

ISSN: 0216-1192

Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian

Indonesian Journal of Agricultural Postharvest Research

Volume 10
Nomor 2
2013



BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
PASCA PANEN PERTANIAN
BOGOR, INDONESIA

J. Pascapanen	Vol. 10	No.2	Hlm. 58 - 106	Bogor, Desember 2013	ISSN:0216-1192
---------------	---------	------	---------------	----------------------	----------------

Terakreditasi (Accredited) Nomor 395/D/2012

EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL EKSTRAK SIRIH MERAH (*Piper crocatum*)

Kun Tanti Dewandari¹, Sri Yuliani¹, Sedarnawati Yasni²

¹ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor

² Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB Bogor

email : kuntnd@yahoo.com

ABSTRAK

Sirih merah merupakan salah satu tanaman obat yang dapat dimanfaatkan sebagai minuman fungsional, karena mengandung senyawa fitokimia dari golongan alkaloid, flavonoid, dan tanin yang berkhasiat sebagai antihiperlipidemia dan antioksidan. Salah satu kelemahan dalam penyerapan bahan aktif adalah bioavailabilitasnya yang rendah. Salah satu teknologi yang dapat digunakan adalah teknologi nano. Tujuan penelitian ini adalah melakukan ekstraksi sirih merah, sintesis nanopartikel dan karakterisasinya serta mengetahui stabilitasnya pada beberapa kondisi pH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi etanol 96% dengan maserasi memberikan hasil yang terbaik dengan rendemen $7,2 \pm 0,25\%$, kapasitas antioksidan $10892,86 \pm 6,06$ AAE μ g/ml, IC₅₀ sebesar $46,51 \pm 0,05$ AAE μ g/ml serta total fenol $2388,37 \pm 0,3$ mg/100gr dengan komponen volatil utama yaitu sabinen dan mirsen. Konsentrasi kitosan 0,2% dengan rata-rata diameter $197,20 \pm 11,68$ memberikan hasil yang terbaik dengan nilai IP $0,235 \pm 0,03$, zeta potensial $32,75 \pm 2,11$, kapasitas antioksidan $5502,00 \pm 8,48$ AAE μ g/ml, nilai IC₅₀ yaitu $279,10 \pm 0,05$ AAE μ g/ml dan total fenol $568,76 \pm 3,0$ mg/100gr. Enkapsulasi nanopartikel dengan penyalut campuran maltodekstrin dan isolat protein menunjukkan terjadi peningkatan ukuran partikel dimana dengan pengisi maltodekstrin (M) sebesar $8952,7 \pm 2598$ nm dan campuran maltodekstrin dan isolat protein kedelai sebesar $8266,9 \pm 1134,9$ nm. Stabilitas pada beberapa kondisi pH menunjukkan bahwa penurunan persentase total fenol terbesar pada pH basa (6,7,8) dibandingkan pada kondisi pH asam (2,3,4).

Kata kunci : extraction, antioksidan, daun sirih merah, nanopartikel

Abstract. Kun Tanti Dewandari, Sri Yuliani, Sedarnawati Yasni. 2013. **Extraction and Characterization Nanoparticle Red Betel Leaf (*Piper crocatum*).** The potential of anti hyperglycemic properties from red betel leaves water extract is considered promising in preventing and/or treatment process of diabetes, this created a necessity to develop this potential further by using nano-technology to turn the extract into nano-particle that will assist human body to absorb the bioactive compounds easier. The main objective of this research was to extract red betel leaves, nanoparticle synthesis, to study the physical and chemical properties, and to determine the stability in the different of pH. The results showed that 96% ethanol extraction by maceration provides the best results with a yield of $7.2 \pm 0.25\%$, ± 6.06 , antioxidant capacity 10892.86 AAE μ g/ml, IC₅₀ of 46.51 ± 0.05 AAE μ g/ml and total phenol 2388.37 ± 0.3 mg/100gr with the main volatile components mirsen and sabinen. Chitosan concentration of 0.2% with an average diameter of 197.20 ± 11.68 gives the best result with IP value of 0.235 ± 0.03 IP, zeta potential stability of 32.75 ± 2.11 , antioxidant capacity of 5502.00 ± 8.48 AAE μ g/ml, IC₅₀ 279.10 ± 0.05 AAE μ g/ml and total phenol of 568.76 ± 3.0 mg/100gr. Encapsulation of nanoparticles by coating a mixture of maltodextrin and protein isolates showed an increase in particle size where the filler maltodextrin (M) at $8952.7 \pm 2598\mu$ m and a mixture of maltodextrin and soy protein isolate was 8266.9 ± 1134.9 nm. Stability at pH conditions showed that the largest percentage decrease in total phenol alkaline pH than in acidic

