al.*, 2015).

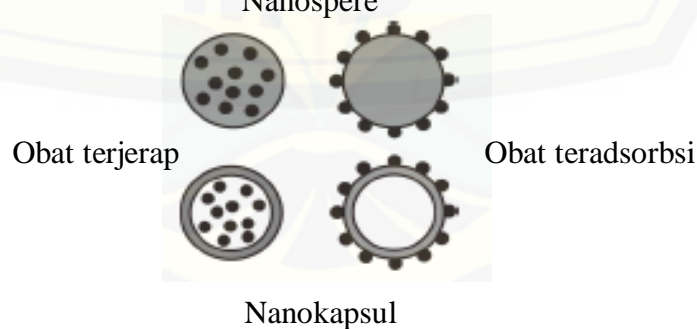
Fenol merupakan salah satu senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan. Senyawa fenol meliputi flavonoid (turunan inti flavan), cincin kroman (tokoferol) dan lignan. Fenol juga dapat diklasifikasikan ke dalam komponen yang tidak larut seperti lignin dan komponen yang larut seperti asam fenolik, *phenylpropanoids*, *flavonoid* dan kuinon. Asam fenolik terdiri dari asam klorogenat, asam kafeat, asam p-kumarat, dan asam vanilat (Silalahi, 2006). Asam klorogenat merupakan komponen terbanyak dalam kopi (Richelle *et al.*, 2001). Asam klorogenat mampu melawan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dengan cara mempertahankan struktur normal sel dan fungsinya. Asam klorogenat bekerja dengan cara masuk ke dalam agen asing dan merusak struktur dinding agen asing tersebut (Winarsi, 2007).

Minuman yang paling banyak mengandung senyawa antioksidan salah satunya yaitu kopi (Yashin *et al.*, 2013). Secangkir kopi yang berisi 10 gram kopi sangrai mengandung asam klorogenat sebanyak 15 hingga 325 mg. Konsumsi kopi sebagai antioksidan dalam jumlah memadai dilaporkan dapat menurunkan kejadian penyakit degeneratif, seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis, dan lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan juga dapat meningkatkan status imunologis dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif (Winarsi, 2007).

## 2.2 Nanopartikel

### 2.2.1 Definisi Nanopartikel

Nanopartikel merupakan sistem dimana bahan inti dikelilingi oleh membran polimer. Nanopartikel sebagai dispersi partikel padat memiliki ukuran berkisar 10-1000 nm (Mohanraj and Chen, 2006). Nanopartikel memiliki peran dalam sistem penghantaran obat yaitu sebagai pembawa (*carrier*) dimana obat didalamnya terperangkap, terlarut, terenkapsulasi atau menempel pada matriks nanopartikel (Soppimath *et al.*, 2001). Ilustrasi penjerapan senyawa bioaktif pada sistem nanopartikel disajikan pada Gambar 2.2. Menurut Alleman *et al.* (1993), ada dua tipe nanopartikel yang perbedaannya terletak pada morfologi dan arsitekturnya, yaitu nanospere dan nanokapsul. Nanosphere memiliki struktur monolitik (matrik) polimer yang padat dan obat terdispersi atau teradsorbsi secara seragam pada permukaannya, sedangkan nanokapsul terdiri atas obat yang terperangkap dalam inti likuid (umumnya minyak) yang dikelilingi oleh membran polimer (Tiyaboonchai, 2003). Sistem penghantaran obat dalam bentuk nanopartikel telah menunjukkan potensi yang sangat besar dibidang biologi, kesehatan, dan aplikasi dalam bidang pangan. Pada saat ini banyak penelitian mengenai sistem penghantaran obat nanopartikel yang berfokus pada: (1) pemilihan dan kombinasi material pembawa untuk memperoleh kecepatan pelepasan obat yang sesuai; (2) modifikasi permukaan nanopartikel untuk meningkatkan kemampuan aksinya di organ target; (3) mengoptimalkan preparasi nanopartikel untuk meningkatkan kemampuannya dalam penghantaran obat; (4) penelitian mengenai proses dinamik *in vivo* untuk memperlihatkan interaksi nanopartikel dengan darah, jaringan target dan organ (Emej *et al.*, 2012).



Gambar 2.2. Ilustrasi penjerapan senyawa bioaktif pada sistem nanopartikel

Perancangan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat memiliki tujuan utama yaitu untuk mengontrol ukuran partikel, sifat permukaan dan pelepasan zat aktif untuk mencapai sisi spesifik di dalam tubuh dalam laju optimal sesuai regimen dosis (Mohanraj dan Chen, 2006). Nanopartikel memiliki peranan yang penting dalam sistem penghantaran obat tertarget dan memiliki durasi yang lama di dalam tubuh serta dapat memperangkap obat di dalam matriknya. Obat akan terlepas dengan dosis dan kecepatan yang tepat pada sisi spesifik di dalam tubuh selama waktu tertentu, hal ini akan membuat efikasi terapeutik akan semakin meningkat dan efek samping akan semakin berkurang (Sun *et al.*, 2003).

Kitosan merupakan polimer yang paling banyak digunakan karena memiliki beberapa sifat ideal sebagai polimer pembawa untuk nanopartikel, seperti biokompatibel, biodegradabel, nontoksik dan murah (Hejazi dan Amiji, 2003). Wu *et al.* (2005) juga melaporkan bahwa nanopartikel dari bahan polimer biodegradabel dan biokompatibel seperti kitosan merupakan bahan yang baik sebagai pembawa obat untuk sistem penghantaran karena nanopartikel akan terjerap secara utuh di dalam saluran pencernaan setelah masuk ke dalam tubuh. Nanopartikel mempunyai kelebihan yaitu lebih mudah untuk berikatan dengan sel dibandingkan dengan molekul yang mempunyai ukuran lebih besar, sehingga nanopartikel banyak digunakan sebagai penghantar untuk obat yang mengandung komponen bioaktif (Wilczewska *et al.*, 2012). Nanopartikel mempunyai fungsi yang spesifik yaitu meningkatkan stabilitas obat dan dapat mengontrol pelepasan dari obat. Menurut Laili *et al.* (2014), beberapa keuntungan penggunaan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat sebagai berikut :

1. Nanopartikel mampu menembus pembuluh darah kapiler yang lebih kecil
2. Nanopartikel dapat menembus sel dan jaringan untuk sampai ke organ target seperti hati, limpa, paru-paru dan sumsum tulang belakang
3. Kemudahan dalam mencapai target obat baik secara aktif maupun pasif
4. Memperpanjang dan mengontrol pelepasan obat pada saat transportasi dan pada sisi lokalisasi, mengubah distribusi organ dari obat dan berikutnya mempengaruhi klirens dari obat sehingga dapat mencapai peningkatan efikasi terapeutik obat dan mengurangi efek samping

5. Pelepasan terkontrol dan sifat degradasi partikel dapat diatur sesuai dengan pemilihan jenis matriks.
6. Penujuan ke target obat dapat dicapai dengan cara melekatkan ligan target pada permukaan partikel atau menggunakan tuntunan magnet
7. Sistem dapat diberikan dalam berbagai rute seperti oral, nasal, parental, intraokular dan sebagainya.

#### 2.2.2 Metode Pembuatan Nanopartikel

Pemilihan metode pembuatan nanopartikel tergantung pada bahan awal yang akan digunakan serta karakteristik kelarutan dari bahan obatnya. Nanopartikel dapat dibuat dari berbagai macam bahan, seperti protein, polisakarida, dan polimer sintetik. Pemilihan bahan awal bergantung pada beberapa faktor, yaitu biokompatibilitasnya, sifat degradasinya, pemilihan rute pemberian, profil pelepasan yang diinginkan, tipe aplikasi biomedisnya (Vidyavathi *et al.*, 2011), ukuran nanopartikel yang diinginkan, sifat obat yang akan di-*loading*, karakteristik permukaan seperti muatan dan permeabilitasnya, derajat biodegradabilitas dan toksisitasnya (Mohanraj dan Chen, 2006). Lebih lanjut menurut Mohanraj dan Chen (2006), pembuatan nanopartikel banyak menggunakan tiga metode, yaitu dispersi polimer, polimerisasi monomer, dan gelasi ionik. Metode lain seperti *supercritical fluid technology* juga disebutkan dalam beberapa literatur untuk membuat nanopartikel (Reverchon dan Adami, 2006).

Dispersi polimer merupakan teknik umum yang digunakan untuk membuat nanopartikel biodegradabel dari PLG (*poly-D,L-glycolide*), PLA (*poly-lactic acid*), PLGA (*poly-D,L-lactide-co-glycolide*), dan PCA (*poly-cyanoacrylate*). Teknik dispersi polimer ini dapat digunakan dalam berbagai cara, antara lain metode evaporasi pelarut dan metode difusi pelarut. Pelarut organik seperti diklorometana, kloroform, atau etil asetat digunakan untuk melarutkan polimer dan obat dalam metode evaporasi pelarut. Campuran larutan polimer dan obat tersebut kemudian diemulsikan dalam larutan yang mengandung surfaktan untuk membentuk emulsi minyak dalam air (o/w). Emulsi yang telah terbentuk stabil, kemudian pelarut organik diuapkan (Zambaux *et al.*, 1998).

Pada metode polimerisasi, monomer dipolimerisasi untuk membentuk nanopartikel dalam larutan. Suspensi nanopartikel selanjutnya dipisahkan dari penstabil dan surfaktan yang digunakan dengan ultrasentrifugasi dan partikel disuspensikan kembali dalam medium surfaktan yang isotonis (Zhang *et al.*, 2001). Metode lain yang dapat digunakan adalah metode gelas ionik. Metode ini berkembang luas dan banyak digunakan. Hal ini dikarenakan metode gelas ionik sangat sederhana dan mudah dilakukan dibanding dengan metode lainnya (Racovita *et al.*, 2009). Prinsip dari metode gelas ionik yaitu muatan positif pada gugus amino kitosan berinteraksi dengan muatan negatif TPP untuk membentuk partikel dalam ukuran nanometer (Mohanraj dan Chen, 2006).

### 2.2.3 Karakteristik Nanopartikel

Beberapa karakteristik yang dimiliki oleh nanopartikel antara lain:

#### a. Ukuran dan Distribusi Partikel

Diameter partikel rata-rata yang baik berada dalam rentang skala nano (10-1000 nm) (Nidhin *et al.*, 2008). Indeks polidispersitas merupakan jumlah yang dihitung dari dua parameter sederhana untuk data korelasi (Abdassah, 2017). Menurut Yuan *et al.* (2008), semakin kecil nilai indeks polidispersitas maka ukuran partikel semakin homogen. Menurut Avadi *et al.* (2010), nilai indeks polidispersitas lebih besar dari 0,5 menunjukkan heterogenitas yang tinggi, dan sebaliknya jika mendekati nilai 0 menunjukkan ukuran partikel yang seragam. Ukuran partikel sering digunakan untuk mengkarakterisasi nanopartikel karena dapat digunakan untuk mengetahui dispersi dan agregasi. Ukuran partikel sangat mempengaruhi pelepasan dari obat. Semakin kecil ukuran partikel maka semakin besar luas area permukaannya sehingga pelepasan obat akan semakin cepat. Ukuran partikel juga mempengaruhi distribusi obat dan kemampuan untuk *targetting* dari sistem nanopartikel. Kelemahan dari partikel yang berukuran kecil memiliki resiko yang relatif tinggi terjadinya agregasi selama penyimpanan dan distribusi (Mohanraj dan Chen, 2006).

