



**NANOENKAPSULASI FIKOSIANIN DARI
Spirulina platensis MENGGUNAKAN KITOSAN DENGAN
PANJANG POLIMER BERBEDA UNTUK APLIKASI
*TRANSDERMAL DELIVERY***

EIRENE TENTUA



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAURAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPBUniversity.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPBUniversity.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Nanoenkapsulasi Fikosianin dari *Spirulina platensis* Menggunakan Kitosan dengan Panjang Polimer Berbeda untuk Aplikasi *Transdermal Delivery*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2024

Eirene Tentua
C3501212018

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPBUniversity.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbarui sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPBUniversity.

RINGKASAN

EIRENE TENTUA. Nanoenkapsulasi Fikosianin dari *Spirulina platensis* Menggunakan Kitosan dengan Panjang Polimer Berbeda untuk Aplikasi *Transdermal Delivery*. Dibimbing oleh SAFRINA DYAH HARDININGTYAS dan IRIANI SETYANINGSIH.

Fikosianin, pigmen biru dari *Spirulina platensis*, memiliki berbagai sifat bioaktif seperti antioksidan, antikanker, antidiabetes, antiinflamasi, antiaging dan imunomodulator, menjadikannya berpotensi untuk aplikasi klinis. Namun, fikosianin murni yang dibutuhkan seringkali sulit dicapai dengan metode konvensional yang tidak efisien dan mahal. Sistem *aqueous two-phase* (ATP) dengan *natural deep eutectic solvents* (NaDES) menawarkan solusi yang lebih efisien untuk pemurnian. Tantangan utama pengaplikasian fikosianin adalah stabilitas rendah dan berat molekul tinggi, yang dapat diatasi melalui nanoenkapsulasi. Penggunaan kitosan dengan berbagai panjang polimer sebagai bahan enkapsulasi diharapkan dapat meningkatkan stabilitas dan efisiensi pengantaran *transdermal* fikosianin, mengoptimalkan potensi bioaktifnya dan memfasilitasi penggunaannya dalam aplikasi klinis.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan metode pemurnian fikosianin terbaik berdasarkan karakteristik fisiknya, menentukan formula terbaik nanopartikel fikosianin-kitosan dengan panjang rantai polimer berbeda, dan mengevaluasi efektivitas *transdermal delivery*, aktivitas antioksidan dan antikanker nanopartikel fikosianin-kitosan secara *in vitro*. Penelitian dimulai dengan kultivasi *S. platensis* menggunakan air laut 15 ppt dan penambahan media Walne. Fikosianin diekstrak dari biomassa *S. platensis* melalui proses ultrasonikasi selama 15 menit dan dimurnikan menggunakan sistem ATP dengan berbagai donor ikatan hidrogen berbasis NaDES, termasuk urea, gliserol, dan asam sitrat. Fikosianin murni yang diperoleh diformulasikan menjadi nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik dengan empat jenis kitosan yang memiliki panjang polimer berbeda.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *S. platensis* memiliki *optical densiy* sebesar 0,54 dengan rendemen biomassa mencapai $1,73 \pm 0,44$ g/L. Indeks kemurnian awal, konsentrasi, dan rendemen ekstrak kasar fikosianin berturut-turut adalah $0,54 \pm 0,02$; $2,56 \pm 0,05$ mg/mL; dan $12,79 \pm 0,27\%$. Kombinasi NaDES ChCl:CA menunjukkan indeks kemurnian, konsentrasi, dan *recovery* paling tinggi (2,3 kali lipat; $2,94 \pm 0,05$ mg/mL; $71,83 \pm 2,36\%$). Analisis stabilitas menunjukkan bahwa formula terpilih nanopartikel fikosianin-kitosan adalah NPC-LC, nanoenkapsulasi fikosianin dengan *low viscosity chitosan*. Formula ini memiliki ukuran partikel sebesar $275,43 \pm 3,18$ nm, indeks polidispersitas $0,43 \pm 0,03$, dan potensial zeta $14,97 \pm 0,42$. Pelepasan kumulatif NPC-LC setelah 24 jam mencapai nilai sebesar $48,85 \pm 2,49\%$. Aktivitas antioksidan fikosianin meningkat setelah pembentukan nanopartikel, dengan nilai IC₅₀ menjadi 35,91 ppm. Nano-fikosianin tidak toksik terhadap sel normal HEK dan mencapai viabilitas sel paling rendah sebesar 63,87% terhadap sel kanker melanoma.