Keywords : antioxidant, red betel leaves, nanoparticle.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sumber daya alam yang berlimpah, termasuk tanaman herbal, terutama yang

bermanfaat bagi kesehatan. Salah satu tanaman herbal yang tercatat memiliki manfaat untuk kesehatan adalah sirih merah. Sirih merah diketahui dapat mengobati berbagai macam penyakit,

diantaranya diabetes mellitus¹. Saat ini di Indonesia kecenderungan penggunaan tanaman herbal untuk pengobatan terus meningkat. Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar menyatakan bahwa sebanyak 49,53 persen penduduk Indonesia berusia 45 tahun ke atas mengkonsumsi jamu.

Sirin merah merupakan salah satu tanaman obat yang dapat dimanfaatkan sebagai minuman fungsional, karena mengandung senyawa fitokimia dari golongan alkaloid, flavonoid, dan tanin yang berkhasiat sebagai antihiperlipidemik dan antioksidan. Komponen utama dalam sirih merah adalah monoterpen dan sesquiterpen yang dapat meningkatkan aktivitas monofenolase dan difenolase pada enzim tirosinase². Air rebusan sirih merah dosis 20 g/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan cara memperbaiki kelenjar eksokrin pankreas tikus yang rusak akibat aloksan¹. Penelitian terhadap ekstrak etanol daun sirih menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan, yaitu dapat menghambat oksidasi asam lemak dengan daya hambat terbesar 80,40% pada konsentrasi 200 ppm dan sebagai *radical scavenger* dengan nilai IC_{50} 85,82 ppm³.

Aplikasi nanoteknologi untuk pangan menunjukkan tren yang terus meningkat. Teknologi ini menawarkan keunggulan dalam meningkatkan bioavailabilitas bahan aktif, pengendalian pelepasan bahan aktif serta memperbaiki sifat sensoris. Dalam ukuran nano (50-500 nm), partikel bahan aktif lebih mudah diabsorpsi oleh dinding usus halus sehingga meningkatkan bioavailabilitasnya. Absorpsi bahan aktif meningkat karena kelarutan partikel meningkat dan luas permukaan partikel yang besar. Dalam ukuran nano, partikel juga memiliki waktu tinggal yang lebih panjang karena terjepit dalam lapisan mukosa usus⁴.

Tujuan penelitian ini adalah melakukan ekstraksi sirih merah, sintesis nanopartikel ekstrak sirih merah serta karakterisasi nanopartikel ekstrak sirih merah. Penerapan teknologi nano ini dimaksudkan untuk meningkatkan kemampuan aktivitas fungsional dan bioavailabilitas dari senyawa-senyawa fitokimia sirih merah. Mengacu kepada beberapa hasil penelitian nano partikel *nutraceutical*, seperti propolis, teh hijau maupun curcuma yang menunjukkan bahwa dalam bentuk nano partikel, bioavailabilitas dan sifat fungsional lainnya meningkat secara signifikan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun sirih merah yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bahan kimia untuk ekstraksi yaitu etanol 96%, bahan kimia untuk sintesis nanopartikel yaitu kitosan DD 85%, natrium tripolifosfat (STPP), asam asetat, aquades serta bahan kimia untuk analisa.