#### b. Zeta Potensial

Zeta potensial adalah ukuran umum dari besarnya muatan elektrostatik partikel dalam dispersi, dan nilai zeta potensial ini menentukan kestabilan dari

larutan nanopartikel. Nilai zeta potensial di atas nilai absolut dari 30 mV dianggap mempunyai stabilitas koloid yang baik (Frietas dan Muller, 1998). Nanopartikel dengan zeta potensial (+/-) 30 mV menunjukkan bentuk yang stabil dalam suspensi karena muatan permukaan tersebut mencegah terjadinya agregasi partikel. Zeta potensial juga dapat digunakan untuk menentukan apakah muatan material aktif terenkapsulasi di tengah nanopartikel atau diadsorpsi di permukaannya saja (Mohanraj dan Chen, 2006). Zeta potensial juga mempengaruhi efektifitas penghantaran obat dan perlekatan antara nanopartikel dengan membran sel (Jumadi dan Sari, 2014).

c. Efisiensi Enkapsulasi

Efisiensi enkapsulasi digunakan untuk menentukan rasio antara kandungan loading bahan aktif yang tertangkap dalam nanopartikel dengan total bahan aktif yang digunakan dalam formulasi (Chabib *et al.*, 2012). Efisiensi penyerapan berhubungan dengan jumlah obat yang terkandung dalam nanopartikel (Kharia *et al.*, 2012). Sistem nanopartikel yang baik adalah sistem yang membawa konsentrasi obat yang tinggi. Efisiensi enkapsulasi sangat dipengaruhi oleh kombinasi obat, polimer, dan metode yang digunakan (Mohanraj dan Chen, 2006).

Penentuan efisiensi enkapsulasi nanopartikel untuk bahan aktif yang memiliki gugus kromofor dapat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer UV (Ramachandran *et al.*, 2011). Banyak faktor yang berpengaruh terhadap %EE, antara lain sifat alami bahan aktif, konsentrasi kitosan, rasio polimer-obat, dan kecepatan pengadukan. Konsentrasi kitosan yang semakin rendah menunjukkan efisiensi penyerapan yang rendah juga namun jika konsentrasi kitosan semakin tinggi, maka akan terbentuk larutan dengan viskositas tinggi dan proses preparasinya juga semakin sulit (Orienti *et al.*, 1996). Nilai efisiensi enkapsulasi yang dinyatakan baik adalah yang nilainya lebih besar dari 50% (Ibezim *et al.*, 2011; Kafshgari *et al.*, 2010). Pada penelitian Laili *et al.* (2014) nilai efisiensi penyerapan pada nanopartikel kitosan-naringenin >40%.

### 2.3 Metode Gelasi Ionik

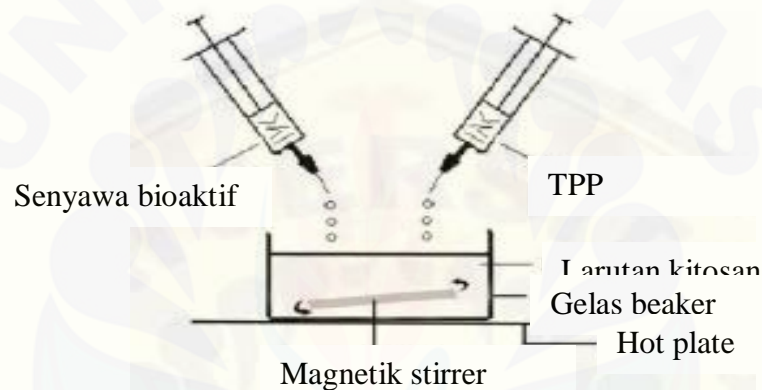
Gelasi atau pembentukan gel merupakan penggabungan atau pengikatan silang rantai-rantai polimer membentuk jaringan tiga dimensi yang sinambung dan dapat merangkap air di dalamnya menjadi suatu struktur yang kompak dan kaku (Fardiaz, 1989). Gelasi ionik merupakan metode yang menggunakan penyambung silang polielektrolit dengan proses kompleksasi antara polielektrolit yang bermuatan sehingga terbentuk membran kompleks polielektrolit pada permukaan yang meningkatkan kekuatan mekanis dari partikel yang terbentuk (Iswandana *et al.*, 2013). Pembuatan nanopartikel dengan metode gelasi ionik merupakan metode yang paling sederhana dan relatif murah (Jonassen *et al.*, 2013). Penyambung silang yang sering digunakan adalah kalsium klorida, glutaraldehyd, natrium tripolifosfat, natrium hidroksida dan formaldehyd (Agarwal, 2015).

Metode yang paling umum dalam pembuatan nanopartikel melalui proses gelasi ionik yaitu metode magnetik stirer, *homogenizer*, dan ultrasonik. Banyak penelitian difokuskan untuk membuat nanopartikel dari polimer yang biodegradabel seperti kitosan, gelatin dan sodium alginat (Rachmania, 2011). Salah satu contoh penerapan metode gelasi ionik adalah pembuatan nanopartikel kitosan dengan cara mencampurkan polimer kitosan dengan polianion TPP yang menghasilkan interaksi antara muatan positif pada gugus amino kitosan dengan muatan TPP. Proses gelasi ionik antara kitosan dan TPP dapat dilihat pada Gambar 2.3. Ukuran dan muatan permukaan partikel dapat dimodifikasi dengan melakukan variasi rasio kitosan terhadap bahan (Irianto, 2011). Faktor yang mempengaruhi keberhasilan pembentukan nanopartikel antara lain:

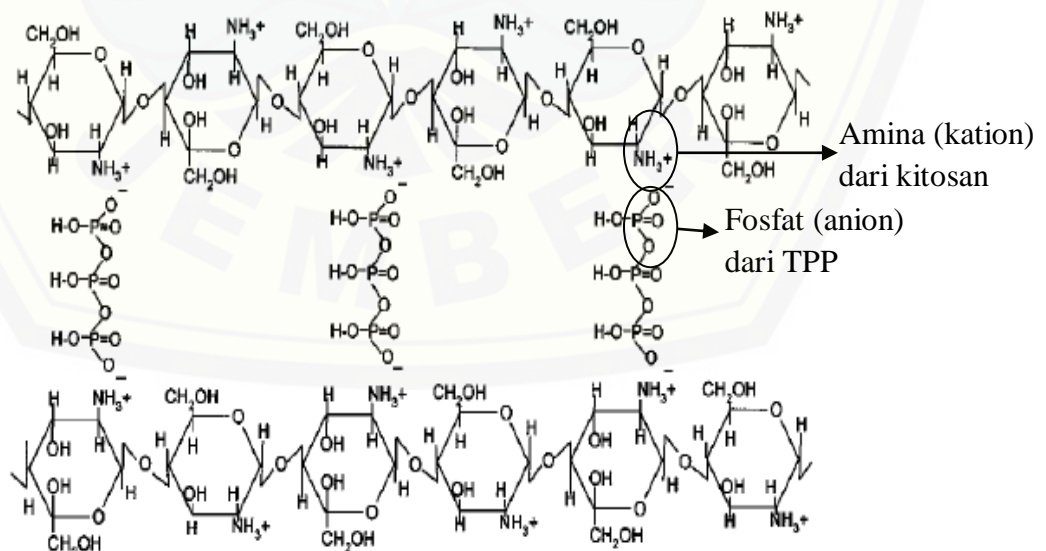
a. Konsentrasi polimer dan elektrolit sambung silang

Faktor konsentrasi polimer dan elektrolit sambung silang sangat berpengaruh besar terhadap pembentukan matriks nanopartikel. Konsentrasi kedua elektrolit harus sesuai sehingga terjadi proses sambung silang secara optimal. Proses sambung silang yang baik dapat menentukan persen efisiensi penjerapan terhadap bahan yang akan dijerap. Penelitian Wu *et al.* (2005) menunjukkan bahwa pembentukan nanopartikel dengan metode gelasi ionik hanya

terjadi pada konsentrasi kitosan dan TPP tertentu. Nanopartikel dengan hasil rendemen yang tinggi didapatkan dengan perbandingan berat/massa antara kitosan dan TPP dalam rentang 4:1 sampai 6:1. Penelitian Grenha *et al.* (2005) menunjukkan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi kitosan yang digunakan, semakin besar pula ukuran partikel yang terbentuk. Pada metode gelasi ionik, mekanisme pembentukan nanopartikel kitosan didasarkan pada interaksi elektrostatis antara gugus positif amino kitosan dan gugus negatif TPP yang akhirnya secara spontan membentuk nanopartikel (Bodmeier *et al.*, 1989) seperti pada Gambar 2.4.



Gambar 2.3. Proses gelasi ionik antara kitosan dan TPP (Racovita *et al.*, 2009)



Gambar 2.4. Interaksi ionik antara kitosan dan TPP (Longmi *et al.*, 1999)



b. Suhu dan waktu

Suhu berperan dalam menentukan ukuran partikel dalam metode gelasi ionik. Faktor waktu juga berpengaruh dalam reaksi terbentuknya sambung silang dan juga menentukan keberhasilan metode gelasi ionik. Penelitian Tsai *et al.* (2008) memperlihatkan bahwa ukuran partikel kitosan-TPP yang dibuat dengan metode gelasi ionik dipengaruhi oleh penggunaan energi mekanik yang berbeda, waktu perlakuan yang berbeda, konsentrasi kitosan yang berbeda dan suhu larutan yang berbeda.

c. pH larutan sambung silang

pH larutan sambung silang juga merupakan faktor yang dipertimbangkan selama formulasi karena menunjukkan efek pada laju reaksi, bentuk dan ukuran partikel. Reaksi sambung silang kitosan dengan tripolifosfat secara ionik terjadi lebih banyak pada pH rendah dibandingkan pada pH tinggi. Pada pH rendah atau asam, tripolifosfat lebih banyak terionisasi dalam bentuk ion  $-P_3O_{10}^{5-}$  dibandingkan bentuk ion  $-OH^-$ . Reaksi sambung silang secara ionik terjadi antara ion  $-P_3O_{10}^{5-}$  dari tripolifosfat dengan ion  $-NH_3^+$  dari kitosan (Ko *et al.*, 2002; Bhumkar dan Pokharkar, 2006)

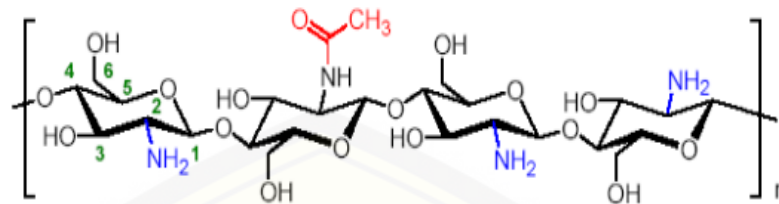
d. Konsentrasi senyawa bioaktif

Senyawa yang akan terperangkap dalam partikel harus dalam rasio yang tepat dengan polimer, karena konsentrasi obat sangat mempengaruhi efisiensi penyerapan. Jika rasio obat-polimer melebihi kisaran maka dapat dilihat efek *bursting*, densitas partikel meningkat serta ukuran dan bentuk dari partikel juga meningkat (Patil *et al.*, 2012).