Kata kunci: antioksidan, *aqueous-two-phase*, mikroalga, NaDES, purifikasi

SUMMARY

EIRENE TENTUA. Nanoencapsulation of Phycocyanin from *Spirulina platensis* Using Chitosan with Different Polymer Lengths for Transdermal Delivery Applications. Supervised by SAFRINA DYAH HARDININGTYAS and IRIANI SETYANINGSIH.

Phycocyanin, a blue pigment from *Spirulina platensis*, exhibits various bioactive properties such as antioxidant, anticancer, antidiabetic, anti-inflammatory, antiaging and immunomodulatory effects, making it promising for clinical applications. However, obtaining pure phycocyanin through conventional methods is often inefficient and expensive. Aqueous two-phase systems (ATPs) using natural deep eutectic solvents (NaDES) offer a more efficient solution for purification. The main challenges in the application of phycocyanin include its low stability and high molecular weight, which can be addressed through nanoencapsulation. The use of chitosan with various polymer chain lengths as encapsulation materials is expected to enhance the stability and efficiency of the transdermal delivery of phycocyanin, optimizing its bioactive potential, and facilitating its use in clinical applications.

This study aimed to determine the best purification method based on the physical characteristics of phycocyanin, establish an optimal formula for phycocyanin-chitosan nanoparticles with different polymer chain lengths, and evaluate the in vitro effectiveness of the transdermal delivery, antioxidant activity, and anticancer activity of phycocyanin-chitosan nanoparticles. The research began with the cultivation of *S. platensis* using seawater with a salinity of 15 ppt and supplemented Walne's medium. Phycocyanin was extracted from *S. platensis* biomass through a 15-minute ultrasound process and purified using ATP systems with various hydrogen bond donor-based NaDES, including urea, glycerol, and citric acid. Purified phycocyanin was formulated into nanoparticles using an ionotropic gelation method with four types of chitosan with different polymer chain lengths.

The results showed that *S. platensis* had an optical density of 0.54, biomass yield of 1.73 ± 0.44 g/L. The initial purity index, concentration, and crude extract yield of phycocyanin were 0.54 ± 0.02 , 2.56 ± 0.05 mg/mL, and $12.79 \pm 0.27\%$, respectively. The combination of NaDES ChCl exhibited the highest purity index, concentration, and recovery (2.3-fold increase; 2.94 ± 0.05 mg/mL; $71.83 \pm 2.36\%$). Stability analysis revealed that the selected formula of phycocyanin-chitosan nanoparticles was NPC-LC, which encapsulates phycocyanin with low viscosity chitosan. This formula had a particle size of 275.43 ± 3.18 nm, a polydispersity index of 0.43 ± 0.03 , and a zeta potential of 14.97 ± 0.42 . The cumulative release of NPC-LC after 24 hours reached $48.85 \pm 2.49\%$. The antioxidant activity of phycocyanin increased after nanoparticle formation, with an IC_{50} value of 35.91 ppm. Nano-phycocyanin showed no toxicity to normal HEK cells and achieved a minimum cell viability of 63.87% against melanoma cancer cells.

Keywords: antioxidant, aqueous-two-phase, microalgae, NaDES, purification



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPBUniversity.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPBUniversity.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**NANOENKAPSULASI FIKOSIANIN DARI
Spirulina platensis MENGGUNAKAN KITOSAN DENGAN
PANJANG POLIMER BERBEDA UNTUK APLIKASI
*TRANSDERMAL DELIVERY***

EIRENE TENTUA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Teknologi Hasil Perairan

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Prof. Dr.Eng. Uju, S.Pi., M.Si.
2. Roni Nugraha, S.Si., M.Sc., Ph.D.





Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



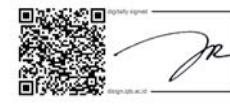
Judul Tesis : Nanoenkapsulasi Fikosianin dari *Spirulina platensis* Menggunakan Kitosan dengan Panjang Polimer Berbeda untuk Aplikasi *Transdermal Delivery*
Nama : Eirene Tentua
NIM : C3501212018

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr.Eng. Safrina D. Hardiningtyas, S.Pi., M.Si.



Pembimbing 2:
Prof. Dr. Ir. Iriani Setyaningsih, M.S.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr.Eng. Uju, S.Pi., M.Si.
NIP. 19730612 200012 1 001



Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan :
Prof. Dr. Ir. Fredinan Yulianda, M.Sc.
NIP. 19630731 198803 1 002



Tanggal Ujian:
(10 Juli 2024)

Tanggal Lulus:
(05 Agustus 2024)



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbarui sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala karunia-Nya sehingga Tesis berjudul “Nanoenkapsulasi Fikosianin dari *Spirulina platensis* Menggunakan Kitosan dengan Panjang Polimer Berbeda untuk Aplikasi *Transdermal Delivery*” dapat diselesaikan. Penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik sebagai syarat menyelesaikan pendidikan Magister di Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

Ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya penulis ucapkan kepada Dr. Eng. Safrina Dyah Hardiningtyas, S.Pi, M.Si dan Prof. Dr. Ir. Iriani Setyaningsih, MS selaku komisi pembimbing tesis atas arahan, bimbingan dan motivasi serta waktu dan pikiran selama penyusunan proposal, penelitian, penulisan publikasi ilmiah hingga penyusunan tesis dilakukan. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Roni Nugraha S.Si, M.Sc, Ph.D selaku gugus kendali mutu (GKM) dan Ketua Departemen Teknologi Hasil Perairan, atas saran dan masukan saat ujian tesis berlangsung. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Eng. Uju, S.Pi, M.Si selaku dosen penguji luar komisi dan Ketua Program Studi Pasca Sarjana, Departemen Teknologi Hasil Perairan, atas saran serta masukan agar tulisan penulis lebih baik. Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada:

1. Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) yang telah mendanai pendidikan dan penelitian penulis selama menempuh pendidikan di jenjang Magister pada Institut Pertanian Bogor.
2. Terima kasih kepada JSPS Bilateral THP-IPB University dan Kyushu University dalam memfasilitasi sebagian pengujian dari penelitian ini.
3. Bapak (Hanny Tentua), ibu (Adeleida Angeline Samson), adik-adik, dan keluarga besar yang telah mendukung dalam doa dan kasih sayang kepada penulis.
4. Staf departemen THP yang telah membantu dalam proses penelitian di laboratorium
5. Teman-teman yang telah membantu selama penelitian: Khusnul Aini, kak Asma Afifah, Zahrotul Firdaus, kak Rahmadiana Utami, kak Eka Putri, Salma Itqiyyah, mba Fanny Berutu, Bang Nopa Aris, Azra Intania, dan semua pihak yang mendukung penyelesaian penelitian
6. Kelurahan LPDP IPB 9.0: Zahrah Khaerani, Adimah, Ainun Salzabila, Eva Amalia Pratiwi, dan teman-teman awardee yang memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis, serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Sebagian dari penelitian ini telah dipublikasikan pada Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan dengan judul “*Purification of Phycocyanin from Spirulina platensis Using Natural Deep Eutectic Solvents with Varied Hydrogen Bond Donor*.” Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2024
Eirene Tentua