Metode

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan meliputi:

1. Ekstraksi senyawa aktif daun sirih merah. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan maserasi (metode dingin) dan refluks (metode panas). Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% dengan perbandingan bahan dan pelarut adalah 1:4. Selama perendaman, dilakukan pengadukan menggunakan *shaker* selama 6 jam, kemudian didiamkan hingga 24 jam. Pada metode refluks dilakukan selama 3 jam dengan suhu 45°C. Setelah itu dilakukan penyaringan untuk mendapatkan filtrat yang kemudian dievaporasi menggunakan buchi rotavapor R-114 hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan uji fitokimia dan pengujian kapasitas antioksidan⁵, total fenol⁶, penghitungan IC 50 serta analisis senyawa volatil dengan menggunakan GC-MS Agilent 7890A⁷.
2. Karakterisasi nanopartikel menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) DelsaNano C Beckman Coulter. Karakterisasi meliputi ukuran partikel, distribusi ukuran nanopartikel yang dinyatakan sebagai indeks polidispersitas (IP) dan zeta potensial⁸. Kitosan sebanyak 0,2gr dilarutkan dalam asam asetat 0,2% (b/v), distirer selama 24 jam untuk penyempurnaan larutan. Kemudian saring dengan kertas Whatman. Larutan STPP dibuat dengan mencampurkan 0,2 gram STPP ke dalam 100 ml aquadest dan distirer selama 2 jam. Tahap berikutnya adalah pembuatan nanopartikel ekstrak sirih merah. Sebanyak 30gr larutan kitosan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* fisher scientific dengan kecepatan 350rpm. Setelah pengadukan homogen kemudian dilakukan penambahan sodium tripolifosfat (STPP) sebanyak 6 gr. Setelah pencampuran sempurna, kemudian dilakukan penambahan ekstrak sirih merah sebanyak 1 gr⁹.
3. Nanopartikel terbaik kemudian diencapsulasi menggunakan *spray dryer* LabPlant SD-05 dengan bahan pengisi maltodekstrin dan isolat protein kedelai. Komposisi yang digunakan adalah 100% maltodekstrin (M) dan kombinasi

80% maltodekstrin, 20% isolat protein kedelai (MISP). Produk yang diperoleh kemudian dianalisis morfologi dengan menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM-EDS JEOL-JSM 6510 AL). Sebelum dianalisis, sampel diberi lapisan emas menggunakan alat *gold sputter coater* pada kondisi vakum. Sampel tersebut ditempatkan pada mikroskop SEM dan diamati pada voltase akselerasi 20 Kv¹⁰. Gambar yang diperoleh kemudian direkam dan dicetak. Setelah itu dilakukan pengujian stabilitas pada beberapa kondisi pH selama 7 hari penyimpanan¹¹. Data penyimpanan yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan ANOVA pada tingkat kepercayaan 95% dengan uji lanjut Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Ekstraksi Sirih Merah

Ekstraksi dilakukan untuk mendapatkan senyawa aktif yang terdapat dalam sirih merah. Pemilihan pelarut didasarkan pada kepolaran senyawa yang akan diekstrak yang merupakan golongan senyawa fenol. Dari hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak sirih merah mengandung senyawa polifenol, flavonoid dan tanin.

Tabel 1. Data rendemen, kapasitas antioksidan dan total fenol ekstrak sirih merah

Table 1. Yield, antioxidant capacity and phenol of red betel extract

Parameter	Metode Ekstraksi/ Extraction method	
	Maserasi Maceration	Refluks Reflux
Rendemen/Yield (%)	7,2 ± 0,25 a	9,8 ± 0,35 b
Kapasitas antioksidan (AAEµg/ml) Antioxidant capacity	10892,86 ± 6,06 a	9971,43 ± 6,06 b
IC50/ Inhibitor Concentration (AAEµg/ml)	46,51 ± 0,05 a	49,57 ± 0,27 b
Total fenol/ Phenolic compound (mg/100g)	2388,37 ± 0,3 a	2257,22 ± 0,9 a

Keterangan : data merupakan rerata dari 3 kali ulangan (rata-rata ± STD)

Remark : number from 3 replication (average ± STD)

Rendemen pada metode maserasi lebih rendah dibandingkan dengan metode refluks. Pemanasan dapat meningkatkan jumlah rendemen oleoresin karena suhu yang dibutuhkan oleh suatu pelarut untuk mencapai titik didihnya dapat melarutkan komponen oleoresin yang tidak terabsorpsi dengan perlakuan tanpa pemanasan. Pemanasan yang lama dapat menyebabkan sejumlah komponen oleoresin rusak dan menguap, sehingga jumlahnya lebih rendah dibandingkan dengan tanpa pemanasan. Hal ini yang menyebabkan total fenol dan kapasitas antioksidan pada metode refluks lebih rendah dibandingkan metode maserasi.