## 2.4 Kitosan

Kitosan merupakan polisakarida alam kedua yang melimpah setelah selulosa (Liu *et al.*, 2012). Kitosan memiliki ciri tidak berbau, berbentuk serpihan atau serbuk berwarna krem hingga putih. Kitosan termasuk jenis polimer rantai yang tidak linier dan memiliki rumus umum  $(C_6H_{11}O_4)_n$  atau disebut sebagai (1,4)-2-Amino-2-Deoksi- $\beta$ -D-Glukosa. Kitosan tergolong ke dalam senyawa

kelompok polisakarida (Rismana, 2006). Struktur kitosan disajikan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5. Struktur kitosan (Thathe, 2004)

Derajat deasetilasi dari kitosan menentukan banyaknya gugus asetil yang telah hilang selama proses deasetilasi kitin menjadi kitosan. Semakin besar derajat deasetilasi, maka kitosan akan semakin aktif karena semakin banyak gugus amina menggantikan gugus asetil. Gugus amina lebih reaktif dibandingkan gugus asetil karena adanya pasangan elektron bebas pada atom nitrogen dalam struktur kitosan (Muzzarelli dan Peter, 1997). Menurut Goycoolea *et al.* (2002) derajat deasetilasi dari kitosan dapat mempengaruhi ukuran dari nanopartikel yang terbentuk dan zeta potensial yang dihasilkan. Nanopartikel yang dibuat dengan derajat deasetilasi kitosan yang tinggi, cenderung memiliki ukuran partikel yang lebih besar dan zeta potensial yang menjauhi (+/-) 30 mV, sedangkan nanopartikel yang dibuat dengan derajat deasetilasi kitosan yang rendah, cenderung memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dan zeta potensial yang mendekati (+/-) 30 mV. Derajat deasetilasi kitosan berkisar antara 56 hingga 99% dengan rata-rata biasanya 80%, bergantung pada sumber dan metode pembuatannya. Kitin dengan derajat deasetilasi 75% atau lebih besar di atasnya dikenal dengan nama kitosan.

Kitosan dengan derajat deasetilasi tinggi, lebih dari 85 %, dan berat molekul rendah dibutuhkan sebagai antibakteri, antifungi, antioksidan, antitumor dan *immunoenhancing*. Kitosan dengan derajat deasetilasi sekitar 70 % dan berat molekul tinggi banyak digunakan untuk aplikasi sebagai membran dan pengemas dibutuhkan (Emmawati *et al.*, 2007). Hasil penelitian Kim *et al.* (2006), menyebutkan bahwa karakteristik kitosan yang dapat digunakan untuk pembuatan nanopartikel yaitu kitosan dengan BM 200 kDa dan derajat deasetilasi 85%.

Derajat deasetilasi sekitar 80-85% untuk mendapatkan kelarutan yang baik. Perbedaan bentuk kitosan akan berpengaruh pada luas permukaannya. Kitosan dengan ukuran yang semakin kecil maka luas permukaan kitosan akan semakin besar, dan proses adsorpsi pun dapat berlangsung lebih baik. Kitosan bersifat tidak beracun dan mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Penggunaan presentase kitosan terbaik untuk menyalutkan senyawa aktif asap cair yaitu 0,12% (Ali *et al.*, 2014).

Kitosan merupakan polisakarida alami yang banyak digunakan untuk sistem penghantaran obat farmasetik karena sifatnya yang menguntungkan seperti biokompatibel, nontoksik, biodegradabel, dan kemampuannya membentuk gel (Prasertsung *et al.*, 2013). Kitosan larut dalam pelarut organik, HCl encer, HNO<sub>3</sub> encer, CH<sub>3</sub>COOH encer, HCOOH encer, dan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,5%, tetapi tidak larut dalam basa kuat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Sifat kelarutan kitosan dipengaruhi oleh bobot molekul dan derajat deasetilasi. Bobot molekul kitosan beragam yang bergantung pada degradasi yang terjadi selama proses deasetilasi (Sugita *et al.*, 2010). Kitosan tersedia dalam variasi berat molekul dan derajat deasetilasi yang luas. Berat molekul dan derajat deasetilasi merupakan faktor utama yang mempengaruhi ukuran partikel, pembentukan partikel, dan agregasi (Tiyaboonchai, 2003).

Kitosan merupakan polimer yang cukup populer digunakan dalam sistem nanopartikel. Hal ini disebabkan karena kitosan memiliki beberapa sifat khas yang tidak dimiliki oleh polimer lain. Kitosan dilaporkan memiliki kemampuan untuk membuka kait antar sel (*tight junction*) pada membran usus secara sementara (Bhardwaj dan Kumar, 2006; Martien *et al.*, 2008) melalui mekanisme translokasi protein Claudin-4 (Cldn4), Zonula occludens-1 (ZO-1), dan Occludin dari membran sel ke sitosol (Smith *et al.*, 2004; Yeh *et al.*, 2011), sehingga sangat potensial untuk dikembangkan sebagai bahan utama pembuatan nanopartikel yang ditujukan untuk aplikasi *per oral*. Kelebihan lain dari kitosan yaitu muatan pada gugus amonium yang positif dapat mengadakan interaksi ionik dengan asam sialat pada membran intestinal saluran cerna (Vllasaliu *et al.*, 2010). Biokompatibilitas kitosan dikarenakan kitosan merupakan polimer yang diperoleh dari hidrolisis polimer kitin yang berasal sumber alam yang sudah menjadi konsumsi umum

pada cangkang hewan laut, sehingga cenderung tidak menimbulkan ketoksikan pada dosis terapi, selain dari sifatnya yang sekaligus *biodegradabel* (Tiyaboonchai, 2003). Penelitian pembuatan nanopartikel menggunakan kitosan telah banyak dilakukan diantaranya yaitu pembuatan nanopartikel katekin dengan variasi rasio massa kitosan-natrium tripolifosfat dan penambahan ekstrak katekin (Kailaku *et al.*, 2013). Penelitian serupa juga dilakukan oleh Patel *et al.* (2011) mengenai pengembangan dan pengujian nanopartikel tamoxifen-kitosan dengan metode gelasi ionik.

## 2.5 Antioksidan

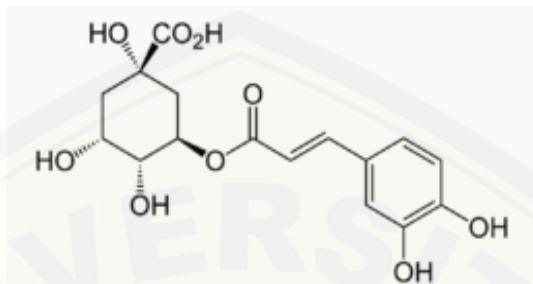
### 2.5.1 Definisi Antioksidan

Menurut Lingga dan Lanny (2012), antioksidan adalah senyawa yang mampu menetralkan radikal bebas yang berasal dari dalam atau luar tubuh manusia. Radikal bebas adalah atom atau senyawa yang kehilangan pasangan elektron. Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif, selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak, maupun DNA) dalam tubuh (Winarti, 2010). Sumber radikal bebas dapat berasal dari sisa hasil metabolisme tubuh dan dari luar tubuh seperti makanan, sinar UV, polutan, dan asap rokok. Jumlah radikal bebas yang terus meningkat dalam tubuh dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif karena terjadi ketidakseimbangan antara jumlah radikal oksidatif sel. Jika hal ini terus menerus terjadi maka dapat memicu munculnya penyakit degeneratif seperti kanker (Wijeratne, 2005), diabetes, peradangan dan kardiovaskuler (Stocker, 2004).

### 2.5.2 Antioksidan pada Kopi

Metabolit terbesar pada biji kopi adalah asam klorogenat yang merupakan senyawa ester dari trans-asam sinamat dan asam quinat. Hasil penelitian Rice *et al.* (1999), kopi arabika sebanyak 200 ml mengandung asam klorogenat sebanyak 70-200 mg, sedangkan dalam kopi robusta mengandung 70-350 mg. Kopi dengan kandungan senyawa aktif dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan yang sangat dibutuhkan bagi kesehatan tubuh. Menurut Castelnovo *et al.* (2012), kandungan senyawa polifenol dalam kopi dapat menjadi sumber antioksidan yang dapat

mencegah berbagai macam penyakit akibat efek radikal bebas. Jenis polifenol yang terkandung dalam kopi antara lain asam kafeat, asam klorogenat, asam kumarat, asam ferulat dan asam sinapat (Hecimovic *et al.*, 2011; Gardjito dan Rahardian, 2011). Struktur senyawa asam klorogenat disajikan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6. Struktur senyawa asam klorogenat

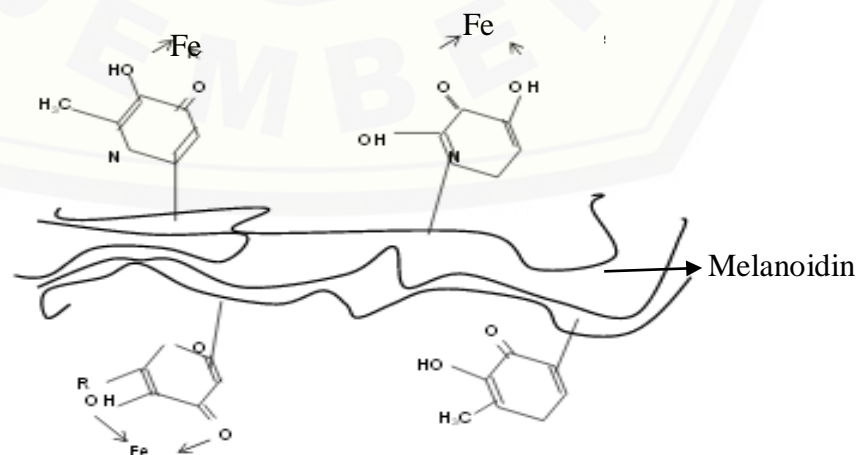
Pengujian secara *in vitro* telah dilakukan Sato *et al.* (2011), menunjukkan bahwa asam klorogenat dan asam kafein mempunyai kumpulan *cixinal hydroxyl* pada residu aromatis. Kedua senyawa tersebut mempunyai fungsi sebagai antimutagenik, antikanker dan adanya aktivitas antioksidan yang bekerja pada ROS (*Reactive Oxygen Spesies*). ROS dapat menyebabkan iskemia dan kerusakan pada usus. Kafein dan asam klorogenat dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Nilai  $EC_{50}$  yang dihasilkan kafein sebesar 21,41 ppm sedangkan asam klorogenat sebesar 5,86 ppm. Nilai  $EC_{50}$  merupakan parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan yang memberikan penghambatan 50%. Zat yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi akan mempunyai harga  $EC_{50}$  yang rendah. Nilai  $EC_{50}$  asam klorogenat lebih kecil dibandingkan dengan kafein sehingga dapat disimpulkan bahwa asam klorogenat mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kafein. Hal ini disebabkan karena asam klorogenat mempunyai banyak gugus hidroksil yang berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan (Sukohar *et al.*, 2011).

Produk reaksi maillard non volatil yang telah dilaporkan berfungsi sebagai antioksidan adalah produk reaksi maillard berberat molekul tinggi (melanoidin) dan berberat molekul rendah (Bailey dan Won, 1992). Penelitian yang dilakukan oleh Schlüsselwörter (2001) menggunakan melanoidin standar yang ditambahkan pada minyak wijen dan efeknya dibandingkan dengan  $\alpha$ -tokoferol dan sesamol,

yaitu senyawa antioksidan yang terdapat pada minyak wijen. Hasilnya menunjukkan bahwa efek antioksidan meningkat dengan semakin meningkatnya suhu pemanasan biji wijen.

Dua mekanisme yang mungkin yang dapat menjelaskan sifat antioksidan melanoidin adalah pembentukan radikal bebas (sebagai inhibitor) dan pembentukan struktur redukton (enaminol). Struktur melanoidin mengindikasikan adanya tipe redukton yang berperan sebagai antioksidan (mengkelat metal sebagaimana aktivitas reduksi). Hal ini menunjukkan struktur hidroksi piridon atau seperti piranon (Gambar 2.7) dalam melanoidin yang mengkompleks besi ( $\text{Fe}^{+++}$ ) dan mereduksi aktivitas katalitiknya. Struktur ini menyerupai maltol yang mengkelat besi (Bailey dan Won, 1992). Enediol dan enaminol pada melanoidin mempunyai aktivitas pereduksi. Perubahan bentuk oksidasi-reduksi dari redukton melanoidin berpengaruh pada intensitas warna, pengkelat metal dan disosiasi gugus fungsional.

Senyawa melanoidin dengan berat molekul besar (30-100 kDa) mempunyai aktivitas antioksidan yang cukup besar. Hal ini diduga karena suatu unit pengulangan karbon yang berikatan rangkap dan nitrogen tersier dimana struktur ini terdiri atas redukton seperti enol atau enaminol mampu sebagai antioksidan. Gugus hidroksil yang terdapat pada melanoidin juga mampu mengurangi proses oksidasi dengan cara mereduksi logam, mengkelat logam dan menangkap radikal bebas. Semakin besar berat molekul melanoidin akan meningkatkan potensinya sebagai antioksidan (Dedin, 2006).



Gambar 2.7. Struktur hidropiridone dan piranone dari melanoidin sebagai

sekuestran logam Fe (Bailey & Won Um, 1992)

### 2.5.3 Aktivitas Antioksidan Polifenol

Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki elektron bebas sehingga lebih bersifat reaktif dibandingkan molekul lainnya. Keberadaan radikal bebas didalam tubuh dapat menimbulkan berbagai macam penyakit seperti penyakit jantung, kanker dan penyakit degeratif lainnya (Tan dan Rahardja, 2007). Antioksidan merupakan senyawa yang sering digambarkan sebagai penetral senyawa reaktif dengan mendonorkan elektronnya. Polifenol merupakan antioksidan terbanyak dalam makanan, dengan sumber terbesar yaitu pada daun teh segar, teh bubuk, dan biji kopi (Carelsen *et al.*, 2010).

Polifenol memiliki aktivitas antioksidan 10 kali lebih besar dibandingkan dengan vitamin C dan 100 kali lebih tinggi dibanding vitamin E dan karatenoid. Cara kerja polifenol sebagai antioksidan yaitu dengan mereaksikan fenol sehingga dapat memutuskan rantai radikal bebas, perangkapan radikal bebas dengan gugus -OH pada fenol akan menghasilkan radikal fenoksil (R-O\*) yang cenderung kurang reaktif. Mekanisme pemutusan rantai radikal bebas sebagai berikut:



Keterangan:

-OH : Hidroksil

RO<sub>2</sub>\* : Radikal peroksil (radikal reaktif)

R-O\* : Radikal fenoksil (radikal tidak reaktif)

ROOH : Hidroperoksida

## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Hasil Pertanian, Laboratorium Analisa Terpadu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember, dan Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian Bogor. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai Desember 2017.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah neraca analitik ohaus (Mettler Toledo), *rotary evaporator* (Buchi, Jerman), pompa vakum, *magnetic stirrer* (Meline MS300HS), pengayak, penangas air (Medline MS300HS, Jerman), mikropipet (Gilson), sentrifuse, kain saring, *hand-held refractometer* (Atago, Japan), pH meter (Schott, Detschland, Germany), vortex (VM-300 Taiwan), *partikel size analyzer*, mikroskop transmisi elektron, *sprektofotometer* UV-VIS (Genesys 10, USA) dan alat-alat gelas.

#### 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan adalah kopi robusta sangrai. Bahan kimia yang digunakan adalah kitosan, asam asetat, sodium tripolipospat, metanol, akuades, asam galat,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , reagen *follin ciocalteau*, trolox, HCl, TPTZ (2,4,6-Tripyridyl-S-triazine),  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , sodium asetat trihydrate, buffer fosfat, TBA, TCA, asam askorbat,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , deoksiribosa, iron ammonium sulfat, dan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

### 3.3 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.3.1 Rancangan Penelitian

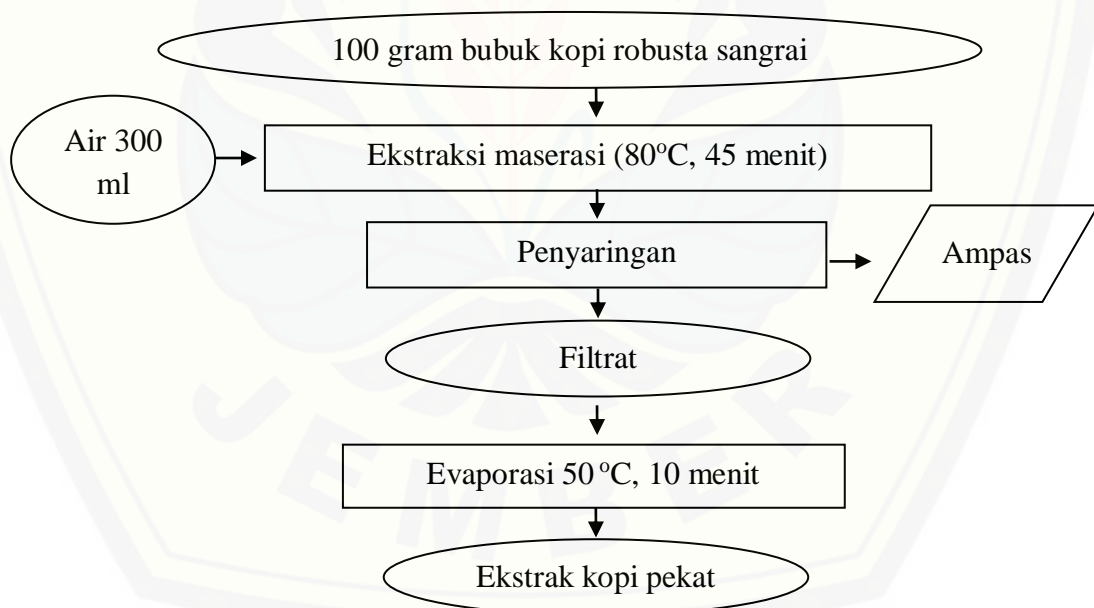
Penelitian dilaksanakan dalam empat tahapan yaitu 1) ekstraksi bubuk kopi robusta sangrai, 2) pengujian karakteristik ekstrak kopi robusta meliputi pH, derajat brix, rendemen, melanoidin, total polifenol, dan aktivitas antioksidan, 3)



sintesis nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai, 4) pengujian fisik dan kimia larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai meliputi ukuran partikel, distribusi partikel, melanoidin, efektifitas enkapsulasi, kandungan total polifenol dan aktivitas antioksidan.

### 3.3.2 Ekstraksi Kopi Robusta Sangrai

Ekstraksi kopi robusta sangrai mengacu pada metode yang dilakukan Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia (2013). Langkah pertama pada ekstraksi kopi robusta sangrai yaitu bubuk kopi dilakukan penimbangan sebanyak 100 gram. Bubuk kopi robusta dimaserasi dengan air pada perbandingan 1:3. Maserasi tersebut dilakukan pada suhu 80°C selama 45 menit. Tahap selanjutnya adalah penyaringan yang fungsinya untuk memisahkan ekstrak kopi dengan ampas kopi. Ekstrak kopi yang diperoleh kemudian dilakukan evaporasi secara vakum dengan suhu 50°C dan kecepatan putar 170 rpm hingga ekstrak kopi pekat. Diagram alir ekstraksi bubuk kopi robusta sangrai disajikan pada Gambar 3.1.

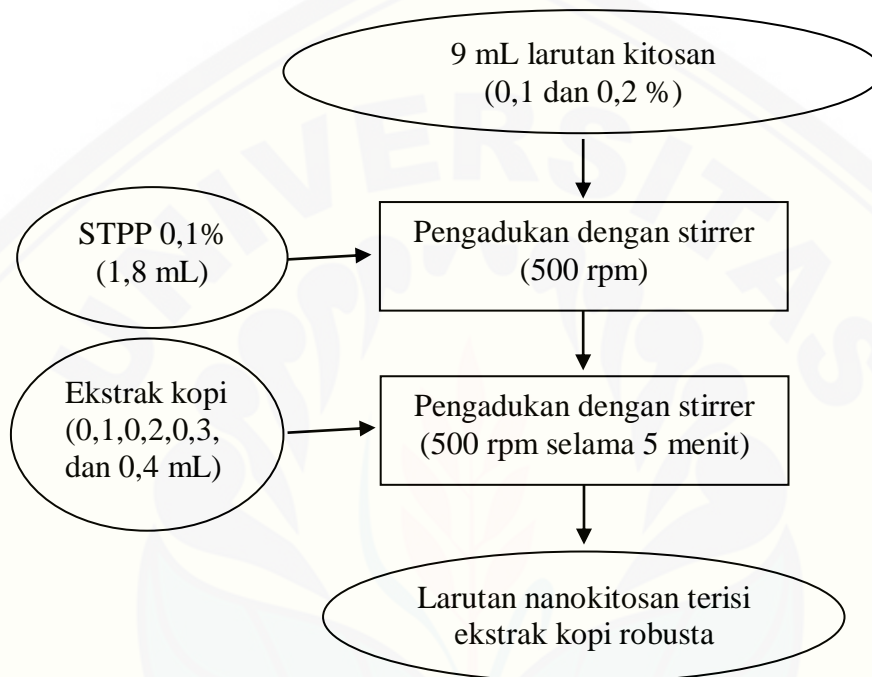


Gambar 3.1. Diagram alir proses ekstraksi kopi robusta sangrai

### 3.3.3 Sintesis Nanokitosan Terisi Ekstrak Kopi Robusta

Sintesis nanopartikel mengacu pada metode yang dilakukan oleh Alishahi *et al.* (2011) menggunakan metode gelas ionik. Bahan enkapsulan berupa kitosan dilarutkan dalam asam asetat dengan berbagai konsentrasi (0,1 dan 0,2% b/v). Larutan kitosan sebanyak 9 ml diaduk dan ditambahkan larutan STPP 0,1%

sebanyak 1,8 ml. Penambahan STPP dilakukan untuk membentuk gelasi ionik. Larutan ditambahkan ekstrak kopi robusta sebanyak 0,1; 0,2; 0,3; dan 0,4 ml dan diaduk dengan stirer selama 5 menit. Larutan nanopartikel yang terbentuk kemudian dilakukan pengujian sifat fisik dan kimia. Diagram alir sintesis larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai disajikan pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Diagram alir pembuatan larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai

#### 3.3.4 Parameter Pengamatan

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan fisik, kimia dan aktivitas antioksidan pada larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai. Adapun parameter yang diamati adalah sebagai berikut :

1. Karakteristik ekstrak kopi robusta
  - a. Rendemen
  - b. Total padatan
  - c. pH
  - d. Total polifenol
  - e. Aktivitas antioksidan

2. Larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta
  - a. Ukuran partikel dan distribusi partikel (indeks polidispersitas/IP)
  - b. Zeta potensial
  - c. Analisis spektrum inframerah (FT-IR)
  - d. *Transmission Electron Microscopy* (TEM)
  - e. pH
  - f. Efisiensi enkapsulasi
  - g. Melanoidin
  - h. Total polifenol
  - i. Aktivitas antioksidan (metode DPPH, FRAP dan OH Radikal)

### 3.3.5 Prosedur Analisis

#### a. Total Padatan

Analisis total padatan ekstrak kopi robusta mengacu pada metode Mukaromah *et al.* (2010). Total padatan terlarut diukur menggunakan *hand-held refractometer* ukuran 0-32 °Brix dan dipresentasikan sebagai derajat Brix (°Brix). Prosedur pengukurannya yaitu sampel ditetaskan pada kaca sensor yang ada pada *hand-held refractometer* dan angka brix dibaca pada alat.

#### b. pH

Pengukuran pH ekstrak kopi robusta mengacu pada metode AOAC (1995). Alat pH-meter digunakan untuk mengukur pH ekstrak kopi robusta sangrai dan larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai. Alat pH meter distandarisasi terlebih dahulu dengan buffer pH 4 dan 7 sesuai kisaran pH larutan ekstrak kopi robusta sangrai dan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan elektroda pH meter yang sudah distandarisasi ke dalam sampel cair.

#### c. Rendemen

Analisis rendemen ekstrak kopi robusta mengacu pada metode AOAC (1995). Rendemen diperoleh dari perbandingan berat kering yang dihasilkan dari berat bahan segar yang dikeringkan dengan metode pengering beku. Besarnya rendemen dapat diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Rendemen} = \text{Bobot Kering} / \text{Bobot Sampel Awal} \times 100\%$$

#### d. Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas

Penentuan ukuran partikel dan indeks polidispersitas mengacu pada Koucha *et al.* (2012). Sebanyak 5 tetes larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai dimasukkan dalam akuades 20 mL. Sebanyak 3 mL 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 rentang nilai 0-1.

#### e. Potensial Zeta

Analisis potensial zeta mengacu pada metode Jonassen *et al.* (2013). Zeta potensial diukur dengan menggunakan alat *zeta analyzer*. Sampel larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai dicuplik sebanyak 0,7 mL diletakkan ke dalam *flow cell* lalu dikarakterisasi sifat elektrokinetiknya pada 25°C.

#### f. *Transmission Electron Microscopy*

Analisis *transmission electron microscopy* mengacu pada metode Laili *et al.* (2014). Pengujian *Transmission Electron Microscopy* bertujuan untuk mengetahui morfologi nanopartikel. Cara pengujiannya dengan meneteskan droplet suspensi nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai ke grid tembaga, setelah meresap dan kering kemudian dilakukan *coating* menggunakan karbon, dan pemasangan dalam holder dan sampel siap untuk dianalisis.

#### g. Analisis Spektrum Inframerah (FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

Analisis spektrum inframerah mengacu pada metode Shi dan Gunasekaran (2008). Analisis spektrum inframerah menggunakan sampel nanopartikel kering, yang diamati pada daerah  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  dengan menggunakan spektrofotometer FT-IR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*). Pengeringan larutan nanopartikel kopi robusta menggunakan pengering beku. Spektrum FT-IR dari kitosan, STPP dan larutan kopi juga dianalisis sebagai nilai pembandingan, sehingga diketahui interaksi yang terjadi dalam larutan nanopartikel kitosan.

#### h. Efisiensi Enkapsulasi

Analisis efisiensi enkapsulasi mengacu pada metode Sahu *et al.* (2014). Efisiensi enkapsulasi dihitung berdasarkan perbandingan fenol yang terenkapsulasi dibanding total fenolnya. Sampel larutan nanopartikel sebanyak 5 mL disentrifuse dengan kecepatan tinggi 18000 rpm, sehingga dapat diketahui jumlah fenol bebas yang tidak terenkapsulasi. Efisiensi enkapsulasi dihitung dengan persamaan:

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

i. Pengujian Pigmen Coklat Melanoidin

Pengujian warna dilakukan untuk mengukur kandungan melanoidin dalam ekstrak kopi robusta sangrai dan larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai. Produk reaksi *browning* (melanoidin yang berwarna coklat) diukur pada panjang gelombang 420 nm menggunakan spektrofotometer (Bartel *et al.* 2015).

j. Total Polifenol

Kandungan total polifenol ditentukan dengan mengacu pada metode *folin ciocalteu* seperti yang dijabarkan dalam penelitian Singleton *et al.* (1965). Sebanyak 0,1 ml ekstrak kopi robusta sangrai dan larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan akuades hingga volume 5 ml, selanjutnya 0,5 reagen *folin ciocalteu* ditambahkan, berikutnya divortek dan didiamkan selama 5 menit. Sebanyak 1 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7%) ditambahkan ke dalam larutan kemudian divortek. Campuran didiamkan pada ruang gelap selama 60 menit. Absorbansi diukur menggunakan UV VIS spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm. Kandungan senyawa polifenol dihitung dengan menggunakan kurva standar yang dibuat dari asam galat pada beberapa konsentrasi. Kandungan senyawa polifenol dinyatakan dalam mg asam galat per ml (mg GAE/ml), GAE = *galic acid equivalent*.

k. Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan tiga metode yaitu metode DPPH (2,2-diphenil 1-picylhdazyl), FRAP (*Ferric Reducing Antioksidan Power*) dan radikal hidroksil ( $\text{OH}^0$ ).

### 1. Metode DPPH

Penentuan aktivitas antioksidan metode DPPH mengacu pada metode dari Yamaguchi *et al.* (1998). Sebanyak 0,05 ml larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi DPPH (300  $\mu\text{M}$ ) sebanyak 3 ml kemudian dilakukan penambahan metanol 2,95 ml. Tabung reaksi kemudian divortek dan dilakukan pendiaman selama 30 menit. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity/TEAC* (mmol TE/ml), TE = *trolox equivalent*.

### 2. Metode FRAP ( *Ferric Reducing Antioxidant Power* )

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  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Pembuatan larutan FRAP dilakukan dengan mencampur 25 ml buffet asetat; 2,5 ml larutan TPTZ dan 2,5 ml  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Larutan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Sampel sebanyak 0,05 mL direaksikan dengan 2950  $\mu\text{L}$  larutan FRAP dan dibiarkan selama 30 menit dalam keadaan gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 593 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam mmol TE/ml, TE = *trolox equivalen*. Kurva standar dibuat dalam beberapa konsentrasi trolox.

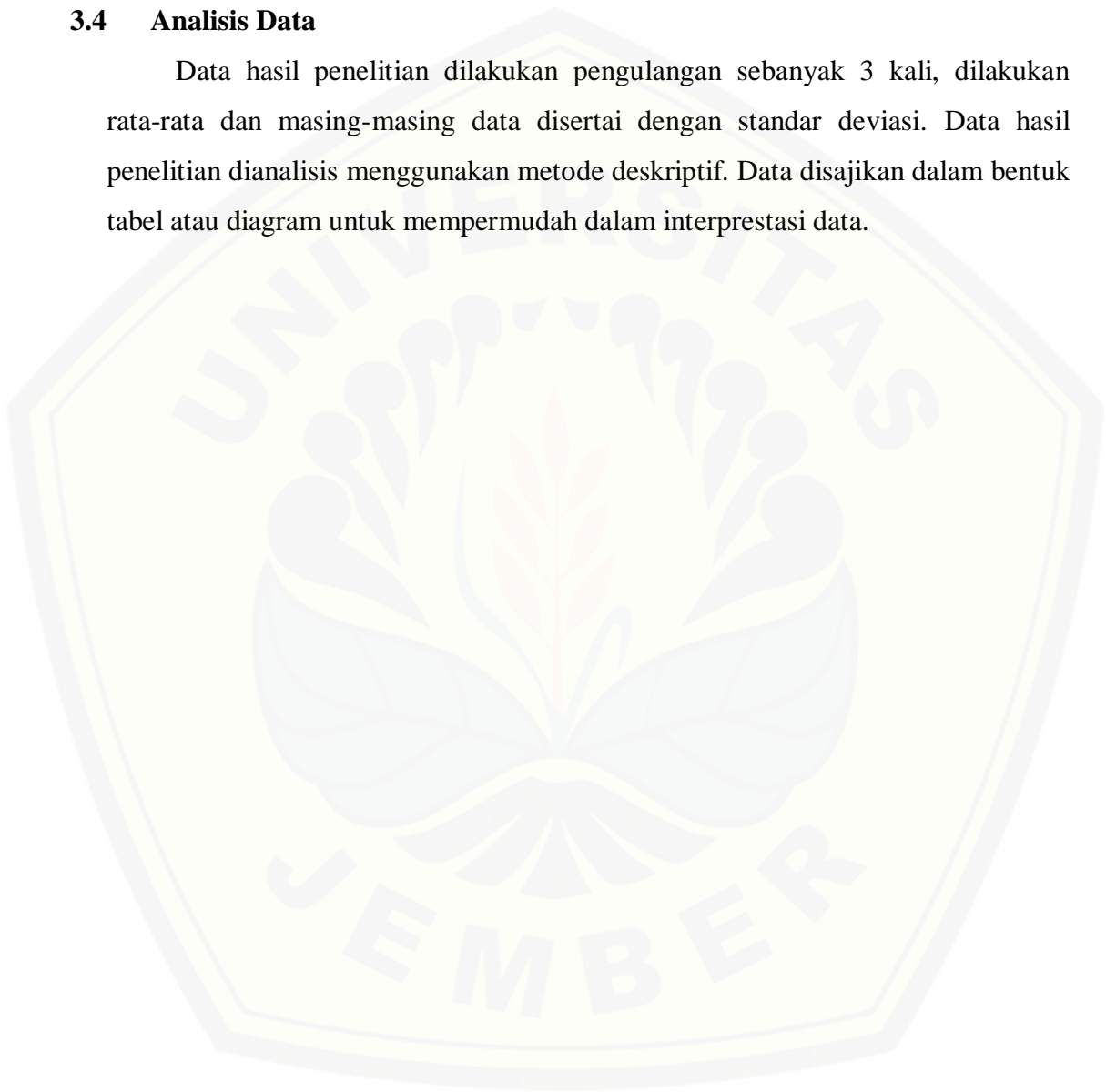
### 3. Metode Radikal OH

Penentuan aktivitas antioksidan metode *scavenging* radikal hidroksil (OH) mengacu pada metode Halliwell *et al.* (1987). Larutan nanopartikel sebanyak 0,05 mL dan buffer fosfat sebanyak 0,05 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan 690  $\mu\text{L}$  *deoxyribose* 2,5 mM (dalam 10 mM *buffer phospat* pH 7,4), 100  $\mu\text{L}$  campuran EDTA (1,04 mM)-*iron ammonium sulfat* (1,0 M), dan 200  $\mu\text{L}$  asam askorbat (1 mM) dan 50  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  (0,1 M), dan dilakukan homogenisasi dengan menggunakan vortek. Campuran diinkubasi pada *waterbath* dalam suhu 37°C selama 10 menit. Setelah itu 1 mL TCA (2,8%) dan 0,5 mL TBA (1%) ditambahkan pada campuran yang telah diinkubasi. Campuran kembali dipanaskan pada air yang mendidih didalam penangas air selama 8 menit.

Campuran yang telah dingin diukur absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam mmol TE/ml, TE = *trolox equivalen*. Kurva standar dibuat dalam beberapa konsentrasi trolox.

#### **3.4 Analisis Data**

Data hasil penelitian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali, dilakukan rata-rata dan masing-masing data disertai dengan standar deviasi. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan metode deskriptif. Data disajikan dalam bentuk tabel atau diagram untuk mempermudah dalam interpretasi data.



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Peningkatan konsentrasi kitosan dan penambahan ekstrak kopi robusta dalam preparasi sintesis larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai dapat meningkatkan kandungan total polifenol, melanoidin, ukuran dan distribusi partikel, namun dapat menurunkan persen efisiensi enkapsulasi.
2. Formulasi terpilih larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai yaitu formula dengan konsentrasi kitosan 0,1% dengan penambahan ekstrak kopi sebanyak 0,3 mL. Karakteristik dari formula terbaik memiliki pH 5,32, efisiensi enkapsulasi 37,51%, ukuran partikel 316,47 nm, indeks polidispersitas 0,47, melanoidin 0,87 AU, kandungan total polifenol 0,75 mg GAE/mL, serta aktivitas antioksidan 0,089 mmol TE/mL (metode DPPH), 0,12 mmol TE/mL (metode FRAP), dan 0,034 mmol TE/mL (metode OH Radikal). Larutan nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai berdasarkan nilai zeta potensial <math><30\text{ mV}</math> memiliki kestabilan yang rendah dan mudah membentuk agregat.

### 5.2 Saran

1. Penggunaan metode pengujian efisiensi enkapsulasi yang lebih baik
2. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai pengaruh tingkat keasaman terhadap karakteristik fisik dan kimia nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta.
3. Perlu dilakukan pengujian stabilitas nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai.



DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis*. 18th edition. Association of Official Analytical Chemist. Washington DC, USA
- Abdassah, M. 2017. Nanopartikel dengan Gelasi Ionik. *Jurnal Farmaka Farmasi Universitas Padjadjaran*, 15 (1).
- Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., Chyatte, M.R. 2015. Unique View on Male Infertility Around te Globe. *Journal of Reproductive Biology and Endocrinology*. 13(37): 1186-1295.
- Agbor, G.A., Vinson, J.A., & Donnelly, P.E. 2014. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *Intl. J. Food Sci. Nutr. Diet*. 3(8): 147-156.
- Ali, D.Y., Darmadji, P., dan Pranoto, Y. 2014. Optimasi Nanoenkapsulasi Asap Cair Tempurung Kelapa dengan *Response Surface Methodology* dan Karakterisasi Nanokapsul. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*.25(1): 1979-7788.
- Ambarsari. 2013. Aktivitas Antioksidan Teh Daun Alpukat (*Persea americana Mill*) dengan Variasi Teknik dan Lama Pengeringan. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Arnelia. 2002. Fito-Kimia Komponen Ajaib Cegah PJK, DM, dan Kanker. <http://Puslitbangbogor.go.id>
- Avadi, M.R., Assal, M.M.S., Nasser, M., Saideh, A., Fatemeh, A., Rassoul, D., and Morteza, R. 2010. Preparation and Characterization of Insulin Nanoparticle Using Chitosan and Arabic Gum with Ionic Gelation Method. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 6(1): 58-63.
- Azizah, A.H., Wee, K.C., Azizah, O., Azizah, M. 2009. Effect of Boiling and Stir Frying on Total Phenolics, Caratenoids and Radical Scavenging Activity of Pumpkin (*Cucurbita moschato*). *International Food Research Journal*. 16: 45-51.
- Baihakki, Feliatra, Thamrin, W. 2015. Extraction of Polyphenol From *Sargassum sp.* and Its Entrapsment in the Nanochitosan. *Jurnal Online Farmaka* , Universitas Riau.

- Bailey, M.E., Won. U.K. 1992. *Maillard Reaction and Lipid Oxidation*. Di dalam: Angelo AJS. *Lipid Oxidation in Food*. ACS symposium series. New York: August 25-30.
- Benzie, I.F. dan Strain, J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.
- Bhardwaj, V., dan Kumar, M.N.V.R. 2006. Polymeric Nanoparticels for Oral Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 187(2): 143-152.
- Bhumkar, D.R., and Pokharkar V.B. 2006. Studies on Effect of pH on Cross-Linking of Chitosan with Sodium Tripolyphosphate: a Technical Note. *AAPS PharmSciTech*, p.E5.
- Bolton, S. 1997. *Pharmaceutical Statistics : Practical and Clinical Applications* 3rd Ed. New York: Marcel Dekker Inc. 610-619.
- Boonsongrit, Y., Ampol, M., dan Bernd, W.M. 2006. Chitosan Drug Binding by Ionic Interaction. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 62: 267-274.
- Buffo, R. A. & Cardelli-Freire, C. 2004. Coffee flavour: an overview. *Flavour and Fragrance Journal* 19(2), 99-104.
- Carelsen, M.H., harvorsen, B.L., Hlte, K., Bohn, S.K., Dragland, S., Sampson, L., Willey, C., Senoo, H., Umezono, Y., Sanada, C., Barikmo, I., Berhe, N., Willet, W.C., Phillips, K.M., Jacobs, D.R., & Blomhoff, R. 2010. The Total Antioxidant Content of More Than 2100 Foods, Beverages, Spices, Herbs, and Supplements Used Worldwide. *Nutrition Journal*. 9(3):1475-2891.
- Castelnuovo, A.D., Giuseppe, R.D., Iacoviello, L., & Gaetano, G.D. 2012. Consumption of Cocoa, Tea and Coffe and Risk Cardiovascular Disease. *European Journal of Internal Medicine*. 23(1): 15-25.
- Chabib, L., Viren, R., Dimas, A.P., Zullies, I., Ronny, M., Hilda, I. 2012. Formulasi Snedds (Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System) Gamavuton ; Uji Aktivitas Penurunan Sitokinin TNF- $\alpha$ . *Prosiding Penelitian Seminar Nasional Seri 6*. 200-2009.
- Chithrani, B., Chan, W. 2007. Elucidating the Mechanism of Cellular Uptake and Removal of Protein-coated Gold Nanoparticles of Different Size and Shapes. *Nano Letters*. 6(7):1542-1550.
- Cicco. N, and Vincenzo. L., 2011. The Influence of Initial Carbonate Concentration on the Folin-Ciocalteu Micro-Method for the Determination

of Phenolics with Low Concentration in the Presence of Methanol: A Comparative Study of Real-Time Monitored Reactions. *American Journal of Analytical Chemistry*. 2: 840-848.

Ciptaningsih E. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Fitokimia pada Kopi Luwak Arabika dan Pengaruhnya Terhadap Tekanan Darah Tikus Normal dan Tikus Hipertensi. *Tesis*. Departemen Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia.

Clifford, M.N. dan K.C. Willson. 1985. *Coffee Botany Biochemistry and Production of Beans and Beverage*. The AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.

Creswell, J., Clifford, Ollaf, A.R., Malcolm, C. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa organik*. Bandung (ID): ITB.

de Oliveira, A.M.F., Pinheiro, L.S., Pereira, C.K.S., Matias, W.N., Gomes, R.A., Chaves, O.S., de Souza, M., de Almeida, R.N., de Asis, T.S. 2012. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Malvaceae Family Species. *Antioxidant*. 1: 33-43

Dedin, F.R. 2006. Penurunan Kadar Asam Amino Lisin dalam Kecap Manis Akibat Reaksinya dengan Senyawa Karbonil dalam Reaksi Mailard. *Jurnal teknologidan industri pangan*, Vol XVII, No 3 (2006).

Dudhani, A.R. dan Kosaraju, S.L. 2010. Bioadhesive Chitosan Nanoparticles: Preparation and Characterization. *Carbohydrate Polymers*. 81: 243–251.

Dutta, D., Utpal, R., and Runu, C. 2004. Retention of Beta-Caroten in Frozen Carrots Under Varying Conditions of Temperature and Time of Storage. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 4 (1). 102-108.

Emmawati, A., Betty, S.L., Yusro, N.F. Kombinasi Perendaman dalam Natrium Hidroksida dan Aplikasi Kitin Deasetilase Terhadap Kitin Kulit Udang untuk Menghasilkan Kitosan dengan Berat Molekul Rendah. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol 3(1).

Farah, Adriana. 2012. *Coffe: Emerging Health Effects and Disease Prevention, First Edition*. John Willey & Sons, Inc and Institute of Food Technologists (USA) : Willey-Blackwell Publishing Ltd.

Farhaty, N. 2017. Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat Pada Biji Kopi. *Jurnal Farmaka*. 4(3): 1-19.

- Freitas C, Muller RH. 1998. Effect of Light and Temperatur on Zeta Potential and Physical Stability in Solid Lipid Nanoparticle (SLN<sup>TM</sup>) Dispersion. *Intl J Pharm*, 168:221-229.
- Gan Q., dan Tao, W. 2007. Chitosan Nanoparticle as Protein Delivery Carrier-Systematic Examination of Fabrication Conditions for Efficient Loading and Release. *Colloids and Surfaces*. 59: 24-34.
- Gardjito dan Rahardian, D.A. 2011. *Kopi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Gordon, M.H. 1990. The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro. *Food Antioxidants*. 1-18.
- Grenha, A., Gomes M.E., Rodrigues, M., Santo, V.E., Mano, J.F., Neves, N.M., Reis, R.L. 2009. Development of New Chitosan/Carrageenan Nanoparticles for Drug Delivery Applications. *J. Biomed. Material Res. Part A*.
- Gunalan, G., Mayla., N dan Bhalabaskar, R. 2012. *In vitro Antioxidant Analysis of Selected Coffee Bean Varieties. Department of Biochemistry*. SRM Arts and Science College, Kattankulathur, Kanchipuram District, Tamil Nadu, India.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Arouma, O.I., 1987. The Deoxyribose Method: A Simple Test Tube Assay for The Determination of Rate Constants for Reactions of Hydroxyl Radicals. *Anal. Biochem*. 165, 215-219.
- Hecimovic, I., Cvitanovic, A.B., Horzic, D., & Komes, D. 2011. Comparative Study of Polyphenols and Caffeine in Different Coffe Varieties Affected by the Degree of Roasting. *Food Chemistry*. 129(3): 991-1000.
- Hejazi, R., Amiji M. 2003. Chitosan Based-Gastrointestinal Delivery System. *J. Cont. Release*. 89: 151-65.
- Higdon, J.V., Frei, B. 2006. Coffee and Health: A Review of Recent Human Research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46:101–123.
- Hosttetmann, K., Hostettmann, M., & Marston, A. 1986. *Cara Kormatografi Preparatif Penggunaan pada Isolat Senyawa Alam*. Alih bahasa: Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Hu, B., Chenliang, P., Yi, S., Zhiyun, H., Hong, Y., Bing, H., and Xiaoxiong, Z. 2008. Optimization of Fabrication Parameters To Produce Chitosan-Tripolyphosphate Nanoparticles for Delivery of Tea Catechins. *J. Agric. Food Chem*. 56: 7451-7458.

- Ibezim, E.C., Andrade, C.T., Marcia, C., Barretto, B., Odimegwu, D.C., Lima, F.F.D. 2011. Ionically Cross-Linked Chitosan/Tripolyphosphate Microparticles for The Controlled Delivery of Pyrimethamine. *Ibnosina Journal of Medicine & Biomedical Sciences*. 3(3): 77-88.
- Ibezim, E.C., Esimone, C.O., Nnamani, P.O., Onyishi, I.V., Brown, S.A., & Obodo, C.E. 2006. In Vitro Study of the Interaction Between Some Fluoroquinolones and Extracts of Kola nitida Seed. *African Journal of Biotechnology*. 5 (19), 1781-1784.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi: Menguk Dunia Mikroorganisme* Jilid 2. Bandung: CV. Yrama Widya.
- Iswandana, R., Anwar, E., Jufri, M. 2013. Formulasi Nanopartikel Hidroklorida dari Kitosan dan Natrium Tripolifosfat dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol 6. No 4.
- Jonassen, H. 2014. Polysaccharide Based Nanoparticles for Drug Delivery Applications. *Thesis School of Pharmacy*. Faculty of Matematics and Natural Sciences, University of Oslo.
- Jonassen, H., Treves, A., Kjoniksen, A.L., Smistad, G., Hiorth, M. 2013. Preparation of Lonically Croos-Linked Pectin Nanoparticles in the Presence of Chlorides of Divalent and Monovalent Cations. *Biomacromolecules* 2013. (14) 3523-3531.
- Jumadi, S. dan Sari, A.A. 2014. *Pembuatan dan Karakterisasi Plastik Biodegradable dari Campuran Onggok Singkong Poli Asam Laktat Menggunakan Metode Solution Casting*. Program Studi Kimia, FMIPA Universitas Lampung.
- Kafshgari, M.H., Mohammad, K., Mobina, K., Sahar, K. 2010. Reinforcement of Chitosan Nanoparticles Obtained by An Ionic Cross-Linking Process. *Iranian Polymer Journal*. 20 (5): 445-456.
- Kailaku, S.I., Ira, M., Andi, N.A. 2013. Formulation of Nanocapsulated Catechin with Chitosan as Encapsulation Material. *Procedia Chemistry* 9 (2014), 235-241.
- Katas, H., Hussain, Z., dan Ling, T.C. 2012. Chitosan Nanoparticles as a Percutaneous Drug Delivery System for Hydrocortisone. *Journal of Nanomaterials*.

- Kharia, A.A., Singhai, A.K., Verma, R. 2012. Formulation and Evaluation of Polymeric Nanoparticles of an Antiviral Drug for Gastroretention. *Int. J. Of Pharmaceutical Sci. And Nanotechnology*, Vol.4, Issue 4.
- Kim, D.G., Young, I.J., Mi, K.J., Jun, K.P., Hak, S.J., Min, J.J., Joong, K.K., Dong, H.S., Jae, W.N. 2006. Preparation and Characterization of Retinol-Encapsulated Chitosan Nanoparticle. *J. App. Chem.*10:65-68.
- Ko, J.A., Hwang, S.J., Park, J.B., Lee, J.S. 2002. Preparation and Characterization of Chitosan Microparticles Intende for Controlled Drug Delivery. *Int. J. Pharm*, p. 165-174.
- Kumar, M.N.V.R. 2000. A Review of Chitin and Chitosan Applications. *Reactive and Futional Polymer*, Vol 46, 1-27.
- Kurniawan, D.H., dan Sulaiman, T.N.S. 2009. *Teknologi Sediaan Farmasi*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Kustiyah, L.1985. Mempelajari Beberapa Karakteristik Kopi Bubuk dari Berbagai Jenis Cacat Biji Kopi. *Skripsi*. Jurusan Teknologi Industri Pertanian Bogor, FATETA-IPB, Bogor.
- Laili, H.N., Lina, W., Lusya, O.R.K.S. 2014. Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan-Naringenin dengan Variasi Rasio Massa Kitosan-Natrium Tripolifosfat. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2(2).
- Laili, Matien, R., Adhyatmika, Farida, V. 2014. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Jurnal Farmaseutik*. 8(1): 133-144.
- Lingga, L. 2012. *Bebas Hipertensi Tanpa Obat*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Liu, X., Ma, L., Mao, Z., Gao, C. 2011. *Chitosan-Based Biomaterials For Tissue Repair and Regeneration, Chitosan For Biomaterials II*. Heidelberg: Springer Berlin.
- Longmi, F., Shin, S.S., Tsung, B.W., Shiang, F.J., Sung, T.L., Kai, T.L.1999. Chitosan-Polyelectrolyte Complexation for the Preparation of Gel Beads and Controlled Release of Anticancer Drug. II. Effect of pH- Dependent Ionic Crosslinking or Interpolymer Complex Using Tripolyphosphate or Polyphosphate as Reagent. *J. Of App. Polymer Science*, Vol 74.
- Mardiyati, E., Sjaikhurrizal, E.M., Damai, R.S., Indah, R., Sriningsih. 2012. Preparasi dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan Sebagai Sistem Penghantaran Insulin Secara Oral. *Prosiding InSINas 2014*. 25-30.

- Marinova, G., dan Batchvarov, V. 2011. Evaluation of The Methods for Determination of The Free Radical Scavenging Activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 17(1): 11-24.
- Martien, R., Loretz, B., Sandbichler, A.M., Bernkop-Schnürch, A. 2008. Thiolated Chitosan Nanoparticles: Transfection Study in the Caco-2 Differentiated Cell Culture. *J. Nanotech*. 19: 1-9.
- Mi, F.L., Shyu, S.S., Lee, S.T., Wong, T.B. 1999. Kinetic Study of Chitosan-Triphosphate Complex Reaction and Acid-Resistive Properties of the Chitosan-Triphosphate Gel Beads Prepared Byin-Liquid Curing Method. *J Polym Sci*. 37:1551-1564.
- Mohanraj, V.J., & Chen, Y. 2006. Nanoparticle- A Review. *Tropical J. Of Pharmaceutical Research*. 5 (1), 561-573.
- Mukaromah, U. Susetyorini, S.H., Aminah, S. 2010. Kadar Vitamin C, Mutu Fisik, pH dan Mutu Organoleptik Sirup Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Berdasarkan Cara Ekstraksi. *Jurnal Pangan dan Gizi*. Vol 1(1):43-51
- Murdock, R.C., Braydich-Stole, L., Schrand, A.M., Schlager, J.J., Hussain, S.M. 2008. Characterization of Nanomaterial Dispersion in Solution Prior to In Vitro Exposure using Dynamic Light Scattering Tehnique. *Toxicol Sci*. 101(2): 239-253.
- Muzarelli, R.A.A., Peter, M.G. 1997. *Chitosan Handbook*. Grottammare: European Chitin Society
- Najiyati, S., dan Danarti. 2001. *Kopi : Budidaya dan Penanganan Pascapanen*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Namjooyan, F., Azemi, M.E., Rahmanian, V.R. 2010. Investigation of Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Various Fractiobs of Arial Parts of *Pimpinella barbata* (PD) Boiss. *JJNPP*. 5 (1): 1-5
- NanoComposix. 2012. *Zeta Potential Analysis Of Nanoparticles*. San Diego: NanoComposix.
- Nidhin, M., Indumathy, R., Sreeram, K.J., Nair, B., U. 2008. Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles of Narrow Size Distribution on Polysaccharide Templates. *Buletin. Mat. Sci*. 31 (1), 93-96.
- Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., Delikanli, B. 2014. Phenolics in Human Health. *Intr. J. Chem. Of Engineer. & Appl*. 5 (5): 393-396

- Padda, M.S., Picha, D.H. 2008. Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Different heat-Processed Forms of Sweetpotato cv. 'Beuargard'. *IJFST*. 43: 1404-1409
- Panggabean, Edy. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Jakarta Selatan: PT Agro Media Pustaka hlm 124-132.
- Patil, P., Chavamke, D., Wagh, M. 2012. A Review on Iontropic Gelation Method: Novel Approach for Controlled Gastroretentive Gelispheres. *Int. J. Of Pharm. And Pharmaceutical Sci.*. Vol. 4.
- Pokorny, J., N. Yanishlieva. and M. Gordon. 2001. *Antioxidant In Food*. New York: CRC Press Boca Raton Boston.
- Prasertsung, I., Damrongsakkul, S., and Saito, N., 2013. Degradation of b-Chitosan by Solution Plasma Process ( SPP ). *Polymer Degradation and Stability*, 98(10), pp.2089–2093.
- Rachmania, D. 2011. Karakteristik Nano Kitosan Cangkang Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan Metode Gelasi Ionik. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 24-26.
- Racovita, S., Vasilium S., Popa, M., Luca, C. 2009. Polysaccharides Based on Micro-and Nanoparticles Obtained by Ionic Gelation and Their Application as Drug Delivery Systems. *Revue Roumaine de Chimie*. 54(9); 709-718.
- Rahardjo, Pudji. 2012. *Kopi Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Ramachandran, T., Koushik, C.V., Rajendran, R., Mahalakhsmi, M. 2010. Preparation and Characterization of Zinc Oxide Nanoparticles and a Study of the Anti-microbial Property of Cotton Fabric Treated with the Particles. *J. Of Textile and Apparel, Technology and Management*, Vol 6.
- Ramalakshmi, K., and Raghavan, B. 2000. Caffeine in Coffee: It's Removal. Why and How ? Critical. *Review in Food Science and Nutrition* 39:441-56.
- Reverchon, E., dan Adami, R. 2006. Nanomaterials and Supercritical Fluids. *J.of Supercritical Fluids*. 37 : 1-22.
- Richelle, M., Tavazzi, I., Offord, E. 2001. Comparison of the Antioxidant Activity of Commonly Consumed Polyphenolic Beverages (Coffee, Cocoa, Tea) Prepared Per Cup Serving. *J. Agric. Food Chem*. 49(7): 3438-3442.



- Sahu, A.K., Kumar, T., Jain, V. 2014. Formulation Optimization of Erythromycin Solid Lipid Nanocarrier Using Response Surface Methodology. *BioMed Res. I.*, Vol. 2014.
- Saika, S., Mahanta, C.I. 2013. Effect of Steaming, Boiling, and Microwaves Cooking on The Total Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Properties of Different Vegetables of Assam, India. *IJFANS*. 2(3): 47-53
- Sapurta, M.A.A. 2015. Hubungan Kadar Pigmen dan Kadar Senyawa Fitokimia Daun Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dengan Aktivitas Antioksidan. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Sato, Yuki., Shirou I., Toshimitsu K., Jiro O., Masaki K., Takeshi H. 2011. In Vivo and In Vitro Antioxidant Properties of Chlorogenic Acid and Caffeic Acid. *International Journal of Pharmaceutics*. 403(1-2): 136-138.
- Schlüsselwörter . 2001. Influence of the Temperature by Roasting Sesame on Flavour and Antioxidative Characteristics of the Oil. *Tesis* .
- Sharma, R., Ahuja, M., & Kaur, H. 2012. Thiolated Pectin Nanoparticles: Preparation, Characterization and Ex-vivo Corneal Permeation Study. *Carbohydrate Polymers*, Vol. 87(2): 1606-1610.
- Shi, L., & Gunasekaran, S. 2008. Preparation of Pectin-ZnO Nanocomposite. *Nanoscale Res. Lett.* 3:491-495.
- Singh, A., & Deep, A. 2011. Formulation and Evaluation of Nanoparticles Containing Losartan Potassium. *International Journal of Pharmacy Research and Technology*. 1(1): 11-18.
- Singleton, V. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16(3):144-158.
- Smith, J., Wood, E., Dornish, M. 2004. Effect of Chitosan on Epithelial Cell Tight Junctions. *Pharm. Res.* 21(1): 43-9.
- Soppimath, K.S., Aminabhavi, T.M., Kulkarni, A.R., Rudzinski, W.E. 2001. Biodegradable Polymeric Nanoparticles as Drug Delivery Devices. *J. of Controlled Release*, 70:1-20.
- Stocker, R. dan J.F. Keany. 2004. Role Of Oxidative Modifications In Atherosclerosis. *Physiological Review*. 84, 1381-1478.

- Stoica, R., Somoghi, R., Ion, R.M. 2-13. Preparation of Chitosan – Tripolyphosphate Nanoparticles for The Encapsulation of Polyphenols Extracted from Rose Hips. *Dig J Nanomater Bios.* 8(3): 955-963.
- Sugita, P., Napthaleni, Mersi, K., Tuti, W. 2010. Enkapsulasi Ketoprofen dengan Kitosan-Alginat Berdasarkan Jenis dan Ragam Konsentrasi Tween 80 dan Span 80. *Makara Sains*, 14(2), 107-112.
- Sukohar, Asep., Setiawan., Firman F.W., Herry S.S. 2011. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Sitotoksik Kafein dan Asam Klorogenat dari Biji Kopi Robusta Lampung. *Jurnal Medika Planta.* 1(4): 12-26.
- Suptijah PE, Salamah H, Sumaryanto S, Purwaningsih S, Santoso J. 1992. Pengaruh Berbagai Isolasi Khitin Kulit Udang terhadap Mutunya. *Laporan penelitian.* Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor.
- Susan, Hall., Ben D., Shailendra A., Andrew K., Devinder A., Catherine M. 2015. A Review of the Bioactivity of Coffee, Caffeine and Key Coffee Constituents on Inflammatory Responses Linked to Depression. *Food Research International.* 76(3) :626-636.
- Sutarsi, Elisa, R., Taruna, I. 2016. Penentuan Tingkat Sangrai Kopi Berdasarkan Sifat Fisik Kimia Menggunakan Mesin Penyangrai Tipe Rotari. *Prosiding Seminar Nasional APTA.*306-312.
- Swarbrick, J. 2007. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology 3<sup>rd</sup> Ed*, volume 4. North Carolina: Informa Healthcare USA, 2317.
- Tan Hoan dan Kirana Rahardja. 2007. *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya Edisi Keenam.* Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Tiyaboonchai W., 2003, Chitosan Nanoparticles: A Promising System for Drug Delivery, *Naresuan Univ. J.* 11(3): 51-66.
- Tranggono dan Sutardi. 1990. *Biokimia dan Teknologi Pasca Panen.* Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Tsai, M.L., Bai, S.W., Chen, R.H. 2008. Carbohydr. *Polym*, 71. 448-457.
- Vandenberg, G.W., Drolet, C., Scott, S.L., de la, N.J. 2001. Factors Affecting Protein Release From Alginate-Chitosan Coacervate Microcapsules During Production and Gastric/Intestinal Simulation. *J.Control Release.* 77(3): 297-307.

- Varnam, H.A. & Sutherland, J. P. 1994. *Beverages (Technology, Chemistry and Microbiology)*. London: Chapman and Hall.
- Vaughn, J.M., dan Williams, R.O. 2007. *Nanoparticle Engineering*. In Swarbrick. James. *Encyclopedia of Pharmaceutica Technology Third Edition*. Vol 1. New York: Nova Science Publisher, 48.
- Vllasaliu, D., Exposito-Harris, R., Heras, A., Casettari, L., Garnett, M., Illum, L., dan Stolnik, S. 2010. Tight Junction Modulation Bychitosan Nanoparticles: Comparison with Chitosan Solution. *Int. J. of Pharm.* 400(1-2):183-193.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. diterjemahkan oleh Soendari Noerono. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Widyastuti, N. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor
- Wijaya, D.P. 2013. Preparasi Nanopartikel Sambung Silang Kitosan-Tripolifosfat yang Mengandung Ginsenosida. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Wilczewska, A.Z., K. Niemirowicz, K.H. Markiewicz, and H. Car. 2012. Nanoparticles as Drug Delivery Systems. *Pharmacological Reports*. 64, 1020-1037
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wiranata, R. 2016. Pengaruh Tingkat Penyangraian Terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Kopi Robusta (*Coffea canephora*. L). *Thesis*. Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Wu, Y., Yang, W., Wang, C., Hu, J., Fu, S.. 2005. Chitosan Nanoparticles as a Novel Delivery System for Ammonium Glycyrrhizinate. *Int J Pharm* 295 (1-2). 235-245.
- Wulandary, T. 2010. Sintesis Nanopartikel Ekstrak Temulawak (*Curcumanthorrhiza Roxb.*) Berbasis Polimer Kitosan, TPP dengan Metode GelasiEmulsi. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. InstitutPertanian Bogor.
- Xu, B., Chang, S.K.C. 2008. Effect of Soaking, Boiling, Steaming on Total Phenolic Content and Antioxidant Activities of Cool Season Food Legumes. *Food Chem.* 100: 1-13

- Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., Terao, J. 1998. HPLC Method for Evaluation of the free Radical-scavenging Activity of Foods by Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, *Biosci. Biotechnol. Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62 (6), 1201-1204.
- Yashin, A., Yakov, Y., Jing, Y.W., Boris, N. 2013. Review: Antioxidant and Antiradical Activity of Coffee. *Journal Antioxidants.* 2013(2), 230-245.
- Yusianto., Dwi N. 2014. Mutu Fisik dan Citarasa Kopi Arabika yang Disimpan Buahnya Sebelum di-Pulping. *Pelita Perkebunan.* 30(2) : 137-158.
- Yuwono, T., Annas, B., Renni, P. 2015. Pengembangan Preparasi Nanopartikel Thymoquinone-Kitosan dengan Metode Kosolven Menggunakan Isopropil Alkohol. *Jurnal Pharmacia*, 5(2): 121-1130.
- Zhang, H., Oh, M., Allen, C., Kumacheva, E. 2004. Monodisperse Chitosan Nanoparticles for Mucosal Drug Delivery. *Biomacromol.* 5: 2461-2468.
- Zhang, H.H., Wu, S., Tao, Y., Zang, L., and Su, Z. 2010. Preparation and Characterization of Water-Soluble Chitosan Nanoparticles as Protein Delivery System. *Journal of Nanomaterials.* 2010 : 1-5.

**Lampiran A.** Karakteristik ekstrak kopi robusta sangrai**Lampiran A.1.** Kandungan total polifenol

Sampel	Ulangan	mg GAE/mL	Rata-rata	Stdev	RSD
Kopi robusta sangrai	1	17,12	17,58	0,502	2,86
	2	17,50			
	3	18,12			

**Lampiran A.2.** pH

Sampel	Ulangan	Nilai pH	Rata rata	Stdev	RSD
Kopi robusta sangrai	1	6,21	6,23	0,02	0,32
	2	6,23			
	3	6,25			

**Lampiran A.3.** Derajat brix

Sampel	Ulangan	Nilai Brix	Rata rata	Stdev	RSD
Kopi robusta sangrai	1	29	29	0	0
	2	29			
	3	29			

**Lampiran A.4.** Melanoidin

Sampel	Ulangan	Nilai absorbansi (AU)	Rata rata	Stdev	RSD
Kopi robusta sangrai	1	1,37	1,36	0,01	0,48
	2	1,36			
	3	1,35			

**Lampiran A.5.** Rendemen (sanpel kering)

Sampel	Ulangan	Rendemen (%)	Rerata	Stdev	RSD
Kopi robusta sangrai	1	7,18	7,24	0,10	1,35
	2	7,313			

**Lampiran A.6.** Aktivitas antioksidan metode DPPH

Sampel	Ulangan	Aktivitas antioksidan (mmol TE/mL)	Rata rata	Stdev	RSD
Kopi robusta sangrai	1	7,84	7,78	0,07	0,88
	2	7,79			
	3	7,75			

**Lampiran B.** Karakterisasi nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai pada berbagai formula

Lampiran B.1. Melanoidin

Kitosan (%)	Ekstrak kopi robusta sangrai (mL)	Ulangan	Nilai absorbansi (AU)	Rerata	Stdev	RSD	
0,1	0,1	1	0,26	0,27	0,01	4,64	
		2	0,28				
		3	0,26				
	0,2	0,2	1	0,47	0,48	0,01	1,76
			2	0,49			
			3	0,49			
	0,3	0,3	1	0,70	0,70	0,01	1,96
			2	0,68			
			3	0,71			
	0,4	0,4	1	0,94	0,94	0,01	0,90
			2	0,93			
			3	0,94			
0,2	0,1	1	0,26	0,26	0,01	4,58	
		2	0,27				
		3	0,25				
	0,2	0,2	1	0,57	0,57	0,01	1,49
			2	0,58			
			3	0,56			
	0,3	0,3	1	0,73	0,73	0,00	0,55
			2	0,74			
			3	0,73			
	0,4	0,4	1	1,05	1,07	0,02	1,89
			2	1,07			
			3	1,09			

Lampiran B.2. Kandungan total polifenol

Kitosan (%)	Ekstrak kopi robusta sangrai (mL)	Ulangan	Total polifenol (mg GAE/mL)	Rerata	Stdev	RSD	
0,1	0,1	1	0,32	0,33	0,01	2,18	
		2	0,34				
		3	0,34				
	0,2	0,2	1	0,53	0,53	0,01	1,14
			2	0,54			
			3	0,54			
	0,3	0,3	1	0,80	0,80	0,01	0,78
			2	0,79			
			3	0,80			
	0,4	0,4	1	0,96	0,96	0,01	0,54
			2	0,95			
			3	0,96			
0,2	0,1	1	0,36	0,36	0,00	1,25	
		2	0,37				
		3	0,36				
	0,2	0,2	1	0,58	0,57	0,00	0,83
			2	0,57			
			3	0,57			
	0,3	0,3	1	0,80	0,80	0,01	0,81
			2	0,80			
			3	0,79			
	0,4	0,4	1	0,95	0,97	0,01	1,15
			2	0,98			
			3	0,97			

Lampiran B.3. Efisiensi enkapsulasi

Kitosan (%)	Ekstrak kopi robusta sangrai (mL)	Ulangan	Efisiensi enkapsulasi (%)	Rerata	Stdev	RSD
0,1	0,1	1	38,39	38,06	1,17	3,07
		2	36,77			
		3	39,03			
	0,2	1	39,82	37,86	1,74	4,59
		2	36,51			
		3	37,24			
	0,3	1	37,22	37,67	0,44	1,16
		2	38,09			
		3	37,72			
	0,4	1	18,56	19,14	1,08	5,63
		2	20,38			
		3	18,46			
0,2	0,1	1	30,61	33,96	2,94	8,66
		2	35,15			
		3	36,12			
	0,2	1	28,42	25,17	3,31	13,16
		2	25,29			
		3	21,80			
	0,3	1	25,16	24,09	1,28	5,29
		2	24,42			
		3	22,68			
	0,4	1	24,21	23,61	0,56	2,38
		2	23,10			
		3	23,51			



Lampiran B.4. Ukuran partikel

Kitosan (%)	Sampel Kopi (mL)	Ulangan Sampel	Ukuran Partikel (nm)	Rerata	STDEV	RSD
0,1	0,2	1	348,5	340,23	10,89	3,20
		2	344,3			
		3	327,9			
	0,3	1	313,1	316,47	11,43	3,61
		2	329,2			
		3	307,1			
0,2	0,2	1	342	346,87	20,93	6,03
		2	328,8			
		3	369,8			
	0,3	1	377,3	365,83	14,09	3,85
		2	350,1			
		3	370,1			

Lampiran B.5. Distribusi partikel

Kitosan (%)	Sampel Kopi (mL)	Ulangan Sampel	Ukuran Partikel	Rerata	STDEV	RSD
0,1	0,2	1	0,53	0,51	0,02	3,63
		2	0,51			
		3	0,49			
	0,3	1	0,43	0,47	0,05	11,03
		2	0,45			
		3	0,53			
0,2	0,2	1	0,53	0,51	0,02	3,34
		2	0,49			
		3	0,50			
	0,3	1	0,52	0,49	0,03	6,60
		2	0,50			
		3	0,46			

**Lampiran C.** Karakterisasi nanokitosan terisi ekstrak kopi robusta sangrai formula terpilih

Lampiran C.1. Efisiensi enkapsulasi

Kitosan (%)	Ekstrak kopi robusta sangrai (mL)	Ulangan	Efisiensi enkapsulasi (%)	Rerata	Stdev	RSD
0,1	0,3	1	36,83	36,95	0,79	2,13
		2	37,79			
		3	36,23			

Lampiran C.2. Kandungan total polifenol

Kitosan (%)	Ekstrak kopi robusta sangrai (mL)	Ulangan	Total polifenol (mg GAE/mL)	Rerata	Stdev	RSD
0,1	0,3	1	0,75	0,75	0,00	0,42
		2	0,75			
		3	0,74			

Lampiran C.3. Melanoidin

Kitosan (%)	Ekstrak kopi robusta sangrai (mL)	Ulangan	Nilai absorbansi (AU)	Rerata	Stdev	RSD
0,1	0,3	1	0,87	0,87	0,02	2,83
		2	0,89			
		3	0,84			

Lampiran C.4. pH

Kitosan (%)	Ekstrak kopi robusta sangrai (mL)	Ulangan	Nilai pH
0,1	0,3	1	5,34

## Lampiran C.5. Aktivitas antioksidan metode DPPH

Kitosan (%)	Ekstrak kopi robusta sangrai (mL)	Ulangan	Aktivitas antioksidan (mmol TE/mL)	Rerata	Stdev	RSD
0,1	0,3	1	0,09	0,09	0,00	0,90
		2	0,09			
		3	0,09			

## Lampiran C.6. Aktivitas antioksidan metode FRAP

Kitosan (%)	Ekstrak kopi robusta sangrai (mL)	Ulangan	Aktivitas antioksidan (mmol TE/mL)	Rerata	Stdev	RSD
0,1	0,3	1	0,12	0,12	0,00	1,97
		2	0,12			
		3	0,12			

## Lampiran C.7. Aktivitas antioksidan metode OH radikal

Kitosan (%)	Ekstrak kopi robusta sangrai (mL)	Ulangan	Aktivitas antioksidan (mmol TE/mL)	Rerata	Stdev	RSD
0,1	0,3	1	0,03	0,03	0,00	2,87
		2	0,03			
		3	0,03			