

BIOAKTIVITAS EKSTRAK METANOL BIJI GOREK

***Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.**

DIFORTIFIKASI NANOKITOSAN SEBAGAI

ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI

BIOACTIVITY OF METHANOL EXTRACT OF GOREK

***Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. SEEDS FORTIFIED**

NANOCHITOSAN AS ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL

SAMRIANI



**PROGRAM STUDI KIMIA
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

BIOAKTIVITAS EKSTRAK METANOL BIJI GOREK
***Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.**
DIFORTIFIKASI NANOKITOSAN SEBAGAI
ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program studi kimia

Disusun dan diajukan oleh

SAMRIANI

H012192001

Kepada

PROGRAM MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022

**BIOAKTIVITAS EKSTRAK METANOL BIJI GOREK
CAESALPINIA BONDOC (L.) ROXB. DIFORTIFIKASI NANOKITOSAN
SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI**

Disusun dan diajukan oleh

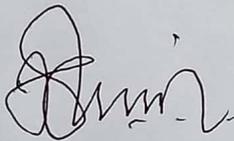
SAMRIANI

NOMOR POKOK: H012192001

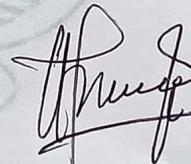
Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 07 November 2022

Dan dinyatakan memenuhi syarat

Menyetujui:
Komisi penasehat

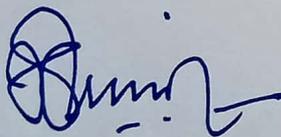


Dr. Hasnah Natsir, M.Si



Dr. Seniwati Dali, M.Si

Ketua Program Studi
Magister Kimia



Dr. Hasnah Natsir, M.Si

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin



Dr. Eng Amiruddin, M.Si

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Samriani
NIM : H012192001
Program Studi : Kimia

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Bioaktivitas Ekstrak Metanol Biji Gorek *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. Difortifikasi Nanokitosan Sebagai Antioksidan dan Antibakteri" adalah benar karya saya dengan arahan dari Komisi Pembimbing (Dr. Hasnah Natsir, M.Si sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Seniwati Dali, M.Si sebagai Pembimbing Pertama). Karya ilmiah ini belum diajukan dan sedang tidak 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 tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan Hak Cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 25 November 2022



Samriani
H012192001

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji hanya milik Allah *Subhanahu wa Ta'ala* yang senantiasa melimpahkan rahmat dan pertolongan kepada para hambanya, memudahkan urusannya, dan memenuhi kebutuhannya, tak terkecuali kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan tesis ini dengan baik. Salam dan shalawat semoga tetap tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad *Shallallahu 'Alaihi wa Sallam*, kepada keluarga, Sahabat, dan para pengikutnya hingga hari kiamat.

Alhamdulillah Rabbil 'alamin, penelitian yang diberi judul "**Bioaktivitas Ekstrak Metanol Biji Gorek *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. Difortifikasi Nanokitosan Sebagai Antioksidan dan Antibakteri**" telah selesai disusun dalam rangka memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar magister dalam bidang Sains, yaitu Kimia (Chemistry), Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Perjalanan dalam menyelesaikan tugas akhir ini bukanlah perkara mudah dan singkat. Segala bentuk kesabaran, kekuatan, ketegaran, dan semangat adalah unsur-unsur penting yang harus selalu melekat pada diri setiap peneliti. Tugas akhir ini bukan sekedar melakukan penelitian, menyusun hasil, dan ujian sidang lalu wisuda. Tapi lebih melihat kepada sudut pandang yang berbeda, bagaimana tugas akhir ini menjadikan pribadi peneliti lebih menyadari bahwa kendala dan cobaan yang ada bukan alasan untuk banyak mengeluh atau berpaling untuk beristirahat. Tapi menjadikan perkara sulit itu untuk terus mencoba meskipun harus gagal berkali-kali teruslah melangkah, bertindak dan bergerak walau kecil atau sedikit hingga pada titik dimana do'a menjadi bagian kunci terpenting sebuah keberhasilan yang tidak boleh terlewatkan. Untuk itu, penulis dengan tulus hati dan rasa hormat menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada orang tua tercinta, Ayahanda Amiruddin, Ibunda Saripa, dan saudariku Hernawati dan Selpiana, beserta keluarga besar atas do'a dan dorongan semangat yang telah diberikan. Semoga Allah senantiasa melimpahkan Kasih Sayang-Nya kepada kita.

Ucapan terima kasih kepada Dosen Pembimbing, Ibu **Dr. Hasnah Natsir, M.Si** dan Ibu **Dr. Seniwati Dali, M.Si** yang telah sabar memberikan bimbingan dan arahan selama penyelesaian tesis ini, kepada Dosen Penguji, Ibu **Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, M.S**, bapak **Prof. Dr. H. Abd. Wahid Wahab, M.Sc**, dan Ibu **Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phil**, yang telah memberikan saran dan

bimbingan untuk perbaikan dalam penyusunan tesis ini. Ucapan terima kasih juga kepada seluruh Dosen jurusan Kimia, analis laboratorium, serta staf dan pegawai atas bimbingan dan bantuan ataupun segala bentuk kemudahan selama proses perkuliahan. *Jazakumullahu khairan.*

Ucapan terima kasih kepada teman-teman Program Magister Kimia, teman-teman seperjuangan Satu Angkatan, teman-teman se-Lab Biokimia, yang telah kebersamai penulis dan memberikan bantuan dalam berbagai hal yang tidak bisa disampaikan satu persatu. Semoga Allah memudahkan urusan-urusannya.

Kepada Saudaraku seiman, se-Geng J 475, kak Nelsi, Ukhti Ilma, adek Mardiyah, *Jazakunnallahu khairan* atas do'a, dorongan semangat, dan nasehat-nasehatnya yang penuh dengan kepedulian yang penulis anggap sebagai tanda cinta. Semoga Allah senantiasa memenuhi hati kita dengan cinta dan kuatnya rasa persaudaraan satu sama lain hingga Jannah-Nya.

Kepada Saudaraku seiman, Se-Halaqoh Tarbiyah, terkhusus kepada Ukhti Tisa yang punya kepribadian unik, yang paling mengerti kondisi, yang tetiba mengajak jalan, memberikan hadiah, dan kejadian tak terduga lainnya. Semoga Allah melapangkan rezekinya.

Kepada semua pihak yang tidak tertulis namanya, *jazakumullahu khairan* telah memberikan dukungan dalam bentuk do'a, saran, motivasi, pengorbanan maupun material. Semoga segala bentuk bantuan yang telah diberikan kepada penulis dapat bernilai ibadah dan diganjarkan pahala di sisi Allah *Subhanahu wa Ta'ala wa barakallahu fiikum jami'an.*

Penulis,

Samriani

ABSTRAK

SAMRIANI. Bioaktivitas ekstrak metanol biji goreng *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. difortifikasi nanokitosan sebagai antioksidan dan antibakteri (dibimbing oleh Hasnah Natsir dan Seniwati Dali).

Gorek *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. adalah jenis tumbuhan yang sering dimanfaatkan sebagai bahan obat karena memiliki beberapa sifat terapeutik. Bijinya adalah bagian yang paling banyak digunakan dalam sistem pengobatan. Nanokitosan juga menunjukkan sifat farmakologi dan memiliki prospek yang baik untuk diterapkan sebagai penghantar obat dengan berbagai target pengobatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder ekstrak metanol biji goreng (EMBG), sintesis nanokitosan dan karakterisasinya menggunakan FTIR, XRD, SEM, serta menentukan aktivitas antioksidan dan antibakteri EMBG, nanokitosan, dan fortifikasinya. Beberapa metode yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu proses ekstraksi biji goreng dilakukan dengan metode maserasi menggunakan metanol, sintesis nanokitosan dengan metode gelasi ionik, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, dan uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji goreng mengandung senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, dan saponin, dengan kandungan flavonoid dan fenolik total berturut-turut sebesar 0,50 mgQE/g dan 0,55 mgGAE/g. Hasil karakterisasi nanokitosan berupa padatan amorf berbentuk bola dengan ukuran 5–33 nm. Uji aktivitas antioksidan EMBG, nanokitosan, dan fortifikasinya menunjukkan aktivitas yang rendah. Sedangkan uji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* diperoleh daya hambat tertinggi pada hasil fortifikasi. Berdasarkan hasil penelitian ini, ekstrak yang difortifikasi dengan nanokitosan memiliki sifat antibakteri yang sangat baik sehingga bisa menjadi obat alternatif dalam kasus infeksi bakteri untuk mengurangi penggunaan antibiotik sintesis.

Kata kunci: *c. bonduc*, nanokitosan, antioksidan antibakteri

ABSTRACT

SAMRIANI. **Bioactivity of methanol extract of *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. gorek seeds fortified nanochitosan as antioxidant and antibacterial** (supervised by Hasnah Natsir dan Seniwati Dali).

Gorek *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. is a type of plant that is often used as a medicinal ingredient because it has several therapeutic properties. The seeds are the most widely used part in the system of medicine. Nanochitosan also exhibits pharmacological properties and has good prospects for application as a drug delivery agent with various treatment targets. This study aims to identify the secondary metabolite content of methanol extract of gorek seeds (EMBG), synthesis of nanochitosan and its characterization using FTIR, XRD, SEM, and determine the antioxidant and antibacterial activity of EMBG, nanochitosan, and fortification. Several methods were used in this study, namely the extraction of gorek seeds using the maceration method with methanol as solvent, the synthesis of nanochitosan using the ionic gelation method, the antioxidant activity test using the DPPH method, and the antibacterial activity test using the agar diffusion method. The results showed that the methanol extract of gorek seeds contained alkaloids, phenols, flavonoids, and saponins, with total flavonoid and phenolic content of 0.50 mgQE/g and 0.55 mgGAE/g, respectively. The results of the characterization of nanochitosan were in the form of amorphous with a size of 5–33 nm. The antioxidant activity test of EMBG, nanochitosan, and their fortification showed low activity. While the antibacterial activity test against *E. coli* and *S. aureus* obtained the highest inhibitory power on the fortification results. Based on the results of this study, the extract fortified with nanochitosan has excellent antibacterial properties so that it can be an alternative medicine in cases of bacterial infection to reduce the use of synthetic antibiotics.

Keyword: *c. bonduc*, nanochitosan, antioxidant, antibacterial

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Tumbuhan Gorek <i>Caesalpinia bonduc</i> (L.) Roxb.....	5
2.1.1. Taksonomi Tumbuhan Gorek <i>Caesalpinia bonduc</i> (L.) Roxb.....	5
2.1.2. Komposisi Senyawa Biji Gorek <i>Caesalpinia bonduc</i> (L.) Roxb.	6
2.1.3. Manfaat Tumbuhan Gorek <i>Caesalpinia bonduc</i> (L.) Roxb.	7
2.2. Kitosan.....	10
2.3. Tinjauan Umum Radikal Bebas	16
2.4. Tinjauan Umum Antioksidan	17
2.4.1. Fungsi Antioksidan.....	18
2.4.2. Mekanisme kerja antioksidan	18
2.4.3. Metode DPPH (<i>1,1-difenil-2-pikrilhidrasil</i>).....	20
2.5. Tinjauan Umum antibakteri	21
2.6. Kerangka Pikir.....	24
2.7. Hipotesis	25
BAB III METODE PENELITIAN.....	26

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	26
3.2.1. Alat.....	26
3.2.2. Bahan	26
3.3. Prosedur Penelitian.....	27
3.3.1. Preparasi Sampel.....	27
3.3.2. Ekstraksi Sampel	27
3.3.3. Uji Fitokimia	27
3.3.4. Penetapan Kandungan Flavonoid	28
3.3.5. Penetapan Kandungan Fenolik Total	28
3.3.6. Pembuatan Nanokitosan Dengan Metode Gelasi Ionik.....	29
3.3.7. Uji Aktivitas Antioksidan	29
3.3.8. Uji aktivitas Antibakteri	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1. Ekstraksi Sampel	32
4.2. Skrining Fitokimia.....	32
4.3. Kandungan Flavonoid dan Fenolik Total	35
4.4. Sintesis dan Karakterisasi Nanokitosan	36
4.4.1. Karakterisasi Nanokitosan dengan FTIR.....	38
4.4.2. Karakterisasi Nanokitosan dengan SEM	40
4.4.3. Karakterisasi Nanokitosan dengan XRD.....	41
4.5. Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	42
4.6. Pengujian Aktivitas Antibakteri	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
5.1. Kesimpulan	50
5.2. Saran	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN	60

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Karakteristik kandungan umum <i>C. bonduc</i>	6
2. Kandungan fitokimia dan profil nutrisi serbuk biji goreng <i>C. bonduc</i>	7
3. Kandungan fitokimia EMBG	33
4. Gugus fungsi hasil FTIR.....	39
5. Aktivitas antioksidan EMBG, nanokitosan, dan fortifikasinya.....	43
6. Uji antibakteri EMBG, nanokitosan, dan fortifikasinya	45
7. Uji antibakteri beberapa ekstrak tumbuhan	47

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Tumbuhan <i>Caesalpinia bonduc</i> (L.) Roxb.	6
2. Struktur kitin dan struktur kitosan	11
3. Mekanisme reaksi sintesis kitosan	11
4. Spektrum FTIR kitin dan kitosan	12
5. Proses ikat silang antara kitosan dan TPP	14
6. Reaksi Reduksi DPPH	21
7. Mekanisme flavonoid dan fenolik sebagai antioksidan	21
8. Kerangka pikir penelitian.....	25
9. Reaksi uji alkaloid	33
10. Reaksi uji flavonoid	34
11. Reaksi uji saponin.....	35
12. Kadar flavonoid dan fenolik total EMBG	35
13. Spektrum FTIR.....	39
14. Morfologi nanokitosan dengan SEM.....	41
15. Difraktogram XRD nanokitosan.....	42
16. Larutan hasil fortifikasi EMBG dengan nanokitosan	49
17. Zona hambat fortifikasi terhadap pertumbuhan bakteri.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Bagan Preparasi Sampel.....	60
2. Bagan Ekstraksi Sampel.....	60
3. Bagan Penentuan Kandungan Flavonoid.....	60
4. Bagan Penentuan Kandungan Fenolik Total.....	61
5. Bagan Pembuatan Nanokitosan Dengan Metode Gelasi Ionik	61
6. Bagan Uji Aktivitas Antioksidan.....	62
7. Bagan Uji Aktivitas Antibakteri	62
8. Hasil Spektroskopi FTIR	64
9. Hasil analisis XRD nanokitosan	69
10. Hasil analisis SEM nanokitosan	70
11. Pengukuran kandungan Flavonoid.....	71
12. Pengukuran kandungan Fenolik Total.....	72
13. Pengukuran Aktivitas Antioksidan	72
14. Dokumentasi Penelitian	77

Lambang/Singkatan	Arti dan penjelasan
BHA	Butil Hidroksi Anisol
BHT	Butil Hidroksil Toluena
DPPH	1-difenil-2-pikrilhidrazil
EMBG	ekstrak metanol biji gurek
FTIR	<i>Fourier-Transform Infrared</i>
GAE	<i>gallic acid equivalents</i>
NaTPP	Natrium Tripoliposfat
NK	Nanokitosan
QE	<i>quercetin equivalent</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SEM	<i>Scanning Electron Microscope</i>
UV-Vis	<i>Ultra Violet-Visible</i>
XRD	<i>X-Ray Diffraction</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pengobatan secara tradisional terhadap suatu penyakit dengan menggunakan bahan alami sudah menjadi kebiasaan masyarakat Indonesia sejak dulu sebelum perkembangan obat-obatan sintetik. Hal ini sangat didukung dengan kondisi Indonesia yang memiliki keanekaragaman hayati baik dari jenis tumbuhan maupun biota laut yang memiliki khasiat obat. Penggunaan obat-obatan tradisional kembali meningkat seiring dengan kesadaran masyarakat terhadap dampak yang ditimbulkan dari obat-obatan sintetik sehingga masyarakat beralih untuk memanfaatkan berbagai jenis tumbuhan yang dipercaya memiliki khasiat.

Salah satu jenis tumbuhan yang sering dimanfaatkan sebagai obat adalah goreng *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. Tumbuhan ini memiliki nama yang beragam di beberapa daerah di Indonesia antara lain dara-dara (kepulauan Selayar), kadara (Bima), tombili (Gorontalo), bagorek (Samarinda), dan kebiul (Mataram). Tumbuhan goreng termasuk dalam famili *Caesalpinaceae* yang berupa semak berduri yang tersebar luas di seluruh dunia terutama di India, Sri Lanka, Kepulauan Andaman dan Nicobar (Subbiah et al., 2019) serta telah dianggap sebagai obat untuk beberapa penyakit. Seluruh bagian tumbuhan ini memiliki khasiat sebagai obat (Vadlakonda dan Chaudhari, 2019), bagian bijinya yang paling banyak dimanfaatkan.

Ekstrak biji goreng memiliki kemampuan sebagai antidiabetes, antiinflamasi, antimalaria, antimikroba, antijamur, antioksidan, dan antitumor (Parameshwar et al., 2002; Jana et al., 2011; Sani dan Samudra, 2017). Hal ini berkaitan dengan kandungan senyawa yang ada dalam biji goreng yang menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tanin, triterpenoid, dan steroid dalam biji goreng (Subbiah, 2019; Prashant dan Bhanudas, 2011).

Beberapa penelitian membuktikan khasiat ekstrak biji goreng sebagai antioksidan seperti yang telah dilaporkan oleh Sachan et al. (2010) bahwa

ekstrak kloroform biji goreng memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} $170 \pm 4,08 \mu\text{g/mL}$ dan kandungan fenolik total sebesar $21,96 \pm 2,12 \mu\text{g/mL}$ dalam $1000 \mu\text{g/mL}$ ekstrak. Ekstrak air cangkang goreng memiliki nilai IC_{50} $350.638 \mu\text{g/ml}$ (Subbiah et al., 2019). Hasil penelitian Khasanah dan Nugraheni (2021) juga menunjukkan adanya sifat antibakteri dari biji goreng dengan diameter zona hambat tertinggi oleh ekstrak etanol biji goreng pada *S. aureus* dengan konsentrasi 20-100% yaitu 9,75 mm. Ekstrak batang goreng memiliki daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus aureus*, *Propionibacterium*, dan *E. coli* (Abidin et al., 2021) .

Selain dari biji goreng yang menunjukkan sifat antioksidan dan antibakteri, beberapa penelitian menyebutkan bahwa kitosan yang dibuat dalam bentuk nanopartikelnya atau nanokitosan juga menunjukkan sifat farmakologi tersebut. Pembuatannya sangat mudah karena menggunakan bahan baku limbah invertebrata laut, biaya rendah, terbiodegradasi dan ramah terhadap lingkungan (Hasri, 2010).

Saat ini, telah banyak penelitian pemanfaatan nanokitosan sebagai penghantar obat bagi berbagai target terapi dan diperkirakan memiliki harga yang tinggi (Irianto dan Muljanah, 2011). Nanopartikel ini dapat dibuat dengan menggunakan beberapa metode, salah satunya dengan metode gelasi ionik yang didasarkan pada interaksi elektrostatik antara grup amina kitosan dan grup muatan negatif polianion seperti tripolifosfat (Tiyaboonchai, 2003).

Beberapa hasil penelitian telah dilaporkan bahwa nanokitosan memiliki potensi sebagai antibakteri diantaranya oleh Magani et al. (2020) yang melaporkan bahwa nanokitosan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Terdapat juga sediaan nanokitosan yang dikombinasi dengan ekstrak bahan alam mampu memberikan efek antioksidan yang lebih baik, seperti yang dilaporkan oleh Nurviana et al. (2020) bahwa sediaan nanopartikel ekstrak biji limus dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan memiliki potensi yang sangat baik sebagai antioksidan alami karena aktivitas antioksidannya yang lebih kuat dibandingkan vitamin C. Aktivitas antioksidan pada nanopartikel ekstrak daun sirsak dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH menunjukkan aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 80,98 bpj (Desmiaty et al., 2016). Nanokitosan yang ditambahkan ekstrak etanol kayu manis memiliki kemampuan antioksidan yang sangat kuat dibandingkan dengan ekstraknya saja (Antasionasti et al., 2020).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah disebutkan menunjukkan bahwa biji goreng dan nanokitosan mempunyai sifat antioksidan dan antibakteri sehingga dapat dijadikan sebagai obat alternatif. Selain itu, modifikasi ekstrak bahan alam yang dikombinasikan dengan nanokitosan memberikan aktivitas yang lebih baik. Atas dasar pemikiran tersebut maka dilakukan penelitian mengenai fortifikasi ekstrak metanol biji goreng (EMBG) dengan nanokitosan yang diharapkan dapat meningkatkan aktivitasnya sebagai antioksidan dan antibakteri. Dalam penelitian ini, proses ekstraksi biji goreng dilakukan dengan menggunakan metanol sebagai pelarut. Pemilihan pelarut ini berdasarkan hasil penelitian Preethi *et al.*, (2010) yang melaporkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah *Muntingia calabura* lebih tinggi dibandingkan pelarut petroleum eter, etil asetat, kloroform, dan butanol. Metanol juga memiliki kemampuan untuk mengekstrak seluruh komponen kimia yang ada dalam tumbuhan baik yang sifatnya polar maupun nonpolar (Musa *et al.*, 2020).

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam EMBG?
2. berapakah kandungan flavonoid dan fenolik total dari EMBG?
3. bagaimana karakteristik nanokitosan yang diperoleh dengan metode gelasi ionik?
4. bagaimana aktivitas antioksidan dan antibakteri EMBG dan nanokitosan?
5. bagaimana aktivitas antioksidan dan antibakteri EMBG yang difortifikasi dengan nanokitosan?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dalam EMBG.
2. menentukan kandungan flavonoid dan fenolik total dari EMBG.
3. mengkarakterisasi nanokitosan yang diperoleh dengan metode gelasi ionik.
4. menentukan aktivitas antioksidan dan antibakteri EMBG dan nanokitosan.

5. menentukan aktivitas antioksidan dan antibakteri EMBG yang difortifikasi nanokitosan.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang khasiat EMBG, nanokitosan, dan EMBG yang difortifikasi dengan nanokitosan, bahwa bahan-bahan tersebut memiliki sifat farmakologi sebagai antioksidan dan antibakteri yang sangat baik. Oleh karena itu, sangat berpotensi untuk dijadikan obat alternatif dalam mengobati berbagai macam penyakit khususnya dalam kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen. Selain itu, pemanfaatan bahan alam ini dapat mengurangi penggunaan obat antibiotik sintesis yang menyebabkan resistensi maupun penggunaan obat sintesis lainnya dalam menghindari efek samping yang ditimbulkan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan Gorek *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.

Caesalpinia bonduc (L.) Roxb. merupakan tumbuhan obat yang termasuk dalam famili Caesalpiniaceae. Tumbuhan ini berupa semak berduri yang tersebar luas di seluruh dunia terutama di daerah tropis India seperti Kepulauan Kerala, Andaman dan Nicobar dan Sri Lanka. Populer dalam pengobatan tradisional di India terhadap beberapa penyakit (Billah et al., 2013). Tumbuhan tersebut telah dilaporkan memiliki aktivitas antijamur, antioksidan, antikanker, antipiretik, antifertilitas, antibakteri, antiinflamasi, antivirus dan antimalaria dari berbagai bagian tumbuhan *C. bonduc* sehingga dapat menjadi sumber obat terbaik di masa depan untuk berbagai penyakit dengan penyelidikan lebih lanjut (Gadakh et al., 2020; Yanty et al., 2019).

Masyarakat suku dari Andaman dan Pulau Nicobar menggunakan *C. bonduc* sebagai obat gejala diabetes mellitus (Chakrabarti et al., 2005). Ekstrak etanol biji goreng juga sangat berpengaruh terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Billah, 2013) dan melaporkan bahwa ekstrak metanol dan air kulit biji goreng menunjukkan aktivitas maksimum terhadap semua bakteri kecuali *E. coli* (Arif, 2009). Tumbuhan obat ini mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan aktivitas antioksidan yang kuat (Widhiantara et al., 2018).

2.1.1. Taksonomi Tumbuhan Gorek *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.

Tumbuhan Gorek *C. bonduc* dapat dijumpai di berbagai habitat pantai, terutama pada daerah-daerah terganggu, tapi juga tumbuh di daratan terutama hutan sekunder sampai dengan ketinggian 800 meter. Perbanyakannya secara alami dilakukan dengan menanam bagian bijinya. Di Filipina, bijinya dapat menyembuhkan sakit perut dan sebagai pencahar ringan, juga dipakai sebagai tonik dalam bentuk bubuk. Di Thailand, daunnya dipandang sebagai karminatif dan dipakai untuk menyembuhkan gangguan buang air kecil (Musa, 2018). Tumbuhan *C. bonduc* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tumbuhan *C. bonduc* (a) Pohon (b) Biji

Tumbuhan *C. bonduc* memiliki kedudukan taksonomi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Famili	: Caesalpinaceae
Genus	: <i>Caesalpinia</i>
Spesies	: <i>Caesalpinia bonduc</i> (L.) Roxb.

2.1.2. Komposisi Senyawa Biji Gorek *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.

Karakteristik Umum tumbuhan goreng *C. bonduc* dapat dilihat pada tabel di bawah ini (Singh dan Raghav, 2012).

Tabel 1. Karakteristik umum *C. bonduc*

Jenis Tanaman	Semak belukar
Akar	Akar tunggang
Jenis batang	Berbatang Keras
Jenis Daun	Menyirip genap, bulat memanjang
Warna Daun	Hijau
Permukaan Daun	Mengkilap
Jenis Biji	Dikotil
Aroma	Khas
Rasa	Pahit
Tinggi Tanaman	Sedang (10-20 m)

Lanjutan Tabel 1

Tinggi Sebenarnya	Maksimal: 15 m
Kegunaan Tanaman	Bunga dan Taman, Industri, Komersial, dan Obat

Caesalpinia bonduc mengandung senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai obat untuk berbagai macam penyakit. Hasil uji fotokimia yang dilakukan oleh Prashant dan Bhanudas (2011) menunjukkan bahwa ekstrak biji *C. bonduc* mengandung karbohidrat, protein, asam-asam amino, glikosida, flavonoid, saponin, steroid, dan triterpenoid.

Analisis fitokimia serbuk biji goreng *C. bonduc* yang dilakukan oleh Manikandaselvi et al., (2016) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan fitokimia dan profil nutrisi serbuk biji goreng *C. bonduc*

Kandungan	Jumlah (mg/g)
Alkaloid	0,12
Fenol	0,60
Flavonoid	0,33
Tannin	4,90
Lignin	74,7
Karbohidrat	18,4
Protein	17,6
Lemak	3,6
Serat	3,3
nilai energy	73,6

2.1.3. Manfaat Tumbuhan Gorek *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.

Tumbuhan goreng *C. bonduc* merupakan tumbuhan obat yang telah dianggap sebagai obat penting untuk pengobatan beberapa penyakit. Seluruh bagian tumbuhan ini memiliki khasiat obat sehingga menjadi tumbuhan obat yang sangat berharga dalam sistem pengobatan tradisional (Vadlakonda dan Chaudhari, 2019). Beberapa penelitian tentang aktivitas tumbuhan goreng *C. bonduc* telah banyak dilakukan diantaranya sebagai berikut:

1. Antibakteri

Para peneliti berhasil menemukan adanya senyawa antibakteri yang sangat baik dalam tumbuhan *C. Bonduc*. Menurut Yuliana et al. (2019), Tumbuhan kadara (*C. Bonduc*) banyak terdapat di pulau Sumbawa khususnya

daerah Bima dan Dompu. Masyarakat secara tradisional menggunakan kadara untuk menyembuhkan malaria, diabetes, batu ginjal. Hasil penelitian uji kualitatif menunjukkan adanya senyawa, tanin, flavonoid, saponin dan terpenoid. Cangkang biji buah kadara mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri seperti flavonoid, tanin, dan saponin. Ekstraknya memiliki potensi daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan Konsentrasi 100% sebesar 30 mm.

Ekstrak metanol dan fraksi etil asetat, kloroform, dan petroleum eter daun *C. bonduc* telah diselidiki aktivitas antimikroba, antidiare, dan sitotoksiknya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan tiga fraksi lainnya menunjukkan aktivitas yang lebih baik pada konsentrasi yang lebih tinggi. Diantaranya, fraksi kloroform menunjukkan aktivitas maksimum pada konsentrasi 300, 500, dan 800 µg/cakram terhadap hampir semua bakteri. *S. aureus* dan *P. aeruginosa* menunjukkan sensitivitas yang lebih baik untuk semua ekstrak di ke tiga konsentrasi termasuk fraksi petroleum eter. *Bacillus megaterium* dan *Klebsiella spp.* adalah dua di antara sembilan bakteri yang menunjukkan sensitivitas terendah terhadap ekstrak. Zona penghambatan maksimum (25 mm) diperoleh oleh ekstrak metanol pada konsentrasi 800 µg/cakram terhadap *S. aureus*. Pada uji antidiare, semua fraksi memperlihatkan tindakan yang bergantung dosis, yang secara statistik berpengaruh secara signifikan ($p < 0,05$) (Billah et al., 2013).

2. Antioksidan

Sifat antioksidan biji *C. bonduc* juga dilaporkan oleh Sachan et al. (2010) yang menyatakan bahwa ekstrak kloroform biji *C. bonduc* memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} $170 \pm 4,08$ µg/mL dan kandungan fenolik total sebesar $21,96 \pm 2,12$ µg/mL dalam 1000 µg/mL. Parameshwar et al. (2008) juga melaporkan bahwa uji antioksidan terhadap ekstrak air tidak menunjukkan aktivitas pembersihan radikal bebas. Sedangkan etil asetat, eter, dan petroleum eter menunjukkan aktivitas pembersihan radikal bebas berturut-turut sebesar 49, 42 dan 31%.

Penelitian yang lain juga menunjukkan bahwa tidak hanya ekstrak daun dan biji *C. bonduc* yang menunjukkan sifat farmakologi, tetapi sifat yang sama juga ditemukan dalam cangkangnya. Sesuai dengan hasil penelitian Subbiah et al. (2019) menunjukkan bahwa ekstrak air cangkang *C. bonduc* memiliki nilai IC_{50} 350.638 µg/mL.

3. Antidiabetes

Patel dan Joshi (2020) mengevaluasi aktivitas antidiabetes ekstrak air daun *C. bonduc* pada tikus diabetes yang diinduksi Streptozotocin. Perbandingan dilakukan antara ekstrak daun *C. bonduc* dengan dosis 100 mg dan 200 mg/kg bb. dan obat antidiabetes glibenklamid (4 mg). Hasil penelitian menunjukkan penurunan kadar glukosa darah berturut-turut pada hewan diabetes.

Evaluasi ekstrak air biji *C. bonduc* juga telah dilakukan melalui pemberian secara oral dengan dosis 250 mg/kg bb tikus terhadap beberapa model tikus, yaitu tikus puasa, yang diberi makan, diberi glukosa, tikus diabetes streptozotocin, dan tikus diabetes alloxan. Hasilnya menunjukkan *C. bonduc* sangat signifikan dalam menurunkan kadar glukosa pada model tikus yang diberi glukosa, tikus diabetes streptozotocin dan alloxan (Biswas et al., 1997).

Evaluasi ekstrak berbeda dari *C. bonduc* dalam model diabetes kronis tipe 2 bersama dengan aktivitas insulin secretagogue dari lima fraksi yang diisolasi dari biji *C. bonduc* telah dilakukan. Ekstrak air dan etanol menunjukkan aktivitas hipoglikemik yang kuat pada model diabetes kronis tipe 2. Dua fraksi BM 169 dan BM 170 dapat meningkatkan sekresi insulin dari islet yang diisolasi dari pankreas tikus (Chakrabarti et al., 2005).

Hal ini juga sesuai dengan penelitian Prashant dan Bhanudas (2011) bahwa pemberian ekstrak *C. bonduc* pada semua dosis yang diuji (250 mg dan 500 mg/kg bb) secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan kadar glukosa darah puasa pada tikus yang diobati dibandingkan dengan tikus diabetes yang tidak diobati (kontrol uji).

Dwitasari et al. (2018) juga melaporkan bahwa ekstrak *C. bonduc* memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim α -glukosidase. Perhitungan terhadap konsentrasi inhibisi (IC_{50}) untuk fraksi etil asetat adalah 1655.8079 $\mu\text{g/ml}$ untuk substrat 5 mM dan 803.9521 $\mu\text{g/ml}$ untuk substrat 10 mM.

4. antiinflamasi

Dalam ekstrak air (1000 $\mu\text{g/mL}$), aktivitas antiinflamasi dalam hal penghambatan denaturasi protein (94,15%), penghambatan aktivitas protease (32,40%) dan stabilisasi membran HRBC (81,66%). Aktivitas antioksidan yang kuat terlihat pada ekstrak air berdasarkan hasil pemeriksaan radikal DPPH (90%) dan peroksidasi lipid (99,69%), yang lebih tinggi dari standar BHT (Manikandaselvi et al., 2016).

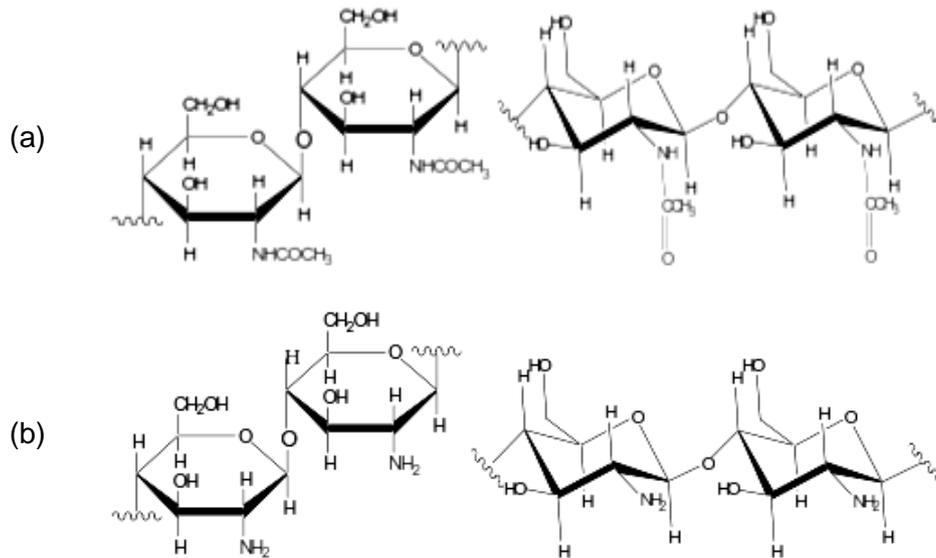
2.2. Kitosan

Kitosan merupakan polimer alam yang saat ini menjadi perhatian peneliti untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku berbagai keperluan industri. Kitosan adalah polisakarida yang banyak terdapat di alam setelah selulosa. Kitosan merupakan suatu senyawa poli (*N*-amino-2 deoksi β -D-glukopiranososa) atau glukosamin hasil deasetilasi kitin atau poli (*N*-asetil-2-amino-2-deoksi β -D-glukopiranososa) yang diproduksi dalam jumlah besar di alam, yaitu terdapat pada limbah udang dan kepiting (Agustina dan Kurniasih, 2013), juga limbah ikan (Azizati, 2019).

Pemanfaatan limbah kulit udang sebagai kitosan selain dapat mengatasi masalah lingkungan juga dapat menaikkan nilai tambah bagi petani udang (Ramadhan, 2010). Preparasi kitosan terbagi menjadi tiga tahap, yaitu deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi (Meicahayanti et al., 2018). Isolasi kitosan meliputi preparasi limbah kulit udang menjadi kitin dan deasetilasi kitin menjadi kitosan (Azizati, 2019).

Kitosan dapat terbentuk dengan pengurangan gugus asetil dengan adanya proses deasetilasi. Keberadaan kitin sangat berlimpah di alam, dan menurut beberapa penelitian ternyata kitosan memiliki berbagai aktivitas farmakologi seperti sebagai antibakteri, antioksidan, antihiperglikemik, antimalarial, antiulcer, antifungal, dan antitoxoplasma. Dengan begitu dapat diketahui bahwa kitin memiliki banyak manfaat bagi kelangsungan hidup manusia (Marieta dan Musfiroh, 2019). Bila kitosan dikonsumsi di dalam tubuh manusia. Kitosan bisa berfungsi menyerap lemak. Kemampuan kitosan untuk menyerap lemak tergantung pada derajat deasetilasinya (Hargono et al., 2008).

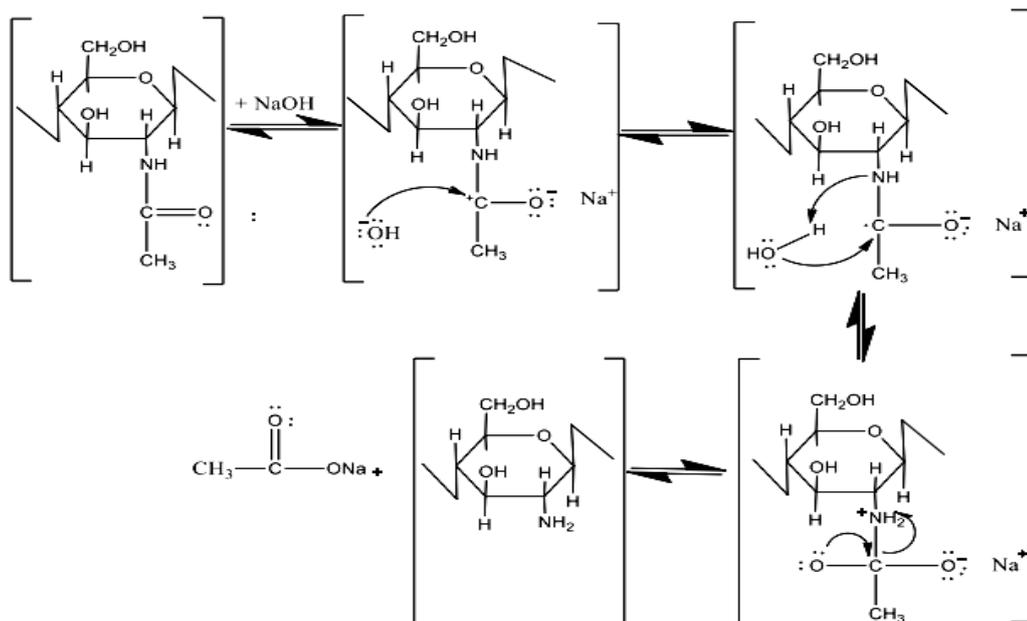
Kitosan merupakan produk deasetilasi kitin baik melalui proses reaksi kimia maupun reaksi enzimatik. Senyawa ini dapat ditemukan pada cangkang udang, kepiting, mollusca, serangga, annelida serta beberapa dinding sel jamur dan alga. Hasil modifikasi kitosan menghasilkan sifat dan manfaat yang spesifik. Secara komersial telah menghasilkan inovasi diberbagai bidang seperti; industri pangan, kosmetika, pertanian, farmasi, pengolahan limbah dan penjernihan air. Pesatnya minat dalam mengeksplorasi kitosan, semakin membuktikan bahwa prospek kitosan begitu menjanjikan. Perolehannya sangat mudah karena menggunakan bahan baku limbah invertebrata laut, biaya rendah, terbiodegradasi dan ramah terhadap lingkungan (Hasri, 2010).



Gambar 2. (a) Struktur kitin dan (b) Struktur kitosan (Kusumaningsih, 2004).

Pembuatan kitosan dilakukan melalui tiga tahap, yaitu tahap deproteinasi untuk menghilangkan protein, tahap demineralisasi untuk menghilangkan mineral, dan tahap deasetilasi untuk menghilangkan gugus asetil yang terdapat dalam kitin dan membentuk kitosan (Susanti dan Purwanti, 2020).

Secara umum reaksi pembentukan kitosan dari kitin merupakan reaksi hidrolisis suatu amida oleh suatu basa. Kitin bertindak sebagai amida dan NaOH sebagai basa dengan mekanisme reaksi disajikan pada Gambar 3.

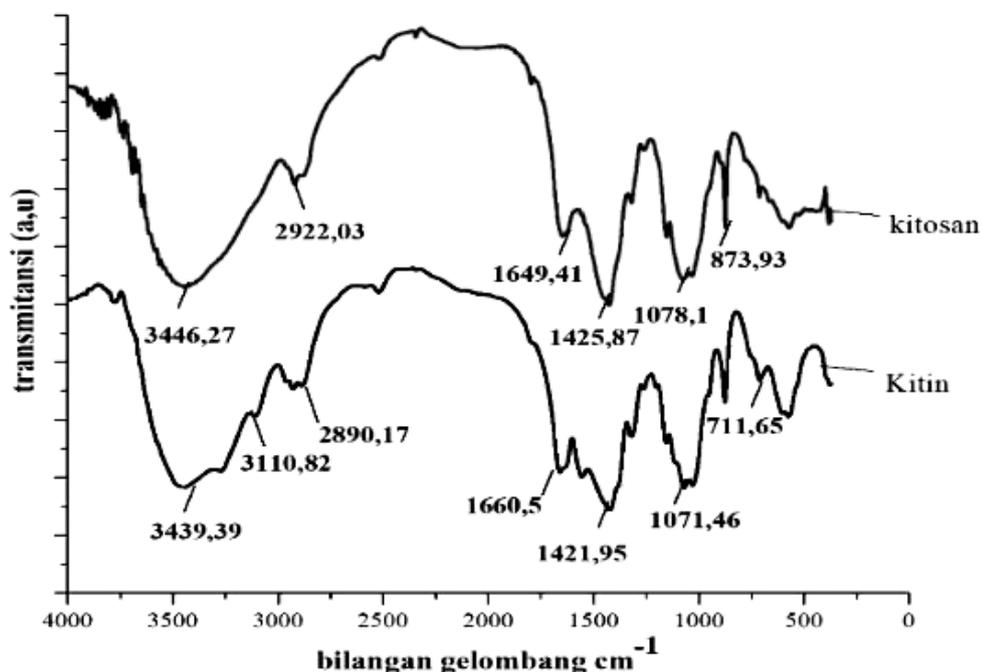


Gambar 3. Mekanisme reaksi sintesis kitosan (Nurmala et al., 2018).

Proses ini dilakukan dengan menambahkan NaOH 70%. Kemudian dilakukan pengadukan selama 90 menit dengan suhu 70°C. Selanjutnya dilakukan pencucian hingga pH filtrat netral dan dikeringkan kembali dengan menggunakan oven (Meicahayanti et al., 2018).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat deasetilasi meningkat seiring dengan peningkatan penambahan NaOH yaitu dengan 1 kali penambahan NaOH dalam waktu 3 jam menghasilkan derajat deasetilasi 79%, 2 kali penambahan NaOH dalam waktu 6 jam menghasilkan derajat deasetilasi 85,9 % dan 3 kali penambahan NaOH dalam waktu 9 jam menghasilkan derajat deasetilasi sebesar 89,95%. Dengan demikian penambahan NaOH secara bertahap dapat meningkatkan derajat deasetilasi (Bahri et al., 2015).

Kitin dan kitosan hasil sintesis selanjutnya dikarakterisasi menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi. Derajat deasetilasi kitin dan kitosan dihitung menggunakan metode *baseline*. Hasil Spektrum FTIR kitin dan kitosan disajikan pada Gambar 4. Selanjutnya parameter lain guna mengetahui mutu kitosan adalah kadar air dan kadar abu (Nurmala et al., 2018).



Gambar 4. Spektrum FTIR kitin dan kitosan (Nurmala et al., 2018).

Berdasarkan Gambar 4, dapat diketahui bahwa muncul serapan yang menunjukkan vibrasi ikatan -OH pada 3439,39 cm⁻¹ untuk kitin dan 3446,27 cm⁻¹ untuk kitosan. Vibrasi ulur -NH muncul pada serapan 3110,82 cm⁻¹ untuk kitin,

sedangkan pada kitosan terjadi tumpang tindih vibrasi ulur NH pada serapan $3446,27\text{ cm}^{-1}$. Pita serapan $2890,17\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi C-H ulur pada kitin dan $2922,03\text{ cm}^{-1}$ pada kitosan. Vibrasi C=O yang terdapat pada bilangan gelombang $1680-1660\text{ cm}^{-1}$ muncul pada bilangan gelombang $1660,50\text{ cm}^{-1}$ untuk kitin, Namun, serapan ini tidak muncul pada spektrum kitosan, yang menandakan terjadi pemutusan gugus C=O selama reaksi deasetilasi. Vibrasi CH_3 muncul pada serapan $1421,95\text{ cm}^{-1}$ untuk kitin dan $1425,87\text{ cm}^{-1}$ untuk kitosan. Vibrasi C-O-C muncul pada bilangan gelombang $1071,46\text{ cm}^{-1}$ untuk kitin dan $1078,1\text{ cm}^{-1}$ untuk kitosan. Pada spektrum kitosan muncul serapan baru pada $873,93\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi NH_2 , dan serapan ini tidak muncul pada spektrum kitin. Hal ini menunjukkan, selama reaksi deasetilasi terbentuk gugus NH_2 yang merupakan serapan khas kitosan. Berdasarkan analisis menggunakan metode *baseline* didapatkan derajat deasetilasi kitin sebesar 62,56% dan 72,30% untuk kitosan (Nurmala et al., 2018).

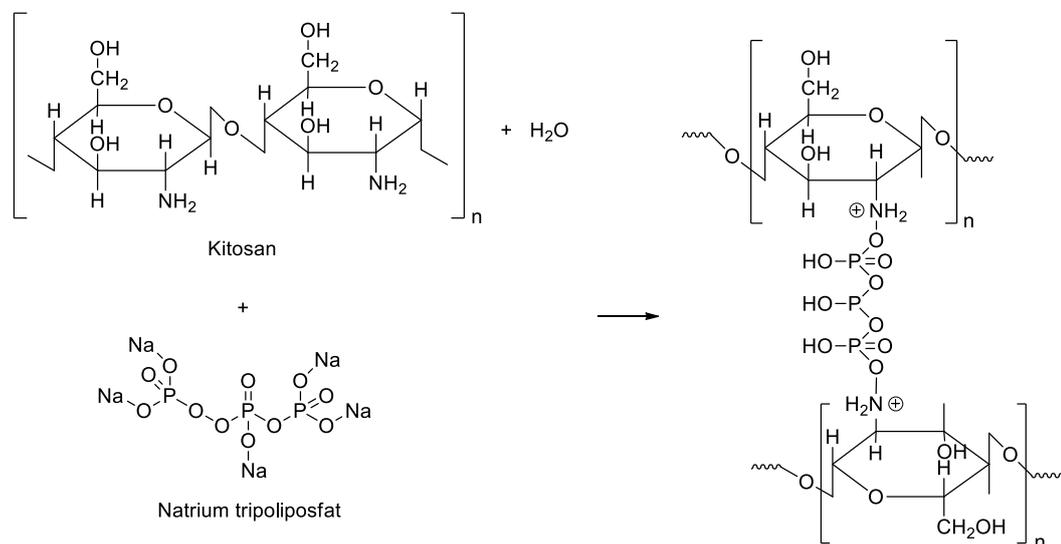
Kitosan memiliki potensi aplikasi yang sangat luas dan Indonesia memiliki sumber bahan baku yang cukup melimpah untuk mengolahnya, seperti cangkang kepiting, rajungan, dan kulit udang. Kitosan memiliki sifat yang menguntungkan, yaitu *biocompatible*, *biodegradable*, tidak beracun, dan tidak mahal. Saat ini telah banyak penelitian pemanfaatan kitosan menjadi nanopartikel sebagai penghantar obat bagi berbagai target terapi. Nanopartikel Kitosan dapat diolah dengan berbagai metode, diantaranya metode ikatan silang emulsi, presipitasi, pengeringan semprot, penggabungan droplet emulsi, gelasi ionik, *reverse micellar method*, dan kompleks polielektrolit (Irianto dan Muljanah, 2011).

Nanopartikel kitosan memiliki prospek yang baik untuk diterapkan pada industri farmasi, khususnya sebagai penghantar obat dengan berbagai target pengobatan. Nanopartikel kitosan diperkirakan memiliki harga yang tinggi, sehingga layak untuk dikembangkan di Indonesia. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengkajian pengembangan industri kitosan di Indonesia dengan kapasitas disesuaikan kebutuhan yang mengikuti perkembangan permintaan terhadap nanopartikel kitosan oleh industri farmasi. Kitosan dapat diproduksi pada rentang bobot molekul yang lebar, memudahkannya dalam pengembangan formulasi nanopartikel sesuai yang dibutuhkan (Irianto dan Muljanah, 2011).

Pada teknologi nano, suatu partikel didefinisikan sebagai objek kecil yang berperilaku seperti unit utuh dalam hal penghantaran dan sifat-sifatnya. Nanopartikel merupakan partikel koloid padat dengan diameter berkisar antara

1–1000 nm. Dengan nanoteknologi, material dapat didesain sedemikian rupa dalam orde nano, sehingga dapat diperoleh sifat dan material yang kita inginkan tanpa melakukan pemborosan atom-atom yang tidak diperlukan (Tiyaboonchai, 2003). Aplikasi nanoteknologi dimaksudkan untuk menghasilkan material berskala nanometer, mengeksplorasi dan merekayasa karakteristik material tersebut, serta mendesain ulang material tersebut ke dalam bentuk, ukuran, dan fungsi yang diinginkan. Nanopartikel sebagai partikulat material dengan paling sedikit satu dimensi lebih kecil dari 100 nm mempunyai luas permukaan yang besar terhadap perbandingan volume (Siregar, 2009).

Nanokitosan dapat dibuat dengan menggunakan beberapa metode, salah satunya dengan metode gelasi ionik yang didasarkan pada interaksi elektrostatis antara grup amina kitosan dan grup muatan negatif polianion seperti tripolifosfat (TPP) (Tiyaboonchai, 2003). Larutan natrium tripolifosfat (NaTPP) digunakan sebagai pengikat silang (*cross linker*) untuk membentuk senyawa kompleks. Akibat kompleksasi antara muatan yang berbeda, kitosan mengalami gelasi ionik dan presipitasi membentuk partikel bulat seperti bola, reaksi yang terjadi seperti pada Gambar 5.



Gambar 5. Proses ikat silang antara kitosan dan TPP

Pembentukan nanokitosan dapat dipengaruhi beberapa faktor, antara lain: 1) konsentrasi kitosan, menurut Fan et al. (2012), konsentrasi kitosan yang tinggi menyebabkan jumlah kitosan berlebih sehingga kitosan tersebut cenderung berikatan tidak beraturan satu dengan yang lain sehingga membentuk

satu partikel dengan ukuran besar. 2) konsentrasi NaTPP, mempengaruhi kestabilan dan kekuatan matriks nanokitosan sehingga membuat nanopartikel kuat dan sulit terpecah (Handayani et al., 2018). Dalam penelitian ini, pembentukan nanokitosan terbentuk pada konsentrasi NaTPP tertentu. 3) derajat deasetilasi kitosan, hal ini berhubungan dengan banyaknya gugus amina yang terkandung pada kitosan (Suptijah et al., 2011). Semakin tinggi derajat deasetilasi, jumlah gugus amina pada kitosan akan semakin bertambah sehingga akan lebih banyak berikatan silang ionik dengan natrium tripolifosfat membentuk nanokitosan (Qonitannisa et al., 2020). 4) rasio volume kitosan dan NaTPP, dimana ukuran partikel meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi dan volume rasio kitosan dan NaTPP (Mardliyati et al., 2012).

Kemampuan kitosan dalam membentuk nanopartikel juga bergantung pada derajat deasetilasinya, yang berhubungan dengan banyaknya gugus amina yang terkandung pada kitosan (Suptijah et al., 2011). Semakin tinggi derajat deasetilasi, jumlah gugus amina pada rantai molekul kitosan akan semakin bertambah, sehingga kitosan semakin murni. Banyaknya gugus amina pada kitosan akan membuat kitosan semakin aktif sehingga akan lebih mudah dilarutkan dalam larutan asam. Kitosan yang larut dalam larutan asam akan lebih banyak berikatan silang ionik dengan natrium tripolifosfat sehingga partikel yang dihasilkan semakin kecil. Semakin tinggi konsentrasi kitosan yang digunakan, maka akan semakin besar pula ukuran nanopartikel dan indeks polidispersitas yang dihasilkan (Qonitannisa, 2020).

Modifikasi ekstrak biji limus menjadi sediaan nanopartikel ekstrak biji limus dapat meningkatkan aktivitas antioksidan yang diuji secara invitro menggunakan metode DPPH. Nanopartikel ekstrak biji limus memiliki potensi yang sangat baik sebagai antioksidan alami berdasarkan hasil analisis statistik yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan standar vitamin C ($p < 0,05$) (Nurviana et al., 2020).

Kitosan dapat bertindak sebagai antioksidan. Dalam tingkat sel, peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) hasil dari stress oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Kelebihan dari ROS dapat diturunkan dengan antioksidan. Kitosan, turunan kitin, merupakan ekstrak kulit krustasea. Gugus amino (NH_2) dan gugus hidroksil (OH) di dalam kitosan merupakan kunci gugus fungsional adalah kunci dari aktifitas antioksidan pada kitosan (Aprilia, 2015.). Kitosan juga memiliki fungsi sebagai antibakteri dan digunakan sebagai pengawet makanan (Sombo, 2020).

2.3. Tinjauan Umum Radikal Bebas

Tubuh manusia mengandung molekul oksigen yang stabil dan yang tidak stabil. Molekul oksigen yang stabil penting untuk memelihara kehidupan sel. Dalam jumlah tertentu radikal bebas diperlukan untuk kesehatan, akan tetapi radikal bebas bersifat merusak dan sangat berbahaya. Adanya elektron yang tidak berpasangan pada bagian orbital luarnya mengakibatkan senyawa tersebut sangat reaktif untuk mencari pasangannya. Senyawa ini mengikat atau menyerang elektron molekul yang berada di sekitarnya. Radikal bebas biasanya mengikat molekul besar seperti karbohidrat, lemak, protein, maupun DNA. Apabila hal tersebut terjadi, maka akan mengakibatkan kerusakan sel atau pertumbuhan sel yang tidak bisa dikendalikan (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dalam tubuh pada dasarnya dapat diatasi oleh antioksidan endogen seperti enzim *catalase* yang berikatan dengan Fe, *glutathione peroxidase* dan *glutathione S-transferase* yang berikatan dengan Se, *superoxide dismutase* yang berikatan dengan Cu, Zn dan Mn, akan tetapi jika senyawa radikal bebas terdapat berlebih dalam tubuh atau melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler, maka dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk. Antioksidan memiliki kemampuan mendonorkan elektron dan dapat berfungsi sebagai agen pereduksi sehingga dapat mengkhelat ion metal dan mengurangi potensi radikal dalam tubuh (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Radikal bebas adalah produk antara yang terbentuk dalam berbagai proses reaksi kimia dalam tubuh dan juga dari lingkungan yang terpolusi seperti asap rokok, asap kendaraan, bahan pencemar, dan juga radiasi. Jumlah radikal bebas dalam batas tertentu akan bersifat positif karena berperan penting bagi kesehatan dan fungsi tubuh dalam memerangi peradangan dan membunuh penyakit seperti bakteri. Namun, apabila radikal bebas dihasilkan melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan selulernya maka radikal bebas akan merubah fungsi dan berpengaruh pada proses munculnya penyakit (Muhammad, 2009).

Radikal bebas dan *Reactive oxygen Species* (ROS) merupakan penyebab terjadinya penyakit seperti kanker, diabetes, kardiovaskular dan inflamatori. Adanya peningkatan jumlah radikal bebas dan produksi ROS yang berlebih dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan sistem kekebalan tubuh. Oleh karena itu, diperlukan tambahan antioksidan dari luar

tubuh. Selama ini ada beberapa obat sintesis antioksidan seperti BHA (Butil Hidroksi Anisol) dan BHT (Butil Hidroksil Toluena). Pada penggunaannya, obat ini menimbulkan efek samping. Oleh karena itu, diperlukan sumber antioksidan dari alam yang tidak memiliki efek samping jika dikonsumsi.

Tumbuhan *Caesalpinia digyna* secara tradisional digunakan untuk pengobatan penyakit diabetes dan inflamasi. ROS dan radikal bebas diketahui memainkan peran penyebab dalam penyakit ini, sehingga secara tidak langsung *Caesalpinia digyna* dapat menghambat radikal bebas dan memiliki sifat antioksidan dalam mengurangi gejala diabetes maupun inflamasi. Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol akar *Caesalpinia digyna* menunjukkan efek penghambatan yang kuat pada radikal bebas DPPH, radikal kation garam 2,2-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonic) diammonium (ABTS), hidrogen peroksida, oksida nitrat, radikal hidroksil dan penghambatan peroksidasi lipid. Efek penghambatan radikal bebas ekstrak tumbuhan ini sebanding dengan antioksidan pembanding. Sifat antioksidan ini juga diperkuat dengan kandungan senyawa fenoliknya yang sangat tinggi. Analisis fitokimia yang dilakukan mengungkapkan adanya steroid, terpenoid, tanin, flavonoid, kumarin dan karbohidrat. Sejumlah laporan ilmiah menunjukkan bahwa terpenoid, steroid dan senyawa fenolik seperti tanin, kumarin dan flavonoid memiliki efek perlindungan karena sifat antioksidan (Srinivasan et al., 2007).

2.4. Tinjauan Umum Antioksidan

Dewasa ini antioksidan menjadi topik penting dalam berbagai disiplin ilmu. Khususnya dalam bidang kedokteran dan kesehatan, teori tentang senyawa radikal, radikal bebas dan antioksidan semakin berkembang. Hal ini didasari karena semakin dimengerti bahwa sebagian besar penyakit diawali oleh reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Penelitian tentang antioksidan alami dalam bahan pangan semakin diminati akhir-akhir ini, dikarenakan beberapa antioksidan sintesis yang biasa digunakan oleh industri pangan, seperti BHA dan BHT, diduga bersifat karsinogenik (penyebab kanker). Sementara itu, di lain pihak pilihan dan ketersediaan terhadap antioksidan alami masih terbatas (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan diperlukan untuk mencegah terjadinya stres oksidatif, yang berperan penting dalam etiologi terjadinya berbagai penyakit degeneratif (Werdhasari, 2014).

Antioksidan dapat diartikan sebagai molekul yang mampu menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel. Antioksidan dapat menghambat atau menunda oksidasi sebuah substrat (Zalukhu et al., 2016). Perbedaan letak geografis suatu tanaman dapat menyebabkan perbedaan pada kandungan kimianya. Kandungan kimia yang berbeda dapat menyebabkan perbedaan aktivitas farmakologi tanaman, salah satunya adalah aktivitas antioksidan (Setiawan et al., 2018).

2.4.1. Fungsi Antioksidan

Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga apabila terbentuk banyak radikal maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron (*electron donor*) kepada radikal bebas untuk menghambat reaksi radikal bebas (Ridho et al., 2013).

Aktifitas radikal bebas yang berlebihan pada tubuh manusia dapat ditandai dari keadaan patologis seperti: penyakit pembuluh jantung, komplikasi pre-natal, arthritis, katarak, parkinson, alzheimer, dan penyakit penuaan. Salah satu cara pencegahan pembentukan radikal bebas adalah dengan menggunakan nutrisi yang dapat berperan sebagai antiradikal bebas atau sebagai antioksidan. Antioksidan alami terdapat dalam buah-buahan dan sayuran yang merupakan anti radikal bebas yang efektif dan dianggap tidak beracun jika dibandingkan dengan anti oksidan sintesis (Faisal, 2013).

2.4.2. Mekanisme kerja antioksidan

Secara alami sistem antioksidan tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas telah ada dalam tubuh. Ada dua macam antioksidan, antioksidan internal dan eksternal. Antioksidan internal adalah

antioksidan yang diproduksi oleh tubuh sendiri. Tetapi kemampuan ini ada batasnya dan akan semakin berkurang dengan bertambahnya usia. Antioksidan memiliki kemampuan mendonorkan elektron dan dapat berfungsi sebagai agen pereduksi sehingga dapat mengkhelat ion logam dan mengurangi potensi radikal dalam tubuh. Berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya, antioksidan dibagi menjadi 3, yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi) atau dikenal juga dengan istilah *chain-breaking-antioxidant* (Winarsi, 2007).

Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*). Antioksidan sekunder ini bekerja dengan satu atau lebih mekanisme berikut:

- (a) memberikan suasana asam pada medium (sistem makanan)
- (b) meregenerasi antioksidan utama
- (c) mengkelat atau mendeaktifkan kontaminan logam prooksidan
- (d) menangkap oksigen
- (e) mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen.

Pada antioksidan tersier enzim-enzim berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat aktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA akibat radikal bebas dapat dicirikan oleh rusaknya *single* atau *double strand* pada gugus basa dan non-basa (Winarsi, 2007).

Mekanisme perlawanan tubuh terhadap stres oksidatif adalah melalui antioksidan endogen. Apabila jumlah radikal bebas dan spesies reaktif dalam tubuh melebihi kemampuan antioksidan endogen, maka tubuh memerlukan asupan antioksidan yang didapat dari makanan atau obat-obatan.

Tumbuhan keluarga *Caesalpiniaceae* telah terbukti secara ilmiah memiliki kemampuan antioksidan yang sangat baik, seperti *Caesalpinia bonduc* (L) Roxb. Ekstrak etanol daun tumbuhan ini menunjukkan penghambatan $83,733 \pm 0,123\%$ untuk uji DPPH yang diukur secara spektrofotometri. Hasil pengujian FRAP (untuk menilai daya reduksi besi), radikal superoksida, oksida nitrat dan hidrogen peroksida jika dibandingkan dengan standar memberikan hasil yang lebih baik

sehingga membuktikan potensi antioksidan dari ekstrak daun *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb (Sivasankari et al., 2011).

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun *C. bonduc* menunjukkan flavonoid dan saponin. Kandungan flavonoid dan fenolik total tertinggi pada ekstrak daun dan menunjukkan aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH tertinggi, yaitu 79,802 g/mL (Sembiring et al., 2018). Ekstrak etanol biji *C. bonduc* juga menghambat radikal hidroksil, oksida nitrat, anion superoksida dengan nilai IC₅₀ masing-masing 109,85, 102,65 dan 89,84 g/mL (Shukla et al., 2009).

Ekstrak metanol daun *Caesalpinia bonducella* Flem. menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat, kemampuan mereduksi, penghambatan radikal DPPH, anion superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil dibandingkan standar seperti BHT, BHA, dan tokoferol.

Zalukhu et al. (2016) menjelaskan beberapa mekanisme kerja antioksidan nutrisi antara lain menetralkan radikal bebas, mengurangi konsentrasi peroksida dan memperbaiki oksidasi membran, mendorong besi untuk menurunkan produksi ROS, menetralkan ROS melalui metabolisme lipid, asam lemak bebas rantai pendek, dan kolesterol ester. Manusia memiliki sistem antioksidan kompleks baik enzimatis maupun non-enzimatis yang bekerja sinergis untuk melindungi sel dan sistem organ dari kerusakan akibat radikal bebas. Antioksidan endogen berperan menjaga fungsi seluler yang optimal dan kesehatan sistemik secara umum.

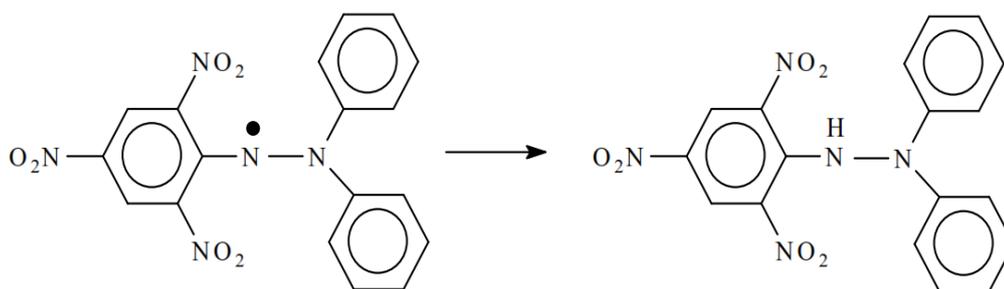
2.4.3. Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Metode DPPH adalah metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Peredaman radikal DPPH terjadi ketika ada senyawa yang mampu mendonorkan elektron atau protonnya, senyawa inilah yang berperan sebagai antioksidan misalnya vitamin yang bersifat antioksidatif maupun komponen aromatik *polyhydroxy*.

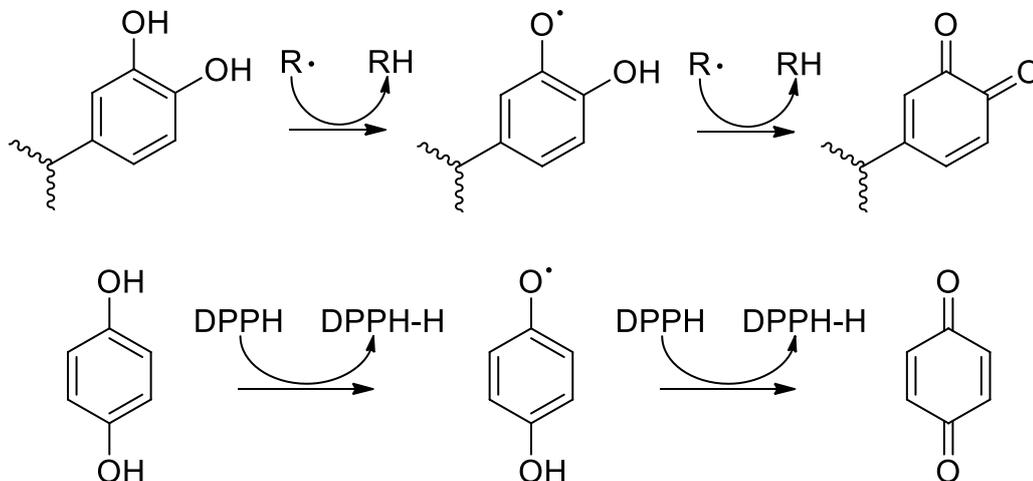
Pada metode ini, DPPH akan berubah menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau

kuning pucat dan bisa diamati dan dilihat menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan. Larutan DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Peredaman warna DPPH terjadi disebabkan oleh adanya senyawa yang bisa memberikan radikal hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin). Reaksi reduksi DPPH tersebut dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Reaksi reduksi DPPH (Sayuti dan Yenrina, 2015).



Gambar 7. Mekanisme flavonoid dan fenolik sebagai antioksidan (Kumaradewi, 2021).

2.5. Tinjauan Umum Tentang Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat membunuh bakteri penyebab infeksi. Bakteri penyebab infeksi dan penyakit banyak ditemui di lingkungan sekitar kita termasuk bakteri

Staphylococcus aureus (Gram positif) dan *Escherichia coli* (Gram negatif) yang dapat menimbulkan infeksi atau penyakit dalam tubuh. Penyakit pneumonia, luka, radang paru-paru, dan endokarditis atau sepsis adalah infeksi dan penyakit yang dihasilkan oleh bakteri *S. aureus* (Magani et al., 2020; Angelica, 2013).

Pada sebagian kasus infeksi, penggunaan antibiotik sangat diperlukan, tetapi bila berlebihan dapat menyebabkan beberapa bakteri resisten atau bertahan hidup karena adanya perubahan genetik. Salah satu contohnya yaitu *S. aureus* yang resisten terhadap penisilin, nafsilin dan vankomisin. Toksisitas terhadap manusia dan hewan dari antibiotik umumnya dianggap rendah. Namun, penggunaan jangka panjang antibiotik tertentu dapat berdampak negatif bagi kesehatan. Konsekuensi dari penggunaan antibiotik yang meluas dan tidak bijaksana telah terlihat munculnya patogen resisten antibiotik, sehingga menjadi ancaman serius bagi kesehatan masyarakat global (Savaji et al., 2014).

Masalah resistensi menuntut upaya baru untuk mencari agen antibakteri yang efektif melawan bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik saat ini. Kemungkinan strategi menuju tujuan ini termasuk peningkatan penggunaan senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh tanaman dan sumber lainnya. Obat herbal atau tanaman obat, ekstraknya dan senyawanya yang diisolasi telah menunjukkan spektrum aktivitas biologis (Savaji et al., 2014). Tumbuhan secara empiris dapat digunakan sebagai bahan yang dapat mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen. Bakteri yang seringkali berhubungan dengan aktivitas hidup manusia adalah *S. aureus* dan *E. coli*.

Bakteri *S. aureus* adalah bakteri berbentuk kokus berdiameter 1 μm yang pada pewarnaan bersifat Gram positif, jika dilihat dibawah mikroskop berbentuk seperti anggur (Khasanah dan Nugraheni, 2021). Bakteri *S. aureus* menjadi salah satu bakteri yang berperan dalam terjadinya penyakit infeksi seperti mastitis, dermatitis, infeksi saluran pernapasan, dan sindrom syok toksik. Terapi yang bisa diberikan pada penderita infeksi *S. aureus* adalah antibiotik seperti cloxacillin, dicloxacillin dan eritromycin. Tetapi pengaplikasian antibiotik yang tidak sesuai dapat menimbulkan terjadinya resistensi.

Upaya yang dapat dilakukan untuk menangani resistensi tersebut adalah dengan menggunakan bahan herbal sebagai bahan dasar terapi. Hingga saat ini bahan herbal masih sering dimanfaatkan sebagai bahan dasar terapi seiring dengan meningkatnya kepercayaan masyarakat terhadap efek samping yang ditimbulkan tidaklah berbahaya (Wikananda et al., 2019).

Bakteri *E. coli* termasuk kelompok bakteri *Enterobacteriaceae* yang sering mengkontaminasi makanan sehingga dapat menyebabkan diare. Bakteri ini sangat sulit diobati apabila mampu memproduksi enzim *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBLs) (Prasetya et al., 2019). *Escherichia coli* merupakan bagian dari mikroflora yang secara normal hidup dalam saluran pencernaan manusia dan hewan (Trisno et al., 2019).

Bakteri *E. coli* adalah bakteri Gram negatif yang resisten terhadap beberapa antibakteri hal ini disebabkan karena tiga lapisan dinding sel pada bakteri ini, sehingga beberapa senyawa tidak mampu merusak jaringan dari dinding sel bakteri *E. coli*. Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung tiga polimer yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan dalam peptidoglikan dan membran luar berupa bilayer (mempunyai ketahanan lebih baik terhadap senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik) (Septiani et al., 2017).

Helmiyati dan Nurrahman (2010) menambahkan bahwa pada dasarnya dinding sel yang paling mudah terjadi denaturasi adalah dinding sel yang tersusun oleh polisakarida di dibandingkan dengan dinding sel yang tersusun oleh fosfolipid. Gram positif dinding selnya mengandung peptidoglikan dan juga asam teikoat dan asam teikuronat. Oleh sebab itu, dinding sel bakteri Gram positif sebagian besar adalah polisakarida.

Pada dinding sel bakteri Gram negatif terdapat peptidoglikan yang sedikit sekali dan berada diantara selaput luar dan selaput dalam dinding sel. Dinding sel bakteri Gram negatif sebelah luar merupakan komponen yang terdiri dari fosfolipid dan beberapa protein yang sering disebut sebagai auto layer. Dapat disimpulkan bakteri Gram positif mengalami proses denaturasi sel terlebih dahulu dibandingkan dengan bakteri Gram negatif (Helmiyati dan Nurrahman, 2010).

Antibakteri adalah suatu senyawa yang digunakan untuk menghambat bakteri. Antibakteri biasanya terdapat dalam suatu organisme sebagai metabolit sekunder. Senyawa yang berperan dalam merusak dinding sel antara lain fenol, flavonoid, dan alkaloid. Senyawa fitokimia tersebut berpotensi sebagai antibakteri alami pada bakteri patogen, contohnya bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Senyawa flavonoid dan tanin merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dari pada lapisan lipid yang non polar. Hal tersebut menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri Gram positif lebih besar dari pada bakteri Gram negatif (Septiani et al., 2017).

2.6. Kerangka Pikir

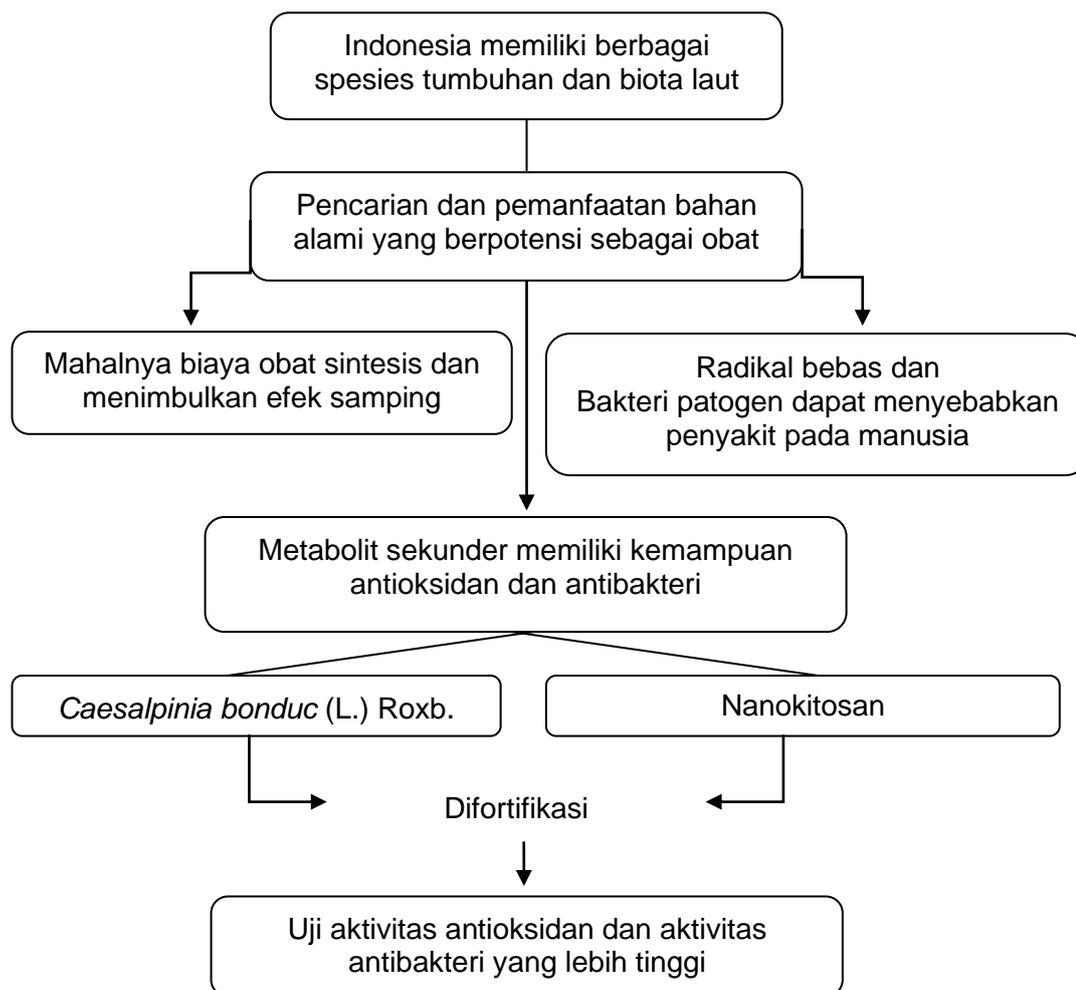
Indonesia adalah salah satu wilayah yang sangat kaya dengan berbagai spesies dan keanekaragamannya. Masyarakat Indonesia juga sudah sejak dulu memanfaatkan bahan alam untuk pengobatan berbagai macam penyakit. Berbagai jenis tumbuhan maupun biota laut tentunya mengandung molekul organik yang memiliki sifat obat sehingga mampu menyembuhkan penyakit. Hal ini dapat dijadikan sebagai objek penelitian dan pengembangan, mengingat banyaknya manfaat dari senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya terutama senyawa yang memiliki bioaktivitas tinggi.

Penggunaan obat-obatan tradisional kembali meningkat seiring dengan kesadaran masyarakat terhadap dampak yang ditimbulkan dari obat-obatan sintetik sehingga masyarakat beralih memanfaatkan berbagai jenis tumbuhan yang dipercaya memiliki khasiat, salah satunya adalah biji goreng.

Banyak penelitian yang melaporkan bahwa biji goreng memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antibakteri. Hal ini berkaitan dengan kandungan senyawa yang ada dalam biji goreng tersebut. Berdasarkan analisis fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tanin, triterpenoid, dan steroid.

Selain dari biji goreng yang menunjukkan sifat antioksidan dan antibakteri, beberapa penelitian menyebutkan bahwa nanokitosan juga menunjukkan sifat farmakologi tersebut. Nanokitosan adalah partikel yang diperoleh dari kitosan direaksikan dengan senyawa pengikat silang seperti natrium tripolifosfat. Perolehannya sangat mudah karena menggunakan bahan baku limbah invertebrata laut, biaya rendah, terbiodegradasi dan ramah terhadap lingkungan.

Kelimpahan sumber daya alam ini memberi peluang besar bagi para peneliti dalam mengembangkannya guna memperoleh aktivitas yang lebih maksimal. Biji goreng maupun nanokitosan memberikan efek antioksidan dan antibakteri dan penggabungan pada kedua ekstrak ini diharapkan dapat meningkatkan aktivitasnya. Proses ini dikenal dengan fortifikasi, yaitu penambahan atau penggabungan suatu bahan untuk meningkatkan mutunya. Oleh karena itu, dilakukanlah penelitian mengenai fortifikasi ekstrak biji goreng dengan nanokitosan untuk memperoleh aktivitas antioksidan dan antibakteri yang lebih baik.



Gambar 8. Kerangka pikir penelitian

2.7. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. ekstrak metanol biji goreng mengandung senyawa metabolit sekunder yang bertindak sebagai antioksidan dan antibakteri.
2. ekstrak metanol biji goreng mengandung senyawa flavonoid dan fenolik total yang tinggi.
3. karakteristik nanokitosan yang diperoleh dengan metode gelas ionik memiliki ukuran partikel kurang dari 100 nm.
4. ekstrak metanol biji goreng dan nanokitosan memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri.
5. ekstrak metanol biji goreng yang difortifikasi nanokitosan memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri yang lebih baik dibandingkan tanpa fortifikasi.