Sebagian besar minyak atsiri dapat terekstrak lebih tinggi dengan menggunakan pelarut etanol dibandingkan dengan pelarut metanol dan etil asetat. Ekstraksi dengan etanol memberikan rendemen yang lebih tinggi dibanding dengan air dan etil asetat¹². Komponen-komponen yang teridentifikasi dari minyak atsiri sirih merah dengan analisis GC-MS, terdiri dari 2 golongan terpena yaitu monoterpena (sabinena, mirsena, alpha tuhyena, alpha terpinena) dan monoterpena alkohol (linalool)¹³. Dari luas area yang teridentifikasi menunjukkan bahwa ekstrak sirih merah paling banyak mengandung sabinen dan mirsen (Tabel 2).

Tabel 2. Senyawa ekstrak sirih merah hasil GC-MS
Table 2. Component of red betel extract from GC-MS

Senyawa Component	Metode Maserasi		Metode Refluks	
	Waktu retensi (menit) Retention time (minute)	Area (%) Area	Waktu retensi (menit) Retention time (minute)	Area (%) Area
Alpha Tujena	4,10	1,28	-	-
Sabinen	4,74	35,08	4,73	21,4
Beta pinena	4,81	1,28	4,80	1,87
Mirsena	4,93	9,33	4,92	6,58
L Linalool	6,94	3,07	6,93	2,71
Alpha terpineol	9,01	1,30	-	-
Beta Caryopilena	14,54	1,80	14,53	1,54
Germacrena D	16,01	2,06	16,01	1,01
Delta Guaien	16,59	0,83	16,58	2,35
Sesquisabinena	18,54	2,03	18,53	1,73

Sintesis dan Karakteristik Nanopartikel Ekstrak Sirih Merah

Sifat fisik nanopartikel (ukuran, indeks polidispersitas (IP) serta zeta potensial)

Nanopartikel ekstrak sirih merah disintesis dengan modifikasi fisik menggunakan metode gelasi ionik dengan bantuan *magnetic stirrer* dan memanfaatkan sodium tripolifosfat (STPP) untuk membentuk ikatan silang. Sintesis nanopartikel dilakukan pada beberapa konsentrasi kitosan yaitu 0,1%, 0,2%, 1% dan 2%. Metode gelasi ionik sangat sederhana, mudah dilakukan dan banyak digunakan untuk membuat nanopartikel¹⁴. Proses taut silang secara fisik dengan interaksi elektrostatik lebih mungkin digunakan dengan toksisitas dan pengaruh lain yang lebih rendah bila dibandingkan taut silang dengan proses kimia¹⁵. Katekin teh telah berhasil dibuat nanopartikel dengan kitosan menggunakan metode gelasi ionik¹⁶. Dengan mengontrol parameter yang menjadi titik kritis sintesis nanopartikel diantaranya konsentrasi kitosan, rasio kitosan dan TPP telah dihasilkan nanopartikel secara spontan pada saat penambahan larutan TPP sambil dilakukan pengadukan (*stirring*) pada suhu ruang¹⁶.

Semakin tinggi konsentrasi kitosan yang ditambahkan menunjukkan peningkatan ukuran partikel karena akan terjadi penggumpalan (*aglomerasi*) pada molekul kitosan¹⁷. Semakin besar konsentrasi kitosan dengan jumlah STPP yang tetap juga akan memperbesar ukuran nanopartikel karena adanya kecenderungan untuk beraglomerasi¹⁸. Pada konsentrasi yang tinggi, partikel-partikel yang terbentuk dari reaksi antara kitosan dan TPP sangat banyak dan padat, sehingga bergerombol membentuk agregat menjadi partikel berukuran mikro⁸.

Konsentrasi 0,2% memberikan ukuran partikel yang paling kecil, sedangkan pada konsentrasi 0,1% tidak terdeteksi adanya partikel. Hal ini kemungkinan karena konsentrasi yang terlalu kecil atau karena terlarut sempurna sehingga tidak terdeteksi adanya partikel. Dari hasil uji statistik tidak terdapat perbedaan yang nyata antara konsentrasi nanopartikel kitosan 0,2% dan 1% (Tabel 3). Tetapi dengan ukuran yang lebih kecil serta efisiensi proses, maka konsentrasi kitosan 0,2% yang dipilih untuk proses enkapsulasi dengan menggunakan *spray dryer*.

Tabel 3. Ukuran partikel nanopartikel ekstrak sirih merah pada beberapa konsentrasi

Table 3. Nanoparticle size of red betel extract in various concentration

Konsentrasi/ Concentration (%)	Indek Polidispersitas Polidispersity Index	Ukuran partikel Particle size (nm)	Nilai Zeta Potensial/ Zeta potential value (mV)
0,1	nd	nd	10,00 ± 0,06 a
0,2	0,141 ± 0,15 a	197,20 ± 11,68 a	32,75 ± 2,11 c
1	0,185 ± 0,05 a	467,17 ± 101,17 a	34,51 ± 0,17 c
2	0,235 ± 0,03 a	1148,03 ± 481,78 b	27,57 ± 0,65 b

Keterangan : data merupakan rerata dari 3 kali ulangan (rata-rata ± STD)

Remark : number from 3 replication (average ± STD)

Sintesis nanopartikel dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya komposisi material dan metode yang digunakan. Komposisi material yang sesuai akan menghasilkan nanopartikel dengan ukuran kecil dan morfologi seragam. Nanopartikel akan terbentuk pada komposisi tertentu antara kitosan dan TPP dimana terbentuk nanopartikel dengan ukuran 20-200nm dengan konsentrasi kitosan 1,5mg/ml dan TPP 0,7mg/ml¹⁹. Penggunaan TPP pada penelitian ini adalah untuk mencampurkan polimer kitosan dengan polianion sodium tripolifosfat yang menghasilkan interaksi antara muatan positif pada gugus amino kitosan dengan muatan negatif tripolifosfat²⁰. Keberadaan TPP akan memberikan efek *crosslinking* dimana akan terjadi beberapa perubahan karakteristik nanopartikel yang terbentuk²¹.

Nilai indeks polidispersitas (IP) merupakan ukuran lebarnya distribusi ukuran partikel dengan nilai lebih kecil dari 0,3 menunjukkan sampel memiliki distribusi sempit dan formula nanopartikel yang seragam²². Semakin kecil nilai indeks polidispersitas menunjukkan distribusi ukuran nanopartikel semakin sempit, yang berarti ukuran diameter nanopartikel semakin homogen²³. Dari keempat konsentrasi yang dilakukan, menunjukkan bahwa semua konsentrasi memiliki nilai dibawah 0,3 sehingga dikatakan masih seragam dan homogen.

Suatu partikel dinyatakan stabil bila memiliki nilai zeta potensial diluar rentang -30mV hingga 30mV. Dari hasil pengukuran menunjukkan bahwa konsentrasi kitosan 0,2% dan 1% memiliki rentang nilai yang menunjukkan kestabilan dibanding konsentrasi 0,1% dan 2% (Tabel 3). Konsentrasi kitosan dapat mempengaruhi kestabilan suatu

partikel, dimana dengan konsentrasi yang tinggi menyebabkan NH₃ tertetap pada permukaan sehingga mengakibatkan kekuatan elektrostatis meningkat diantara partikel sehingga menjadi tidak stabil²⁴.

Selain itu, nilai positif pada zeta potensial menunjukkan bahwa nanopartikel banyak berada pada sekeliling permukaan. Hal ini menunjukkan bahwa nanopartikel yang terbentuk banyak dipengaruhi oleh gugus amino bebas yang akan meningkatkan muatan pada permukaan dan nilai zeta potensial nanopartikel. Hal ini menunjukkan bahwa berat molekul yang tepat pada kitosan akan memberikan kestabilan yang optimal⁹.

Sifat fungsional nanopartikel

Hasil pengujian kapasitas antioksidan menunjukkan bahwa diantara konsentrasi yang lain, nanopartikel dengan perlakuan konsentrasi kitosan 0,2% memberikan nilai yang tertinggi, yaitu sebesar 560,00±5,65 ppm. Tingginya nilai aktivitas antioksidan pada konsentrasi 0,2% karena ukuran partikel yang kecil akan meningkatkan sifat mukoadhesiv dan permeabilitas sehingga ketersediaannya di dalam tubuh meningkat. Dengan semakin meningkatnya jumlah antioksidan maka semakin banyak radikal DPPH yang tereduksi. Secara umum, aktivitas antioksidan suatu senyawa berkaitan dengan kandungan total fenol karena antioksidan alami pada tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik termasuk di dalamnya golongan flavonoid.

Sedangkan nilai IC₅₀ paling rendah pada perlakuan konsentrasi kitosan 0,2%. IC₅₀ merupakan konsentrasi sampel yang mampu memberikan persen penangkapan radikal sebanyak 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis. Sehingga semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin kuat daya antioksidannya. Hal ini mempunyai makna bahwa dibandingkan sampel yang lain ekstrak etanol mempunyai aktivitas penangkapan radikal bebas paling tinggi. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin besar aktivitas penangkal radikal bebas DPPH²⁵.

Tabel 4. Hasil pengujian kapasitas antioksidan dan IC₅₀
Table 4. Analysis antioxidant capacity and IC₅₀

Konsentrasi Kitosan Chitosan concentration (%)	Aktivitas antioksidan Antioxidant activity (AAEµg/ml)	Nilai IC ₅₀ IC ₅₀ value (AAEµg/ml)	Total fenol Phenolic compound (mg/100gr)
0,1	365,36 ± 5,05 a	934,98 ± 4,68 d	399, 87 ± 0.03 a

0,2	560,00 ± 5,65 d	676,84 ± 3,20 a	568,76 ± 3,0 d
1	471,43 ± 0,25 b	862,61 ± 5,55 c	437,188 ± 3,0 b
2	532,77 ± 0,37 c	780,67 ± 1,88 b	470,18 ± 0,6 c

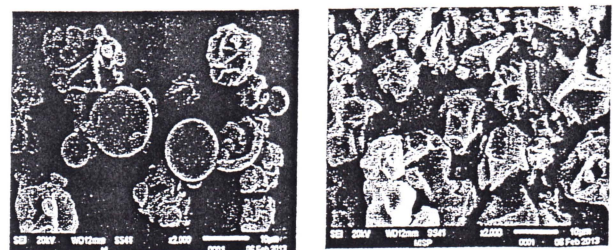
Keterangan : data merupakan rerata dari 3 kali ulangan (rata-rata ± STD)

Remark : number from 3 replication (average± STD)

Encapsulasi nanopartikel ekstrak sirih merah

Dari hasil pengeringan semprot menunjukkan bahwa rendemen yang diperoleh untuk sampel MISP (maltodekstrin 80%, isolat protein kedelai 20%) dan M (maltodekstrin 100%) berturut-turut adalah 8,8% dan 10,05%. Protein merupakan salah satu bahan yang sangat potensial digunakan sebagai enkapsulan serta pembawa senyawa aktif dan obat, dimana dapat mengoptimalkan penghantaran yang spesifik dan sesuai target²⁶.

Hasil foto SEM menunjukkan bahwa nanopartikel memiliki bentuk bola dengan permukaan kasar dan berkerut. Pada keduanya terjadi pengkerutan dimana terjadi karena adanya efek *ballooning* akibat adanya penggunaan panas pada proses *spray drying* serta pengaruh komposisi penyalut yang digunakan. Penambahan TPP pada kitosan tidak akan mempengaruhi morfologi permukaan nanopartikel yang dihasilkan karena TPP hanya membentuk ikatan ionik antar molekul kitosan²⁷. Pada Gambar 1, terlihat bahwa ukuran nanopartikel mengalami peningkatan dengan nilai hingga rentang 10µm.



Maltodekstrin (M) Maltodekstrin+isolat protein kedelai (MISP)

Gambar 1 Struktur nanopartikel hasil foto SEM
Picture 1. Nanoparticle structure from SEM

Stabilitas selama penyimpanan

Parameter yang menjadi tolok ukur kestabilan nanopartikel selama penyimpanannya adalah jumlah

total fenol yang terlepas dari matrik nanopartikel. Semakin banyak total fenol yang terdeteksi menunjukkan kestabilan yang rendah karena bahan penyalut tidak dapat melindungi senyawa aktif. Pengujian total fenol dilakukan pada medium penyimpanan pada akhir penyimpanan hari ke 7 dan hasil analisis ragam dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Konsentrasi total fenol (mg/100gr) pada berbagai pH selama penyimpanan 7 hari

Table 5. Concentration of phenol (mg/100gr) from various pH during storage 7 days

pH	Perlakuan/Treatment		
	NP	M	MISP
2	52,01 jk	43,82 g	52,80 k
3	51,43 ij	47,28 h	52,52 jk
4	50,65 i	46,36 h	50,30 i
6	31,73 d	29,09 c	33,87 e
7	31,60 d	26,25 b	36,08 f
8	32,43 d	24,76 a	34,58 e

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Remark : Mean value with the same letter are not significantly different ($p=5\%$)

Secara umum, nanopartikel kitosan yang terisi ekstrak sirih merah lebih stabil pada pH asam dibandingkan pada pH basa. Nanopartikel kitosan termodifikasi tripolifosfat setelah disimpan selama 97 hari pada pH yang lebih tinggi (5,5, 7,5 dan 9) mengalami peningkatan ukuran partikel menjadi semakin besar, nanopartikel ini akan mudah berubah akibat terjadi perubahan pH lingkungan serta kekuatan ionik larutan¹¹.

Nanopartikel mengalami penurunan persentase total fenol terbesar pada pH tinggi dibandingkan pada pH rendah. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada pH yang semakin meningkat, nanopartikel cenderung mengalami kerusakan dimana senyawa fenol yang terkandung di dalam sirih merah juga akan mengalami kerusakan. Hal ini kemungkinan disebabkan nanopartikel kitosan merupakan gel yang metastabil, selain itu struktur mudah berubah akibat perubahan pH dan kekuatan ionik larutan. Fenomena ini tergantung pada polikation dari nanopartikel kitosan¹¹. Pada penelitian yang melakukan enkapsulasi menggunakan kitosan dan alginat menunjukkan bahwa pelepasan polifenol sebesar 50% setelah 3,5 jam¹⁰.

KESIMPULAN

Ekstraksi etanol 96% dengan maserasi memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan metode refluks dengan rendemen $7,2 \pm 0,25\%$, kapasitas antioksidan $10892,86 \pm 6,06$ (AAE μ g/ml), IC₅₀ sebesar $46,51 \pm 0,02$ (AAE μ g/ml) serta total fenol $2388,37 \pm 0,3$ mg/100g dengan komponen utama yaitu sabinen dan mirsen. Konsentrasi kitosan 0,2% dengan rata-rata diameter $197,20 \pm 11,68$ nm memberikan hasil yang terbaik dengan nilai IP $0,235 \pm 0,03$, zeta potensial kestabilan $32,75 \pm 2,11$ mV, kapasitas antioksidan $5502,00 \pm 8,48$ AAE μ g/ml, nilai IC 50 yaitu $279,10 \pm 0,05$ AAE μ g/ml dan total fenol $568,76 \pm 3,0$ mg/100g. Enkapsulasi nanopartikel dengan penyalut campuran maltodekstrin dan isolat protein menunjukkan terjadi peningkatan ukuran partikel hingga rentang 10 μ m. Stabilitas pada beberapa kondisi pH menunjukkan bahwa penurunan persentase total fenol terbesar pada pH basa (6,7,8) dibandingkan pada pH asam (2,3,4).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Badan Litbang Pertanian Kementerian Pertanian atas pemberian dana penelitian di bawah program KKP3T pada T.A 2012.

DAFTAR PUSTAKA

1. Safithri M, Fahma F. Potency of *Piper crocatum* decoction as an antihyperglycemia in rat strain *Sprague dawley*. Hayati Journal of Biosciences. 2008; 15(1):45-48.
2. Batubara I, Rahminiwati M, Darusman LK, Mitsunaga T. Tyrosinase activity of piper beetle and piper crocatum essential oil. Proceeding of International Conference on Basic Science; Malang : Faculty of Science, University of Brawijaya. 2011.
3. Alfarabi M. Kajian antidiabetogenik ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) *in vitro* [Tesis]. Bogor : Institut Pertanian Bogor. 2011.
4. Kammona O, Costas K. Recent advances in nanocarrier-based mucosal delivery of biomolecules. Journal of Controlled Release. 2012; 161: 781-794.
5. Kubo I, Mastuda N, Xiao P, Haraguchi H. Antioxidant Activity of *Deodecyl Gallate*. J. Agr Food Chem. 2002; 50: 3533-3539.
6. Atanassova M, Georgieva K, Ivancheva. Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy. 2011; 46(1): 81-88.

7. Suratmo. Potensi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antioksidan [Tesis]. Malang: Jurusan Kimia Universitas Brawijaya; 2008.
8. Mardiyati E, Sjaikhurrisal EM, Damai RS, Idah R, Sriningsih. Preparasi Dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan Sebagai Sistem Penghantaran Insulin Secara Oral. Pusat Teknologi Farmasi dan Medika BPPT [Internet] 2012. Tersedia di: <http://insentif.ristek.go.id/Prosiding/RT-2012-0071.htm>
9. Alishahi A, Mirvaghefi A, Tehrani MR, Farahmand H, Shojaosadati, SA, Dorkoosh, FA, Elsabee, MZ. Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles. *Food Chem.* 2011; 126:935–940.
10. Deladino L, Anbinder PS, Navarro AS, Martino MN. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydr Polym.* 2008; 71 (1):126-134.
11. Tsai ML, Rong HC, Shi WB, Wei YC. The storage stability of chitosan/tripolyphosphate nanoparticles in a phosphate buffer. *Carb Polymers.* 2011; 84:756-761.
12. Prasad KN, En Y, Chun Y, Mouming Z, Yueming J. Effects of high pressure extraction on the extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of longan fruit pericarp. *Inn Food Sci Emerg Tech.* 2009; 10:155–15.
13. Utami MR. Fraksinasi senyawa aktif minyak atsiri daun sirih merah (*Piper cf. fragile. Benth*) sebagai pelangsing aromaterapi secara *in vivo* [Tesis]. Bogor: Pascasarjana Institut Pertanian Bogor; 2011.
14. Mohanraj YJ, Chen Y. Nanoparticle – A Review. *Trop J Pharm Res.* 2006; 5(1):561-573.
15. Shu XZ, Zhu KJ. A novel approach to prepare tripolyphosphate/chitosan complex beads for controlled release drug delivery. *Int J Pharm.* 2008; 201:51–58.
16. Hu B, Chenliang P, Sun Y, Zhiyun H, Hong Y, Bing Hu, Xiaoxiong Z. Optimization of fabrication parameters to produce chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for delivery of tea catechins. *J Agric Food Chem.* 2008; 56:7451-7458.
17. Wahyono D. Ciri nanopartikel kitosan dan pengaruhnya pada ukuran partikel dan efisiensi penyalutan ketoprofen [Tesis]. Bogor: Pascasarjana Institut Pertanian Bogor; 2011.
18. Grenha A, Seijo B, Remunan-Lopez C. Microencapsulated chitosan nanoparticles for lung protein delivery. *Eur J Pharm Sci.* 2005; 25:427-437.
19. Xu Yongmai, Du Yumin. Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics.* 2003; 250:215-226.
20. Chattopadhyay DP, Inamdar MS. Aquoeus behavior of chitosan. *Int J Poly Sci.* 2011; ID 939536:1-7
21. Rodrigues S, Ana M, Rosa da Costa, Ana Grenha. Chitosan/carrageenan nanoparticles: Effect of cross-linking with tripolyphosphate and charge ratios. *Carbohydr Polym.* 2012; 89 : 282-289.
22. Yen FL, Wu TH, Lin LT, Cham TM, Lin CC. Nanoparticle formulation of cuscuta chinesis prevents acetaminophen –induced hepatotoxicity in rats. *Food Chem Tox.* 2008; 46:1771-1777.
23. Yuan Y, Gao Y, Zhao J, Mao L. Characterization and stability evaluation of β -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions. *Food Res Intl.* 2008; 41:61–68.
24. Li Ji, Qingrong Y. Rheological properties of chitosan–tripolyphosphate complexes: From suspensions to microgels. *Carbohydr Polym.* 2012; 87:1670– 1677.
25. Dungir SG, Dewa GK, Vanda, SK. Aktivitas antioksidan ekstrak fenolik dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostama* L.). *Jurnal MIPA Unsrat Online.* 2012; 1(1):11-15
26. Gunasekaran S, Sanghoon Ko, Lan Xiao. Use of whey protein for encapsulation and controlled delivery applications. *J Food Eng.* 2007; 83:31-40.
27. Desai KGH, Park HJ. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Dry Tech.* 2005; 23:1361-1394.