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Ruang Lingkup	4
II METODE	5
2.1 Waktu dan Tempat Penelitian	5
2.2 Alat dan Bahan	5
2.3 Prosedur Kerja	5
2.4 Prosedur Analisis	8
2.5 Analisis Data	12
III HASIL DAN PEMBAHASAN	13
3.1 Ekstrak Kasar Fikosianin dari Biomassa <i>Spirulina platensis</i>	13
3.2 Karakteristik NaDES	15
3.3 Kemurnian Fikosianin	17
3.4 Karakteristik Nano-Fikosianin	20
3.5 Aktivitas Antioksidan	25
3.6 Toksisitas terhadap Sel Normal (Sel HEK)	26
3.7 Aktivitas Antikanker terhadap Sel Melanoma	27
3.8 Efektivitas Penetrasi Nano-Fikosianin	29
3.9 Mekanisme Rute Penetrasi Nano-Fikosianin pada Telinga Tikus	30
IV SIMPULAN DAN SARAN	32
4.1 Simpulan	32
4.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	41
RIWAYAT HIDUP	47

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPBUniversity.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbarui sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPBUniversity.

DAFTAR TABEL

1	Komponen yang digunakan dalam NaDES	7
2	Karakteristik Fisik NaDES	15
3	Stabilitas fisik nanopartikel fikosianin-kitosan	22
4	Ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial nanopartikel fikosianin-kitosan	22

DAFTAR GAMBAR

1	Diagram alir prosedur penelitian	6
2	<i>Spirulina platensis</i> : (a) kultur <i>Spirulina platensis</i> , (b) Sel <i>Spirulina platensis</i>	13
3	Nilai <i>optical density</i> kultur <i>Spirulina platensis</i>	14
4	Sistem dua fase berbasis air: (a) Fase kesetimbangan terbentuk; (b) Visualisasi pembentukan fase kesetimbangan DES dan K ₂ HPO ₄	16
5	Visualisasi pemurnian fikosianin menggunakan sistem ATP berbasis NaDES (ChCl:CA)	17
6	Pasca-pemisahan fikosianin dari NaDES	18
7	Indeks kemurnian, konsentrasi, dan recovery fikosianin	19
8	Profil SDS-PAGE dari fikosianin	20
9	Kenampakan nano-fikosianin	21
10	Morfologi nano-fikosianin (NPC-LC)	24
11	Spektrum FTIR fikosianin dan nano-fikosianin	24
12	Aktivitas antioksidan. (a) fikosianin ekstrak kasar dan hasil pemurnian, (b) nano-fikosianin	25
13	Viabilitas sel HEK setelah perlakuan dengan fikosianin dan nano-fikosianin	27
14	Viabilitas sel melanoma setelah perlakuan dengan fikosianin dan nano-fikosianin	28
15	Profil pelepasan kumulatif dari larutan fikosianin dan nano-fikosianin	29
16	Foto Z-stack <i>confocal laser scanning microscope</i> (CLSM) dari jaringan telinga tikus. (a) jalur fluoresensi fikosianin dalam <i>phosphate buffer saline</i> (PBS), (b) jalur fluoresensi nano-fikosianin (NPC-LC)	30



DAFTAR LAMPIRAN

1	Tabel hasil uji normalitas, homogenitas, <i>analysis of variance</i> (ANOVA) dan uji Duncan karakteristik fisik fikosianin	42
2	Tabel hasil uji normalitas, homogenitas, analysis of variance (ANOVA) dan uji Duncan ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial nano-fikosianin	43
3	Tabel hasil uji <i>analysis of variance</i> (ANOVA) aktivitas antioksidan (IC_{50}) fikosianin hasil pemurnian	45
4	Tabel hasil uji <i>analysis of variance</i> (ANOVA) dan uji Duncan aktivitas antioksidan (IC_{50}) nano-fikosianin	45
5	Absorbansi fikosianin pada panjang gelombang 620 nm dan 280 nm	46
6	Data pengukuran intensitas fluoresensi menggunakan ImageJ	46

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPBUniversity.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbarui sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPBUniversity.