

**FORMULASI DAN EVALUASI MIKROKAPSUL  
EKSTRAK ETANOL BERAS KETAN HITAM  
(*Oryza sativa* Linn var. *glutinosa*) DENGAN  
METODE EMULSIFIKASI PAUTAN SILANG  
KITOSAN-GLUTARALDEHIDA**

**SATRIA PUTRA PENAROSA**

**N111 09 302**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

**FORMULASI DAN EVALUASI MIKROKAPSUL  
EKSTRAK ETANOL BERAS KETAN HITAM  
(*Oryza sativa* Linn var. *glutinosa*) DENGAN  
METODE EMULSIFIKASI PAUTAN SILANG  
KITOSAN-GLUTARALDEHIDA**

**SKRIPSI**

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat  
untuk mencapai gelar sarjana



**SATRIA PUTRA PENAROSA**

**N111 09 302**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

**PERSETUJUAN**

**FORMULASI DAN EVALUASI MIKROKAPSUL  
EKSTRAK ETANOL BERAS KETAN HITAM  
(*Oryza sativa* Linn var. *glutinosa*) DENGAN  
METODE EMULSIFIKASI PAUTAN SILANG  
KITOSAN-GLUTARALDEHIDA**

**SATRIA PUTRA PENAROSA**

**N111 09 302**

Disetujui oleh :

**Pembimbing Utama,**

**Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS., Apt.**

**NIP. 19570615 198403 2 002**

**Pembimbing Pertama,**

**Pembimbing Kedua,**

**Dr. Mufidah, S.Si., M.Si., Apt.**

**NIP. 19730309 199903 2 002**

**Nur Hasni Hasan, S.Si., M.Si, Apt.**

**NIP. 19860116 201012 2 009**

**Pada tanggal, 24 Juli 2013**

**PENGESAHAN**

**FORMULASI DAN EVALUASI MIKROKAPSUL  
EKSTRAK ETANOL BERAS KETAN HITAM  
(*Oryza sativa* Linn var. *glutinosa*) DENGAN  
METODE EMULSIFIKASI PAUTAN SILANG  
KITOSAN-GLUTARALDEHIDA**

Oleh :  
**SATRIA PUTRA PENAROSA**  
N111 09 302

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
Pada Tanggal 24 Juli 2013

**Panitia Penguji Skripsi**

- 
1. **Usmar, S.Si., M.Si., Apt.** .....  
(Ketua)
  2. **Dra. Hj. Nursiah Hasyim, CES., Apt.** .....  
(Sekretaris)
  3. **Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS., Apt.** .....  
(Ex. Officio)
  4. **Dr. Mufidah, S.Si., M.Si., Apt.** .....  
(Ex Officio)
  5. **Nur Hasni Hasan S.Si., M.Si., Apt.** .....  
(Ex Officio)
  6. **Prof. Dr. H. Faisal Attamimi, MS** .....  
(Anggota)

**Mengetahui :**  
**Dekan Fakultas Farmasi**  
**Universitas Hasanuddin**

**Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt.**  
**NIP. 19560114 198601 2 001**

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 24 Juli 2013

Penyusun,

Satria Putra Penarosa



## UCAPAN TERIMA KASIH

*Alhamdulillah*, tak ada kata yang pantas terucap selain puja dan puji syukur kepada Allah *swt*, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis mampu menyelesaikan penelitian dan merampungkan penyusunan skripsi ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan penelitian dan merampungkan penyusunan skripsi ini banyak rintangan dan hambatan yang dihadapi, namun dengan doa dan bantuan dari berbagai pihak, penelitian dan penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, perkenankanlah penulis mengungkapkan rasa terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada ayahanda Ir. Alimuddin Sam, M.Si., dan ibunda tersayang (Alm) Rosdiah (semoga Allah *swt* merahmatinya) dan Ibunda Rosminarti S,Pd. yang telah banyak memberikan pengorbanan baik moril maupun materil yang tidak akan mampu penulis balas sampai akhir hayat, di dalam doa yang senantiasa dipanjatkan sebagai pemacu penulis dalam menghadapi tantangan maupun rintangan selama penulis menjalani dunia perkuliahan. Penulis juga menyampaikan terimakasih kepada adinda Ahmad Fitrah Penarosa, Fahmi Arief Penarosa, Muh. Istiqamah Penarosa, dan Sahratunnisa Penarosa yang tiada hentinya memberikan semangat, dan untuk seluruh sanak famili yang sudah mendukung.

Rasa hormat, bangga, dan ucapan terima kasih dengan tulus penulis haturkan kepada Ibu Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS, Apt. selaku pembimbing utama, Ibu Dr. Mufidah, M.Si, Apt. selaku pembimbing pertama dan Ibu Nurhasni Hasan, MSi, Apt. selaku pembimbing kedua yang dengan penuh kesabaran dan pengertian dalam memberikan petunjuk, membagi ilmu dan menyumbangkan ide-ide dalam membimbing penulis selama melakukan penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.

Pada kesempatan ini pula, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dekan, Wakil Dekan, serta staf dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuan serta motivasi-motivasi yang diberikan
2. Ibu Dr. Mufidah, S.Si., M.Si., Apt selaku penasehat akademik yang telah memberikan bimbingan dan masukan yang bermakna bagi penulis.
3. Andi Arjuna, S.Si, Apt, Andi Dian Permana S.Si, Apt, Ismail S.Si, Apt, yang telah memberikan bantuan dan masukan selama penulis melakukan penelitian.
4. Sahabat-sahabat terdekat penulis khususnya Muh. Rezky Husein, Amal Rezka Putra, Nurhadri Azmi S.Si, Nurul Haq, Hendra, Andi Talbani, Irwan S.Si, Habiburrahim, Khairul Amry, Indra Latif, Purnawan Pontana, Harold, Kuandi, Syahrani Syahrir, Sasmita Sari, Resty Anugrah, Mutmainnah, Helmi Nurliani, Dewi Purwaningsih, Nur Afni,

Mauliyana Marhayu atas segala bantuan, kesenangan, waktu, dan menjadi tempat berkeluh kesah bagi penulis selama ini.

5. Ibu Sumiati, S.Si selaku analis laboratorium Farmaseutika, dan Ibu Haslia, S.Si selaku analis laboratorium Mikrobiologi Farmasi yang telah memberi bantuan atas segala kesulitan yang dihadapi penulis mulai dari awal hingga akhir penelitian.
6. Kepada teman-teman korps asisten Mikrobiologi dan korps asisten Farmaseutika terimakasih atas kebersamaannya selama ini.
7. Kepada segenap saudaraku angkatan 2009 (Ginkgo) Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
8. Kepada pihak yang tidak sempat disebut namanya. Semoga Allah *swt* membalas semua kebaikan kalian selama ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ini jauh dari kesempurnaan, karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi terciptanya suatu karya yang lebih bermutu. Akhirnya, semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan ke depannya. Amin.

Makassar, Juli 2013

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang mikroenkapsulasi ekstrak etanol beras ketan hitam dengan metode emulsifikasi pautan silang kitosan-glutaraldehida. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh formula mikrokapsul ekstrak etanol beras ketan hitam yang memiliki karakteristik mikrokapsul yang terbaik. Mikrokapsul yang terbentuk dengan perbandingan penyalut dan ekstrak masing-masing 1:1 (FI), 2:1 (FII), 3:1 (FIII), 4:1 (FIV), 5:1 (FV) dan mikrokapsul blanko (F Blanko). Validasi terhadap metode emulsifikasi pautan silang dilakukan untuk menetapkan berbagai parameter dalam menghasilkan mikrokapsul terbaik. Kemudian dilakukan evaluasi mikrokapsul meliputi uji kandungan antosianin, bentuk partikel dengan Scanning Electron Microscopy, ukuran partikel secara mikroskopik, ketebalan dinding mikrokapsul, efisiensi penjerapan, dan uji interferensi dengan FT-IR. Uji distribusi ukuran dengan mikroskop memperlihatkan diameter rata-rata keenam formula masing-masing adalah FI (161,9  $\mu\text{m}$ ), FII (224,7  $\mu\text{m}$ ), FIII (257,15  $\mu\text{m}$ ), FIV (247,61  $\mu\text{m}$ ), FV (259,6  $\mu\text{m}$ ), dan untuk F blanko (172,4  $\mu\text{m}$ ). Ketebalan dinding mikrokapsul masing-masing FI (12,49  $\mu\text{m}$ ), FII (22,47  $\mu\text{m}$ ), FIII (28,66  $\mu\text{m}$ ), FIV (28,57  $\mu\text{m}$ ), FV (30,54  $\mu\text{m}$ ). Hasil uji interferensi dengan FT-IR menunjukkan tidak terjadi interferensi antara zat aktif antosianin dari ekstrak dengan bahan penyalut. Hasil uji kandungan obat menunjukkan bahwa kadar antosianin yang terjerap dalam mikrokapsul FI (12,76 %), FII II (14,90 %), FIII (7,61 %), FIV (8,64 %), dan FV (7,96 %). Kesimpulan dari penelitian ini adalah sediaan mikrokapsul ekstrak etanol beras ketan hitam dengan metode emulsifikasi pautan silang kitosan-glutaraldehida memiliki karakteristik fisik yang baik, dan formula II memperlihatkan karakteristik fisik terbaik dan kandungan antosianin terbesar dengan efisiensi penjerapan 14,9%.

## ABSTRACT

A research concerning microencapsulation of ethanol extract of black glutinous rice was prepared by emulsion cross-linking of chitosan-glutaraldehyde method has been done. This study aims to make the formula of the microcapsules of ethanol extract of black glutinous rice with the best microcapsules characteristic. Microcapsules were formed with comparison of coating and extract of 1:1 (FI), 2:1 (FII), 3:1 (FIII), 4:1 (FIV), 5:1 (FV) and blank microcapsules (F Blanko) respectively. The validation of emulsion cross-linking of chitosan-glutaraldehyde method was prepared to determine some parameters to obtain best microcapsules. Furthermore, there was an evaluation of microcapsules include of testing anthocyanin content, particle shape in scanning electron microscopy (SEM), particle size with microscopy, the thickness of microcapsules wall, encapsulation efficiency, and intervention test using FTIR. Particle size with microscope show the mean diameter of each of the six formulas are FI (161.9  $\mu\text{m}$ ), FII (224.7  $\mu\text{m}$ ), FIII (257.15  $\mu\text{m}$ ), FIV (247.61  $\mu\text{m}$ ), FV (259.6  $\mu\text{m}$ ), and for F blanko (172.4  $\mu\text{m}$ ). Microcapsule wall thickness show that each of formulas are FI (12.49  $\mu\text{m}$ ), FII (22.47  $\mu\text{m}$ ), FIII (28.66  $\mu\text{m}$ ), FIV (28.57  $\mu\text{m}$ ), and FV (30.54  $\mu\text{m}$ ). The interference test with FT-IR showed no interference between the active compound anthocyanin with the coating material. Encapsulation efficiency test shows that the adsorbed anthocyanin levels in microcapsules are FI (12.76 %), F II (14.90 %), FIII (7.61 %), FIV (8.64 %), dan FV (7.96 %). The conclusion of this research was ethanol extract of black glutinous rice prepared by emulsion cross-linking of chitosan-glutaraldehyde method has a good physical characteristics, and Formula II shows the best physical characteristic and the highest anthocyanin content with encapsulation efficiency 14.9%.

## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN .....	iii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iv
LEMBAR PERNYATAAN .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT .....	x
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1 Uraian Tanaman .....	5
II.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	5
II.1.2 Morfologi Tanaman .....	5
II.1.3 Kandungan Kimia.....	7
II.1.4 Kegunaan Beras Ketan Hitam.....	7
II.2 Antosianin .....	8
II.3 Ekstraksi .....	11
II.3.1 Pengertian Ekstraksi .....	11
II.3.2 Jenis-Jenis Ekstraksi .....	11

II.3.3 Maserasi .....	11
II.4 Uraian Mikrokapsul .....	12
II.4.1 Uraian Umum Mikrokapsul.....	12
II.4.2 Tujuan Mikroenkapsulasi .....	13
II.4.3 Bentuk Mikrokapsul.....	13
II.4.4 Metode Mikroenkapsulasi .....	14
II.5 Pautan Silang Kitosan-Glutaraldehida .....	21
II.6 Evaluasi Mikrokapsul .....	24
II.6.1 Bentuk dan Morfologi Mikrokapsul .....	24
II.6.2 Distribusi Ukuran Mikrokapsul.....	27
II.6.3 Efisiensi Enkapsulasi .....	27
II.7 Uraian Bahan .....	28
II.7.1 Kitosan.....	28
II.7.2 Tween 80 .....	30
II.7.3 Glutaraldehida.....	30
II.7.4 Asam Asetat Glasial.....	31
II.7.5 Parafin Cair .....	32
II.7.6 Heksana.....	33
<b>BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN .....</b>	<b>34</b>
III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan.....	34
III.2 Metode Kerja.....	34
III.2.1 Ekstraksi Beras Ketan Hitam .....	34
III.2.2 Uji Identifikasi Antosianin dari Ekstrak .....	35

III.2.3 Penentuan Kadar Senyawa Antosianin Ekstrak.....	35
III.2.3.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum.....	35
III.2.3.2 Penetapan Kadar Antosianin Ekstrak .....	35
III.2.4 Perhitungan Berat Jenis Ekstrak dan Penyalut.....	36
III.2.5 Rancangan Formula Mikrokapsul .....	37
III.2.6 Validasi Metode Pembuatan Mikrokapsul .....	38
III.2.6.1. Penetapan Volume dan Waktu Pemberian Glutaraldehida....	38
III.2.6.2 Penetapan Lama Emulsifikasi Awal .....	38
III.2.6.3 Penetapan Lama Pengadukan.....	38
III.2.6.4 Penetapan Lama Pengeringan di <i>Vacuum dryer</i> .....	38
III.2.7 Pembuatan Mikrokapsul.....	39
III.2.8 Evaluasi Mikrokapsul .....	39
III.2.8.1 <i>Scanning Electron Microscope</i> .....	39
III.2.8.2 Distribusi Ukuran Partikel Mikrokapsul.....	40
III.2.8.3 Ketebalan Dinding.....	40
III.2.8.4 Uji Identifikasi Kandungan Antosianin pada Mikrokapsul.....	40
III.2.8.5 Penetapan Kandungan Antosianin pada Mikrokapsul.....	41
III.2.8.6 Efisiensi Penjerapan Mikrokapsul .....	42
III.2.8.7 Uji Interferensi dengan FT-IR.....	42
III.2.9 Pengumpulan dan Analisis Data .....	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	43
IV.1 Hasil Penelitian.....	43
IV.1.1 Hasil Ekstraksi Beras Ketan Hitam .....	43

IV.1.2 Hasil Uji Identifikasi Antosianin dari Ekstrak .....	43
IV.1.3 Hasil Penentuan Kadar Antosianin Total .....	43
IV.1.4 Perhitungan Berat Jenis Ekstrak dan Penyalut.....	44
IV.1.5 Hasil Validasi Metode Pembuatan Mikrokapsul.....	44
IV.1.6 Pembuatan Mikrokapsul. ....	45
IV.1.7 Karakteristik Mikrokapsul.....	46
IV.1.7.1 <i>Scanning Electron Microscope</i> .....	46
IV.1.7.2 Distribusi Ukuran Partikel Mikrokapsul .....	47
IV.1.7.3 Ketebalan Dinding Mikrokapsul .....	47
IV.1.7.4 Hasil Uji Identifikasi Kandungan Antosianin pada Mikrokapsul.	47
IV.1.7.5 Hasil Penetapan Kandungan Antosianin pada Mikrokapsul ...	48
IV.1.7.6 Hasil Uji Efisiensi Penjerapan Mikrokapsul.....	48
IV.1.7.7 Hasil Uji Interferensi dengan FT-IR .....	48
IV.2 Pembahasan .....	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	57
V.1 Kesimpulan.....	57
V.2 Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA .....	58
Lampiran .....	62

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Kimia Ketan Hitam dan Ketan Putih .....	7
2. Rancangan Formula Mikrokapsul .....	37
3. Hasil Penentuan Distribusi Ukuran Partikel Mikrokapsul Menggunakan Metode Mikroskopik .....	64
4. Kadar Senyawa Antosianin Total dalam Ekstrak .....	67
5. Perhitungan Bobot Jenis Ekstrak dan Penyalut.....	68
6. Perhitungan Kadar Senyawa Antosianin Total dalam Mikrokapsul.....	68
7. Hasil Penentuan Tebal Dinding Mikrokapsul .....	70
8. Hasil Perhitungan Efisiensi Penjerapan zat aktif dalam Formula .....	71
9. Data Spektrum FT-IR dan Interpretasi Gugus Fungsi .....	71

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Anatomi Biji Padi.....	6
2. Struktur Antosianin .....	9
3. Bentuk Mikrokapsul.. .....	14
4. Struktur Kitosan .....	22
5. Struktur Pautan Silang Kitosan-Glutaraldehida .....	23
6. Struktur Glutaraldehida.....	24
7. Struktur Hidrogel Kitosan.....	24
8. Struktur Kimia Kitin dan Kitosan .....	29
9. Bentuk dan Ukuran Mikrokapsul terlihat dibawah SEM .....	52
10. Histogram Hasil Perhitungan Efisiensi Penjerapan Mikrokapsul....	54
11. Histogram Distribusi Ukuran Partikel Mikrokapsul Ekstrak Etanol Beras Ketan Hitam dalam tiap Formula.....	74
12. Ekstrak Etanol Beras Ketan Hitam Hasil Maserasi .....	77
13. Hasil Uji Kualitatif Antosianin dalam Ekstrak .....	77
14. Hasil Uji Kualitatif Antosianin dalam Mikrokapsul .....	77
15. Mikrokapsul yang diperoleh Menggunakan Metode .....	
Emulsifikasi Pautan Silang .....	78
16. Bentuk dan Ukuran Mikrokapsul Terlihat pada Mikroskop Optik ..	79
17. Bentuk dan Ukuran Mikrokapsul terlihat dibawah SEM .....	80
18. Proses Pembentukan Mikrokapsul Terlihat pada Mikroskop Optik dan secara teoritis. ....	81
19. Spektrum FT-IR Ekstrak Mikrokapsul Etanol Beras Ketan Hitam ..	82

20. Spektrum FT-IR Ekstrak Etanol Beras Ketan Hitam .....	83
21. Spektrum FT-IR Penyalut Kitosan .....	84
22. Spesifikasi Penyalut Kitosan.....	85
23. Gambar Alat-Alat Penelitian .....	86

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja .....	62
2. Hasil Penelitian .....	64
3. Perhitungan .....	72
4. Foto Pelaksanaan Penelitian .....	77

## BAB I

### PENDAHULUAN

Tanaman padi adalah tanaman yang mempunyai varietas sampai ribuan jumlahnya, lebih dari 90% tumbuh di wilayah Asia Selatan dan Timur, tersebar di negara-negara beriklim subtropis. Dari kelompok spesies padi yang telah dibudidayakan terdapat dua kelompok utama yaitu *Oryza sativa* yang berasal dari Asia dan *Oryza glaberima* yang berasal dari Afrika Barat (1).

Beras ketan hitam (*Oryza sativa* Linn. var *glutinosa*) adalah salah satu bahan pangan dengan kandungan senyawa polifenol antosianin yang tinggi. Menurut Hu *et. al.* antosianin sianidin 3-glukosida dan peonidin 3-glukosida diisolasi dari beras ketan hitam secara *in vitro* mampu mencegah kerusakan untai DNA akibat *reactive oxygen species* (ROS), mencegah oksidasi kolesterol-LDL, mencegah produksi NO pada sel makrofag mencit (sel RAW 264.7) (2). Antosianin juga memiliki efek antigestris, mengurangi plak aterosklerosis serta meningkatkan status antioksidan pada kelinci (3,4).

Ekstraksi antosianin dapat dilakukan dengan beberapa jenis solven, seperti air, etanol, metanol, tetapi yang paling efektif adalah dengan menggunakan metanol yang diasamkan dengan HCl. Tetapi karena sifat toksik dari metanol biasanya dalam sistem pangan digunakan air atau etanol yang diasamkan dengan HCl (5).

Kerusakan atau kehilangan komponen fungsional, khususnya senyawa antosianin dapat terjadi pada saat proses penyucian beras, ekstraksi pigmen dari jaringan beras, proses produksi, maupun penyimpanan produk pangan. Faktor utama yang memicu terjadinya degradasi antosianin antara lain pH, suhu, serta konsentrasi oksigen yang tinggi. Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi kestabilan antosianin, antara lain cahaya, serta adanya enzim pendegradasi, asam askorbat, sulfur dioksida, ion logam, dan gula. Ketidakstabilan antosianin dapat menyebabkan penurunan aktivitas selama proses pengolahan, distribusi atau penyimpanan (6). Maka untuk mengatasi hal tersebut dapat dikembangkan sistem mikroenkapsulasi.

Mikroenkapsulasi adalah suatu proses penyalutan tipis suatu bahan inti baik berupa padatan, cairan atau gas dengan suatu polimer sebagai dinding pembentuk mikrokapsul. Mikrokapsul yang terbentuk dapat berupa partikel atau bentuk agregat, dan biasanya memiliki rentang ukuran partikel antara 5 – 5000  $\mu\text{m}$ . Ukuran tersebut bervariasi tergantung metode dan ukuran partikel bahan inti yang digunakan (7).

Salah satu metode pembuatan mikrokapsul adalah dengan metode emulsifikasi. Emulsi yang terbentuk dapat berupa emulsi minyak dalam air atau dapat pula berupa emulsi ganda air-minyak-air. Dalam sistem ini bahan aktif yang akan dienkapsulasi diinkorporasikan ke dalam larutan air, lalu dituang ke dalam pelarut organik polimer untuk membentuk emulsi air dalam minyak (A/M) (8).

Beberapa polimer turunan selulosa, seperti hidroksipropil metil selulosa (HPMC) dan etil selulosa (EC) telah banyak digunakan dalam sediaan lepas terkendali, baik dalam bentuk matriks maupun mikrokapsul. Kitosan adalah suatu polimer alami yang bersifat non toksik, biokompatibel, biodegradabel, dan polikationik. Dalam suasana asam kitosan dapat membentuk gel (hidrogel) yang bersifat polielektrolit karena adanya ikatan silang kitosan-kitosan yang terjadi secara ionik dengan penambahan polianion seperti glutaraldehida (9).

Wang *et al* melaporkan, pembentukan gel kitosan-poli (vinil alkohol) (PVA) dengan glutaraldehida sebagai agan penaut silang, dapat memperbaiki sifat *microsphere* yang terbentuk, yaitu mempercepat waktu pembentukan gel dan meningkatkan kekuatan mekaniknya. Sugita *et al* juga melaporkan, gel kitosan yang dimodifikasi juga dapat menjaga stabilitas Ketoprofen secara *In vitro* (10, 11).

Diharapkan formulasi mikroenkapsulasi dapat menghasilkan produk akhir yang terlindungi hingga dikonsumsi, menutupi bau dan rasa dari ekstrak, serta mencegah terjadinya degradasi terhadap senyawa antosianin yang terkandung di dalamnya.

Berdasarkan uraian di atas, maka permasalahan yang timbul adalah bagaimana membuat sediaan mikrokapsul dari ekstrak etanol beras ketan hitam (*Oryza sativa* Lin var *glutinosa*) dengan metode emulsifikasi pautan silang kitosan-glutaraldehida berdasarkan variasi

konsentrasi penyalut kitosan dan bahan inti ekstrak etanol beras ketan hitam.

Berdasarkan rumusan masalah, maka telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk membuat formula mikrokapsul ekstrak etanol beras ketan hitam (*Oryza sativa* var *glutinosa*) yang memiliki karakter fisik dan efisiensi penyerapan terbaik.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Uraian Tanaman

##### II.1.1 Klasifikasi Tanaman

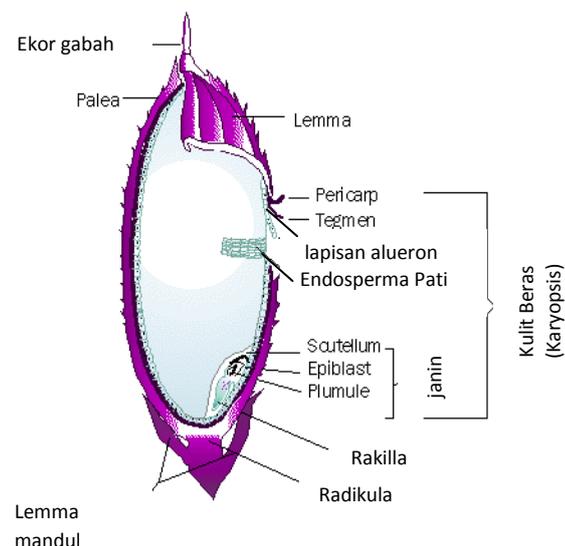
Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Kelas	: Angiospermae
Ordo	: Graminales
Famili	: Gramineae
Genus	: <i>Oryza</i>
Species	: <i>Oryza sativa</i> Linn.
Varietas	: <i>Oryza sativa</i> Linn. var. <i>glutinosa</i> (12)

##### II.1.2 Morfologi Tanaman

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tumbuhan musiman yang memiliki siklus hidup yang pendek bervariasi sekitar 110-130 hari. Tinggi tanaman padi pada umumnya sekitar 1-2 m, tergantung pada varietas dan kesuburan tanahnya. Akarnya berupa akar serabut. Batangnya beruas-ruas. Daunnya terdiri atas helai daun dan pelepah daun. Helai daunnya berbentuk datar dengan panjang dan lebar yang bervariasi. Biji padi (caryopsis) sehari-hari dikenal sebagai beras. Butir beras terdiri dari endosperm, aleuron, dan embrio. Kemudian tagmen dan lapisan terluar yang disebut perikarp (13).

Beras ketan dibedakan menjadi dua macam, yaitu beras ketan putih dan beras ketan hitam. Secara fisik, butir beras ketan berbentuk oval, lunak, memiliki warna putih di seluruh endospermnya, apabila dimasak, nasinya mempunyai sifat mengkilap, lengket, serta kerapatan antar butir nasi tinggi sehingga volume nasinya sangat kecil (14).

Kulit padi yang merupakan bagian terluar dari biji padi terdiri atas kombinasi aleuron dan perikarp. Pigmen yang memberi warna pada beras dapat terdapat pada bagian palea (sekam), lemma, perikarp, tegmen dan lapisan aleuron. Warna beras diatur secara genetik, dan dapat berbeda akibat perbedaan gen yang mengatur warna aleuron, endospermia, dan komposisi pati pada endospermia. Pada beras hitam, aleuron dan endospermia memproduksi antosianin dengan intensitas tinggi sehingga warna beras menjadi ungu pekat mendekati hitam (15).



Gambar 1. Struktur anatomi biji padi (15)

### II.1.3 Kandungan Kimia

Beras ketan mempunyai kadar amilosa sekitar 1-2%, sedangkan beras yang mengandung amilosa lebih besar dari 2% disebut beras biasa atau beras bukan ketan (1). Di dalam aleuron dan embrio terdapat protein, lemak, mineral, dan beberapa vitamin. Sedangkan pada bagian endosperma hampir seluruhnya terdiri dari pati.

Pati yang terdapat pada endosperma, tidak seluruhnya terdiri dari granula pati, tetapi juga mengandung pati terlarut, dekstrin, dan maltosa (14).

Tabel 1. Kandungan kimia beras ketan hitam dan ketan putih (16)

Komponen	Jumlah per 100 g beras	
	Ketan putih	Ketan hitam
Protein (g)	7,0	6,7
Lemak (g)	0,7	0,7
Karbohidrat (g)	78,0	79,4
Kalsium (mg)	10,0	12,0
Fosfor (mg)	148,0	148,0
Besi (mg)	0,8	0,8
Vitamin B1 (mg)	0,2	0,16
Air (g)	13,0	12,0
Antosianin (g)	-	0,5-3

Beras ketan hitam kaya akan antosianin terutama cyanidin-3-O- $\beta$ -D-glucoside dan peonidin 3-glucosida (17). Menurut penelitian yang dilakukan oleh *sangkitikomol et.al*, kandungan antosianin pada beras ketan hitam lebih tinggi dibandingkan beras hitam dan beras merah (18).

#### **II.1.4 Kegunaan Beras Ketan Hitam**

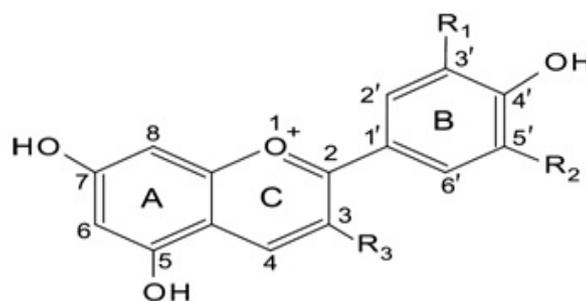
Beras hitam telah lama dikonsumsi di Jepang, China, dan Korea sebagai makanan sehat. Di Thailand beras hitam digunakan secara luas untuk tujuan terapeutik. Laporan terkini menunjukkan beras hitam dapat menurunkan risiko penyakit degeneratif seperti kardiovaskular dan kanker. Melalui penelitian baik secara eksperimental maupun klinis, dilaporkan terdapat hubungan antara status kesehatan jantung dan konsumsi beras hitam dan atau pigmen beras hitam. Suplementasi pigmen beras hitam menunjukkan peningkatan status antioksidan dan antiinflamasi pada pasien dengan penyakit jantung koroner, penurunan stress oksidatif, dan inflamasi, peningkatan level lipid plasma dan mengurangi lesi aterosklerosis pada model hewan. Selain itu beras hitam memiliki efek antiinflamasi, antioksidatif, dan anti hiperlipidemik (18).

Kandungan antosianin yang terkandung di dalam beras hitam maupun ketan hitam diketahui mampu mencegah stress oksidatif dan inflamasi, menurunkan kerusakan DNA, antimutagenitas dan memiliki efek melindungi lambung (18).

#### **II.2 Antosianin**

Kata Antosianin berasal dari bahasa Yunani yaitu *anthos* yang berarti bunga dan *kyanose* yang berarti biru. Antosianin merupakan pigmen larut air yang memberi warna merah, biru, dan ungu pada tanaman dan termasuk dalam golongan senyawa flavonoid. Antosianin umumnya ditemukan di alam dalam bentuk glikosidanya (19).

Antosianin terdiri atas antosianidin (aglikon) dan gula. Antosianidin ini bersifat tidak stabil. Namun, glikosilasi dapat meningkatkan stabilitasnya. Gugus glikosil yang umum berupa monosakarida seperti glukosa, galaktosa, rhamnosa, atau arabinosa pada posisi C-3 atau C-5 (19). Sekitar 400 antosianin yang telah diidentifikasi dari tanaman. Namun hanya enam antosianidin yang umum ditemukan dalam tanaman yaitu sianidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin, dan petunidin. Glikosida dari Sianidin, delphinidin, dan pelargonidin merupakan antosianin yang paling banyak terdapat di alam, pada 80% daun berwarna, 69% buah, dan 50% bunga (20).



Aglikon	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Delphinidin	OH	OH	OH
Sianidin	OH	H	OH
Petunidin	OCH <sub>3</sub>	OH	OH
Peonidin	OCH <sub>3</sub>	H	OH
Malvidin	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH
Pelargonidin	H	H	OH

Gambar 2. Struktur antosianin (20)

Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak antosianin dapat meningkatkan ketajaman penglihatan, memiliki aktivitas antioksidan,

dan berperan sebagai agen kemoprotektif. Antosianin juga menurunkan kadar lipid, meningkatkan sekresi insulin, dan memiliki efek vasoprotektif (20). Tanaman yang kaya akan antosianin telah sering digunakan untuk mengobati berbagai gejala dan penyakit. Konsumsi sianidin-3-rutinosida dapat meningkatkan penglihatan karena efeknya pada pembentukan rhodopsin. Perlindungan terhadap serangan jantung juga dihubungkan dengan konsumsi antosianin. Antosianin dilaporkan memiliki kemampuan untuk mencegah inflamasi, meningkatkan kekuatan dan permeabilitas pembuluh kapiler, dan menghambat pembentukan platelet. Antosianin juga dapat membantu mencegah terjadinya obesitas dan diabetes. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa pigmen antosianin dari jagung ungu menghambat peningkatan berta badan dan jaringan adipose. Gejala hiperglikemia yang disebabkan diet dengan lemak yang banyak juga dapat dicegah dengan konsumsi sianidin-3-glukosida. Antosianin juga menunjukkan aktivitas antikarsinogenis dengan menghambat aktivitas COX-2 yang berperan dalam tumorigenesis dan juga dengan menginduksi apoptosis. Sianidin, delphinidin, dan petunidin dapat menginduksi apoptosis sel promyelocytic leukemia (19).

Aktivitas antioksidan dari antosianin telah sering diteliti. Antosianin pada beras hitam yaitu sianidin-3-glukosida dan peonodin-3-glukosida, menunjukkan aktivitas antioksidannya dengan menangkap radikal bebas, dan menginduksi antioksidan enzim superoksida dismutase, katalase, dan

glutation. Selain itu aktivitas antioksidan antosianin juga ditunjukkan melalui kemampuannya dalam mengkhelat logam (19,21).

## **II.3 Ekstraksi**

### **II.3.1 Pengertian Ekstraksi**

Ekstraksi atau penyarian adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Siplisia yang disari mengandung zat aktif yang dapat larut dan tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Penyarian merupakan proses pemindahan massa. Zat aktif yang semula berada dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. (22)

### **II.3.2 Jenis-Jenis Ekstraksi**

Proses ekstraksi dapat dilakukan secara panas dan secara dingin. Ekstraksi secara panas yaitu dengan metode refluks dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi dingin yaitu dengan maserasi, perkolasi dan soxhletasi (22).

### **II.3.3 Maserasi**

Maserasi merupakan penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat di dalam sel dengan yang di luar

sel, maka larutan yang terpekat akan terdesak ke luar. Peristiwa tersebut berlangsung berulang-ulang sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirok, dan lain- lain (22).

## **II.4 Uraian Mikrokapsul**

### **II.4.1 Uraian Umum Mikrokapsul**

Mikroenkapsulasi adalah partikel kecil (cairan, padatan, larutan atau dispersi) yang mengandung suatu bahan aktif yang disalut oleh polimer sintetik atau alam dengan variasi ketebalan. Umumnya bahan aktif disebut inti/*core* dan penyalutnya disebut material dinding/*wall*. Mikroenkapsulasi adalah suatu metode pembungkusan dari bahan yang kecil kedalam suatu penyalutan terpisah yang didesain untuk melindungi, memisahkan atau membantu dalam penyimpanan. Mikroenkapsulasi menyediakan kemungkinan untuk membuat peningkatan pada bentuk-bentuk farmasetikal dan pembantu diagnostik (23).

Mikrokapsul terdiri atas partikel kecil, mengandung bahan aktif atau bahan inti yang dikelilingi penyalut. Pada saat sekarang ini, tidak ada ukuran yang dapat diterima secara umum untuk menggolongkan ukuran partikel suatu mikrokapsul. Meskipun demikian, peneliti menggolongkan ukuran mikrokapsul lebih kecil dari 1  $\mu\text{m}$  sebagai nanokapsul dan yang lebih besar dari 1000  $\mu\text{m}$  sebagai makrokapsul. Dalam perdagangan

diameter mikrokapsul antara 3-800  $\mu\text{m}$  dan terdiri dari 10-90 % fase inti (35). Sedangkan menurut Lachman, ukuran mikrokapsul berkisar antara puluhan mikron hingga 5000 mikron (24).

#### **II.4.2 Tujuan Mikroenkapsulasi**

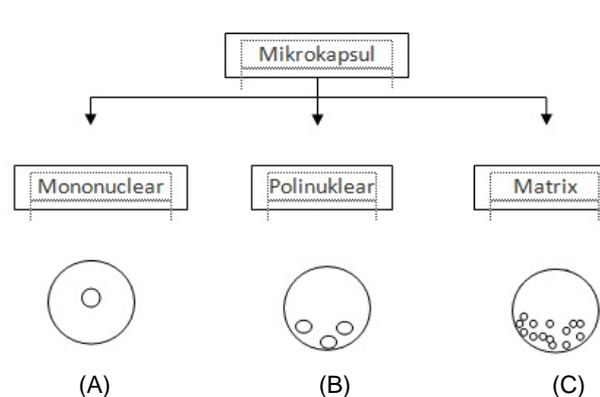
Mikroenkapsulasi dalam bidang farmasi memiliki banyak aplikasi, diantaranya adalah penutupan rasa yang pahit dan bau yang tidak enak dari zat aktif, konversi bentuk zat yaitu cair menjadi padat agar memudahkan dalam penanganan, perlindungan suatu zat terhadap lembab, panas oksidasi ataupun lingkungan yang dapat merusak, pencegahan terjadinya reaksi antara zat-zat yang tidak saling tercampurkan, penundaan proses penguapan, memperbaiki laju aliran dari serbuk, memberikan penanganan yang lebih aman untuk zat toksik, meningkatkan dispersi dari zat yang tidak larut air dalam media cair dan digunakan untuk memproduksi sediaan farmasi dengan tujuan pengontrolan pelepasan obat atau ketersediaan hayati zat yang disalut (*sustained release*, *controlled release* dan *targeted*) serta enkapsulasi sel (7, 8).

#### **II.4.3 Bentuk Mikrokapsul**

Mikrokapsul dapat memiliki berbagai macam struktur. Beberapa mikrokapsul dapat memiliki bentuk *spheris* dengan daerah inti yang bersambung yang dikelilingi dengan penyalut yang bersambung pula.

Sedangkan yang lain memiliki bentuk irregular dan mengandung sejumlah kecil tetesan atau bahan inti (25).

Bentuk mikrokapsul dapat berupa globular atau sferoidal, seperti ginjal, butir padi, flokul dan masif. Dinding dapat berupa lapisan dinding satu lapis atau beberapa lapis. Mikrokapsul dapat mengandung satu atau lebih inti. Inti sebagai zat yang disalut dapat berupa bahan padat atau cair. Komposisi inti dapat bervariasi, misalnya beberapa zat padat tunggal atau campuran zat aktif, penstabil, pengencer, dan zat tambahan atau pemercepat pelepasan zat aktif. Zat cair dapat berupa zat terlarut atau zat terdispersi. Variasi inti dan komposisinya memberikan fleksibilitas dan kegunaan yang akan mempengaruhi desain dan pengembangan sediaan mikrokapsul.



Gambar 3. Bentuk Mikrokapsul. (A) bahan inti terletak ditengah diselimuti oleh kulit (B) terdapat banyak bahan inti yang diselimuti oleh kulit (C) bahan inti terdistribusi secara homogen dalam material pembungkusnya

#### II.4.4 Metode Mikroenkapsulasi

Metode mikroenkapsulasi yang digunakan dapat bermacam-macam, yaitu berupa metode kimia, fisika dan fisikokimia (8, 23, 25 ).

## 1. Metode kimia, meliputi:

### a. Polimer-polimer yang tidak bercampur (*Polymer-polymer incompatibility*).

Merupakan metode mikroenkapsulasi yang dapat digunakan untuk berbagai macam zat aktif, baik zat yang larut air, tidak larut air ataupun bentuk padat. Polimer-polimer yang tidak bercampur terjadi karena dua polimer yang berbeda secara kimia dilarutkan bersama dalam pelarut yang tidak dapat bercampur dalam larutan. Kedua polimer ini saling menolak satu sama lain dan membentuk dua fase cair yang terpisah. Satu fase mengandung polimer yang dirancang untuk bertindak sebagai dinding kapsul, dan fase lainnya mengandung polimer yang tidak bercampur.

### b. Polimerisasi in situ

Pada metode ini hanya digunakan satu jenis polimer. Polimer terletak dalam satu fase yaitu fase inti atau fasa luar saja. Dengan kehadiran katalis, polimer penyalut menjadi tidak larut dan akan menyelimuti partikel inti.

### c. Teknik pengerasan dalam cairan

Digunakan polimer dalam bentuk larutan, yang dengan penambahan suatu bahan pengeras dapat mengeras dan membentuk lapisan tipis di permukaan inti. Proses pengerasan dapat dilakukan dengan modifikasi termal, netralisasi ke titik isoelektrik, dan ikatan antara dua polimer yang memiliki muatan

berlawanan (dapat digunakan polimer yang larut dalam air atau dalam pelarut organik).

## **2. Metode Fisika, meliputi:**

### **a. Pengeringan semprot (*spray drying*) dan Pembekuan Semprot**

Langkah pertama dalam proses enkapsulasi dengan metode pengeringan semprot adalah dengan mengemulsikan atau mendispersikan bahan inti dalam larutan bahan penyalut.

Proses pengeringan dan pembekuan semprot sama-sama meliputi pendispersian bahan inti dalam bahan penyalut yang dicairkan, dan menyemprotkan campuran inti-penyalut ke dalam suatu kondisi lingkungan yang pematatannya terjadi relatif cepat. Perbedaan utama antara kedua metode adalah pada cara pematatan penyalut. Pematatan penyalut pada pengeringan semprot dipengaruhi oleh kecepatan penguapan pelarut yang digunakan untuk melarutkan bahan penyalut. Sedangkan pematatan penyalut pada pembekuan semprot dilakukan dengan membekukan bahan penyalut yang melebur, atau dengan memadatkan bahan penyalut yang dilarutkan dengan memasukkan campuran bahan inti-penyalut ke dalam suatu bahan bukan pelarut. Penghilangan bahan bukan pelarut atau pelarut dari bahan yang telah tersulut dilakukan dengan teknik peresapan, ekstraksi, atau penguapan.

Variabel kontrol proses meliputi sifat bahan pengisi seperti viskositas, keseragaman, dan konsentrasi dari bahan inti dan bahan penyalut, laju pengisian, metode atomisasi, dan laju pengeringan, yang biasanya dikontrol oleh temperatur pemasukan dan pengeluaran dan konsentrasi pelarut arus udara. Proses tersebut dapat menghasilkan mikrokapsul mendekati struktur sferis dengan ukuran 5 sampai 600 mikron.

**b. Proses multi lubang-sentrifugal**

*Southwest Research Institute (SWRI)* telah mengembangkan suatu proses mekanik untuk memproduksi mikrokapsul yang menggunakan gaya sentrifugal untuk melingkari suatu bahan inti melalui pembungkus membran mikroenkapsulasi, sehingga mempengaruhi mekanika mikroenkapsulasi.

Variabel proses meliputi kecepatan rotasi silinder, kecepatan aliran bahan inti dan bahan penyalut, konsentrasi dan viskositas bahan penyalut, serta viskositas dan tegangan permukaan dari bahan inti. Proses multi lubang sentrifugal mampu membuat mikroenkapsulasi cairan dan padatan (jika padatan didispersi dalam cairan) dari berbagai kisaran ukuran, dengan berbagai bahan penyalut. Bahan yang dienkapsulasi dapat disiapkan sebagai larutan kental dalam media yang mengeras atau sebagai serbuk kering.

**c. Penyalutan di dalam panci**

Metode penyalutan di dalam panci digunakan untuk mikroenkapsulasi bahan dengan ukuran partikel yang relatif besar (lebih besar dari 600 mikron). Pada metode ini, penyalut yang digunakan disiapkan sebagai larutan atau sebagai semprotan halus, ke suatu bahan inti padat, dalam panci penyalut. Untuk memindahkan larutan penyalut, biasanya digunakan air hangat pada bahan-bahan bersalut saat penyalut ada di dalam panci penyalut. Dalam beberapa hal, penghilangan penyalut terakhir dilakukan dalam oven pengering.

**d. Depolarisasi elektrostatik**

Teknik ini digunakan untuk bahan inti dan penyalut yang berupa aerosol dan memiliki muatan yang berlawanan. Prosesnya melibatkan alat atomizer yang akan mengatomisasi bahan penyalut sehingga terbentuk kabut yang akan memberikan muatan listrik pada bahan inti. Kabut cairan penyalut diberi muatan listrik saat meninggalkan atomizer dan mengalami deposisi akibat adanya gaya tarik elektrostatik pada bahan inti. Kabut cairan penyalut diberi muatan listrik dengan menempatkannya pada medan elektrostatik yang mengandung ion tidak bermuatan. Muatan-muatan listrik tersebut kemudian diberikan pada partikel inti dan penyalut dengan adanya tegangan tinggi, yaitu sekitar 10.000 volt. Proses selanjutnya yaitu pendinginan system lalu mikrokapsul yang

terbentuk dikumpulkan dengan system pengumpul aerosol yang sesuai.

### **3. Metode Fisikokimia, meliputi:**

#### **a. Pemisahan fase koaservasi (*Coacervation*)**

Metode koaservasi terdiri atas tiga tahap, yaitu:

1. Tahap 1: pembentukan tiga fase kimia tidak tercampurkan, yaitu fase cairan pembawa, fase bahan inti, dan fase bahan penyalut.
2. Tahap 2: penempatan penyalut polimer cair pada bahan inti. Penempatan polimer penyalut cair sekeliling bahan inti terjadi jika polimer teradsorpsi pada antarmuka yang terbentuk antara bahan inti dan fase cairan pembawa. Penempatan yang terus-menerus dari bahan penyalut didahului oleh pengurangan dalam seluruh energi bebas antarmuka dari sistem, terjadi dengan pengurangan luas permukaan bahan penyalut selama bersatu dengan butiran-butiran polimer cair.
3. Tahap 3: pengerasan penyalut, biasanya dengan teknik panas, ikatan silang, atau teknik desolvasi.

#### **b. Emulsifikasi Penguapan pelarut**

Teknik penguapan pelarut untuk menghasilkan mikrokapsul dapat digunakan dalam variasi yang luas dari berbagai bahan inti cairan maupun padatan. Bahan inti dapat berupa bahan yang larut dalam air (hidrofilik) maupun yang tidak larut dalam air (hidrofobik).

Prosesnya dilakukan pada suatu alat pembuat cairan. Penyalut mikrokapsul dilarutkan dalam suatu pelarut yang mudah menguap, yang tidak bercampur dengan fase cairan pembawa. Bahan inti yang akan dimikroenkapsulasi dilarutkan atau didispersikan dalam larutan penyalut polimer. Dengan pengocokan, campuran bahan penyalut inti terdispersi dalam fase cairan pembawa untuk memperoleh ukuran mikrokapsul yang sesuai.

Variabel proses akan meliputi metode pembentukan dispersi, kecepatan penguapan pelarut untuk polimer penyalut, temperatur, dan kecepatan pengadukan. Faktor-faktor penting yang perlu diperhatikan dalam menyiapkan mikrokapsul dengan teknik penguapan pelarut meliputi pemilihan cairan pembawa dan pelarut untuk polimer penyalut, karena pemilihan ini sangat mempengaruhi sifat-sifat mikrokapsul serta pemilihan teknik pemulihan pelarut.

**c. Dispersi secara peleburan**

Bahan penyalut yang digunakan adalah malam atau lemak yang akan melebur saat proses pemanasan. Proses yang terjadi adalah pendispersian bahan inti kedalam bahan penyalut yang telah dilelehkan dan dilanjutkan dengan proses pendinginan. Sehingga dihasilkan mikrokapsul yang padat.

#### d. Teknik *powder beds*

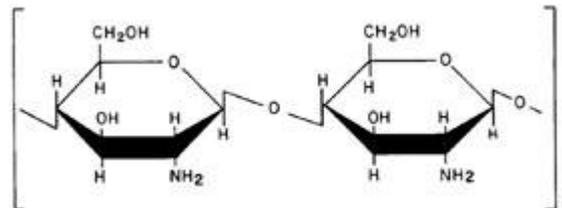
Zat aktif atau inti yang digunakan dalam teknik ini adalah zat padat halus dan inert yang dapat mengadsorpsi pelarut dan mempercepat proses pengeringan tetesan larutan polimer penyalut. Zat padat halus yang digunakan harus tidak larut dalam pelarut polimer seperti silika, talk dan natrium alumunium silikat. Contoh bahan penyalut yang dapat digunakan yaitu selulosa asetat ftalat, gelatin, dekstrin, dan sebagainya.

### II.5 Pautan Silang Kitosan-Glutaraldehida

Kitosan merupakan amino polisakarida dari deasetilasi kitin, yaitu modifikasi struktur kitin melalui hidrolisis menggunakan larutan basa. Kitosan tersusun atas (1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glukosa yang saling berikatan  $\beta$ . Struktur kitosan dapat kita perhatikan pada Gambar 4. Kitosan memiliki rumus molekul  $(C_6H_{11}NO_4)_n$ ,  $R = -NH_2$  dan merupakan salah satu dari sedikit polimer alam yang berbentuk polielektrolit kationik dalam larutan asam organik.

Kitosan larut dalam pelarut organik, HCl encer,  $HNO_3$  encer, dan  $H_3PO_4$  0,5%, tetapi tidak larut dalam basa kuat dan  $H_2SO_4$ . Sifat kelarutan kitosan ini dipengaruhi oleh bobot molekul dan derajat deasetilasi yang beragam bergantung pada sumber dan metode. Bobot molekul kitosan beragam, bergantung pada degradasi yang terjadi selama proses deasetilasi (11). Parameter mutu kitosan ditentukan melalui parameter

nilai derajat deasetilasi, kadar air, kadar abu, bobot molekul, dan viskositas.

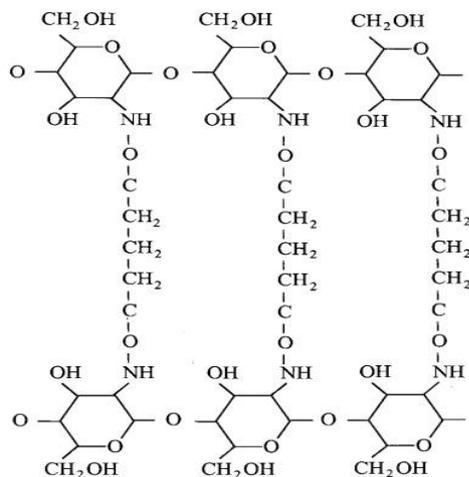


Gambar 4. Struktur kitosan (11)

Sifat utama Kitosan adalah kemampuannya untuk membentuk gel dengan adanya kation divalen. Gel didefinisikan sebagai jaringan polimerik yang dapat menampung sejumlah tertentu air di dalam strukturnya dan mengembang tanpa melarut didalamnya. Gel yang terbentuk dari kitosan stabil terhadap panas dan dapat dibentuk pada suhu ruang. Gel tersebut terjadi karena adanya sedikit ion kalsium atau ion logam divalen atau trivalen lainnya, atau dapat juga terbentuk tanpa adanya ion-ion tersebut jika pH lebih kecil dari 3. Gel kitosan dapat terbentuk pada suhu ruang sampai 100°C dan tidak dapat mencair dengan pemanasan (11).

Gel kitosan terjadi karena terbentuknya jaringan tiga dimensi antara molekul kitosan yang terentang pada seluruh volume gel yang terbentuk dengan kandungan air didalamnya. Sifat jaringan serta interaksi molekul yang mengikat keseluruhan gel menentukan kekuatan, stabilitas, dan tekstur dari gel. Untuk memperkuat jaringan di dalam gel biasanya digunakan molekul lain sebagai pembentuk tautan silang. Adanya tautan

silang akan menurunkan kapasitas adsorpsi dari kitosan karena terjadi pembentukan tautan kimia pada sisi adsorpsi. Pembentuk tautan silang merupakan molekul yang memiliki bobot molekul (BM) lebih kecil daripada BM senyawa yang akan diikat. Senyawa yang lazim digunakan untuk menghasilkan tautan silang pada kitosan adalah glutaraldehida (12).



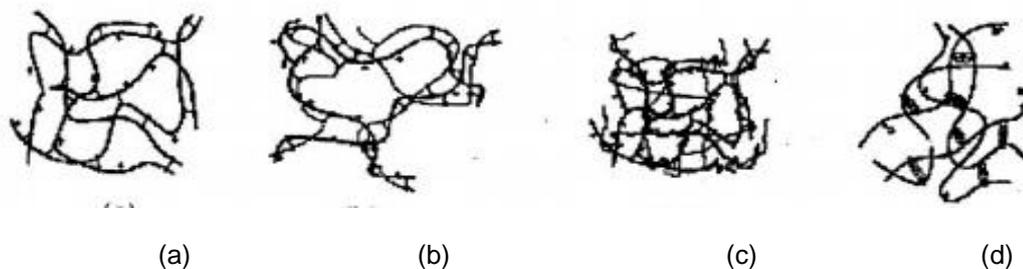
Gambar 5 Struktur Glutaraldehida yang berpautan dengan gugus Amin Kitosan (26).

Glutaraldehida mempunyai rumus molekul  $C_5H_8O_2$  dengan bobot molekul sebesar 100,1 g/mol, titik didih sebesar  $100^{\circ}C$ , titik beku  $-15^{\circ}C$ , pH 3,2-4,2, berupa larutan berwarna kuning, yang larut dalam air, alkohol dan benzena. Glutaraldehida dapat berfungsi sebagai perantara tautan silang untuk polivinilalkohol (PVA) dan beberapa polisakarida lain seperti kitosan. Hal ini disebabkan adanya aktivitas gugus aldehida yang tinggi dalam bentuk basa Schiff dengan gugus amina dari protein (12).



Gambar 6. Struktur Glutaraldehida

Tautan silang kovalen dalam gel kitosan dapat dibedakan menjadi 3 bagian, yaitu tautan silang kitosan-kitosan, jaringan polimer hibrida atau hybrid polymer network (HPN), dan jaringan polimer saling tembus tanggung atau utuh (semi IPN atau full IPN, interpenetrating polymer network), yang berturut-turut ditunjukkan pada Gambar 6 a, b,c,d.



Gambar 7 Struktur hidrogel kitosan (a) tautan silang kitosan-kitosan, (b) jaringan polimer hibrida,(c) jaringan semi-IPN, (d) tautan silang ionik kitosan (26).

## II.6 Evaluasi Mikrokapsul

### II.6.1 Bentuk dan Morfologi Mikrokapsul

Pengujian morfologi mikrokapsul dilakukan menggunakan mikroskop elektron (*Scanning Electron Microscope*) (36).

#### Scanning electron microscopy (SEM)

SEM adalah salah satu jenis mikroskop elektron yang menggunakan berkas elektron untuk menggambar profil permukaan benda. Prinsip kerja SEM adalah menembakkan permukaan benda dengan berkas elektron berenergi tinggi. Permukaan benda yang dikenai berkas akan memantulkan

kembali berkas tersebut atau menghasilkan elektron sekunder ke segala arah. Tetapi ada satu arah di mana berkas dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Detektor di dalam SEM mendeteksi elektron yang dipantulkan dan menentukan lokasi berkas yang dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Arah tersebut memberi informasi profil permukaan benda seperti seberapa landai dan ke mana arah kemiringan.

Pada saat dilakukan pengamatan, lokasi permukaan benda yang ditembak dengan berkas elektron di-scan ke seluruh area daerah pengamatan, yang dapat dibatasi dengan melakukan zoom-in atau zoom-out. Berdasarkan arah pantulan berkas pada berbagai titik pengamatan maka profil permukaan benda dapat dibangun menggunakan program pengolahan gambar yang ada dalam komputer.

SEM memiliki resolusi yang lebih tinggi daripada mikroskop optik. Hal ini disebabkan oleh panjang gelombang de Broglie yang dimiliki elektron lebih pendek daripada gelombang optik. Makin kecil panjang gelombang yang digunakan maka makin tinggi resolusi mikroskop.

Syarat agar SEM dapat menghasilkan gambar yang tajam adalah permukaan benda harus bersifat sebagai pemantul elektron atau dapat melepaskan elektron sekunder ketika ditembak dengan berkas elektron. Material yang memiliki sifat demikian adalah logam. Jika permukaan logam diamati di bawah SEM maka profil permukaan akan tampak dengan jelas.

Agar profil permukaan bukan logam dapat diamati jelas dengan SEM maka permukaan material tersebut harus dilapisi dengan logam. Lapisan tipis logam dibuat pada permukaan material tersebut sehingga dapat memantulkan berkas elektron. Metode pelapisan yang umumnya dilakukan adalah evaporasi dan sputtering.

Pada metode evaporasi, material yang akan diamati permukaannya ditempatkan dalam satu ruang (chamber) dengan logam pelapis. Ruang tersebut dapat divakumkan dan logam pelapis dapat dipanaskan hingga mendekati titik leleh. Logam pelapis diletakkan di atas filamen pemanas. Mula-mula chamber divakumkan yang diikuti dengan pemanasan logam pelapis. Atom-atom menguap pada permukaan logam. Ketika sampai pada permukaan material yang memiliki suhu lebih rendah, atom-atom logam terkondensasi dan membentuk lapisan film tipis di permukaan material. Ketebalan lapisan dapat dikontrol dengan mengatur lama waktu evaporasi. Agar yang digunakan harus yang memiliki titik lebur rendah. Logam pelapis yang umumnya digunakan adalah emas.

Prinsip kerja sputtering mirip dengan evaporasi. Namun sputtering dapat berlangsung pada suhu rendah (suhu kamar). Permukaan logam ditembak dengan ion gas berenergi tinggi sehingga terpental keluar dari permukaan logam dan mengisi ruang di dalam chamber. Ketika mengenai permukaan sampel, atom-atom logam tersebut membentuk fase padat dalam bentuk lapisan tipis. Ketebalan lapisan dikontrol dengan mengatur lama waktu sputtering.

Pada saat pengukuran dengan SEM, lokasi di permukaan sampel tidak boleh terlalu lama dikenai berkas. Elektron yang berenergi tinggi pada berkas dapat mencabut atom-atom di permukaan sampel sehingga permukaan tersebut akan rusak dengan cepat. Film tipis di permukaan sampel akan menguap dan kembali menjadi isolator. Akhirnya bayangan yang terekam tiba-tiba menjadi hitam.

### **II.6.2 Distribusi Ukuran Mikrokapsul**

Beberapa metode untuk mengetahui ukuran partikel (23) :

#### **a. Mikroskop optik**

Mikroskop biasanya digunakan untuk menentukan ukuran partikel pada range 0,1  $\mu\text{m}$  sampai sekitar 500  $\mu\text{m}$ . Jumlah partikel yang harus dihitung adalah berkisar 300 sampai 500 partikel.

#### **b. *Sieving* (ayakan)**

Ayakan umumnya digunakan untuk mengukur partikel yang lebih kasar, dapat digunakan untuk menyaring bahan sehalus 44  $\mu\text{m}$ . Berdasarkan metode pada U.S. Pharmacopeia untuk menguji kehalusan serbuk, sejumlah massa tertentu dari sampel ditempatkan di atas ayakan yang sesuai pada pengaduk mekanik. Serbuk akan diaduk selama periode waktu tertentu, dan bahan yang melewati satu ayakan dan tertahan pada ayakan selanjutnya yang lebih halus kemudian dikumpulkan dan ditimbang.

### c. Sedimentasi (pengendapan)

Ukuran partikel dalam suatu range dapat ditentukan dengan gravitas pengendapan sesuai dengan Hukum Stokes.

$$U = \frac{h}{t} = \frac{d_{st}^2(\rho_p - \rho_o)g}{18\eta_o}$$

atau

$$d_{st} = \sqrt{\frac{18\eta_o h}{(\rho_p - \rho_o)gt}}$$

dimana U adalah kecepatan pengendapan, h adalah jarak ketinggian dalam waktu t,  $d_{st}$  adalah diameter rata-rata partikel berdasarkan kecepatan sedimentasi,  $\rho_p$  adalah massa jenis partikel, dan  $\rho_o$  adalah massa jenis medium pendispersi, g adalah percepatan gravitasi, dan  $\eta_o$  adalah viskositas medium.

### II.6.3 Efisiensi Enkapsulasi

Efisiensi enkapsulasi didefinisikan sebagai rasio perbandingan obat yang terperap dalam mikrokapsul dengan jumlah total obat dalam suatu sistem secara teori. Efisiensi enkapsulasi dapat dihitung berdasarkan persentase dari konsentrasi zat aktif yang terdeteksi dalam mikrokapsul terhadap konsentrasi dari zat aktif total yang berada dalam formula awal.

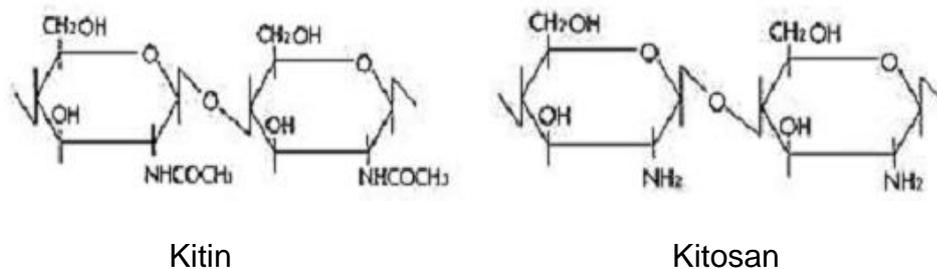
## II.7. Uraian Bahan

### II.7.1. Kitosan

Kitosan adalah polimer linear dengan bobot molekul tinggi dari 2-amino-2-deoksi- $\beta$  (1-4)-D-glukopiranosida dengan komposisi empiris

$C_6H_{11}NO_4$  dan merupakan hasil konversi (pengubahan) senyawa kitin (2-asetamida 2-dioksi-D-glukopiranos), yaitu diperoleh melalui deasetilasi kitin dengan alkali kuat atau deasetilasi dengan menggunakan enzim kitin deasetilase (27).

Kitosan dan kitin memiliki kesamaan dalam struktur kimia. Kitin merupakan susunan dari rantai lurus asetilglukosamin sementara kitosan diperoleh dari penghilangan gugus asetil ( $CH_3-CO$ ) yang membuat molekul tersebut sangat larut dalam asam (28).



Gambar 8. Struktur Kimia Kitin dan Kitosan (38).

Kitosan mempunyai muatan positif dengan kerapatan tinggi dan dapat bereaksi dengan kation kuat. Kitosan tidak larut dalam air tapi larut dalam pelarut asam organik dengan pH dibawah 6,0. Pelarut yang umum digunakan untuk melarutkan kitosan adalah asam asetat 1% dengan pH sekitar 4,0 (27).

Kitosan memiliki potensi dalam banyak kegunaan karena gugus amin bebas dapat bertindak sebagai polikation, pengkhelat, dan membentuk dispersi dalam pelarut asam asetat. Dalam bidang farmasi, digunakan sebagai bahan pengisi dan pembawa tablet yang digunakan

untuk memperlambat proses pelepasan zat aktif (*sustained release*) dan sebagai bahan untuk pembuatan mikrokapsul. Dalam bidang bioteknologi dapat digunakan sebagai immobilisasi enzim, separasi protein, kromatografi dan pemulihan sel (27, 28).

### **II.7.2 Tween 80 (Polisorbat 80)**

Polisorbat 80 adalah ester oleat dari sorbitol dan anhidrida yang berpolimerasi dengan lebih kurang 20 molekul etilena oksida untuk tiap molekul sorbitol dan anhidrida sorbitol (29).

Polisorbat 80 berupa cairan seperti minyak, jernih berwarna kuning muda hingga coklat muda, bau khas lemah, rasa pahit dan hangat. Polisorbat 80 sangat mudah larut dalam air, larutan tidak berbau dan praktis tidak berwarna, larut dalam etanol, dalam etil asetat, praktis tidak larut dalam minyak mineral (29).

Polisorbat 80 atau Tween 80 dapat digunakan sebagai bahan tambahan yang dapat meningkatkan resistensi sel terhadap *freeze drying* (pengeringan dengan suhu dingin) dan merubah ukuran diameter butiran mikrokapsul (29).

### **II.7.3 Glutaraldehida**

Glutaraldehida adalah senyawa organik dengan rumus molekul  $C_5H_8OH$ , merupakan cairan jernih hampir tidak berwarna sampai kekuningan, yang pada umumnya digunakan sebagai cairan untuk mensterilkan peralatan medis dan sebagai pengawet. Pada umumnya

tersedia dalam bentuk cairan, dan dalam bentuk cairan ini gugus aldehid telah terhidrasi (30).

Glutaraldehida diproduksi dengan cara oksidasi dari siklopentana. seperti golongan dialdehid lainnya, tidak ada dalam bentuk dialdehid, tetapi dalam bentuk hidrat yang memiliki banyak struktur. Glutaraldehida dapat dipolimerisasi dengan kondensasi aldol yang dapat terjadi pada pH basa. Glutaraldehida sering diaplikasikan dalam bidang biokimia sebagai agen penaut silang terutama pada gugus amin reaktif dalam protein (32).

### **II.7.3 Asam Asetat Glasial**

Nama sistematis dari senyawa ini adalah asam etanoat. Asam asetat glasial merupakan nama trivial yang merujuk pada asam asetat yang tidak bercampur air. Disebut demikian karena asam asetat bebas-air membentuk kristal mirip es pada  $16.7^{\circ}\text{C}$ , sedikit di bawah suhu ruang. Singkatan yang paling sering digunakan, dan merupakan singkatan resmi bagi asam asetat adalah  $\text{AcOH}$  atau  $\text{HOAc}$  dimana Ac berarti gugus asetil.

Dalam keadaan murni, asam asetat bebas air (asam asetat glasial) merupakan cairan tidak berwarna yang menyerap air dari lingkungan (bersifat higroskopis) dan membeku dibawah  $16,7^{\circ}\text{C}$  ( $62^{\circ}\text{F}$ ) menjadi sebuah kristal padat yang tidak berwarna. Asam asetat merupakan satu dari asam karboksilat yang paling sederhana (berikutnya adalah asam format), merupakan reagensia dan bahan kimia industri yang sangat penting yang dipakai untuk memproduksi berbagai macam bahan. Asam

asetat cair adalah pelarut protik hidrofilik (polar), mirip seperti air dan etanol.

Asam asetat memiliki konstanta dielektrik yang sedang yaitu 6.2, sehingga ia bisa melarutkan baik senyawa polar seperti garam anorganik dan gula maupun senyawa non-polar seperti minyak dan unsur-unsur seperti sulfur dan iodin. Asam asetat bercampur dengan mudah dengan pelarut polar atau nonpolar lainnya seperti air, kloroform dan heksana. Sifat kelarutan dan kemudahan bercampur dari asam asetat ini membuatnya digunakan secara luas dalam industri kimia (29).

#### **II.7.4 Parafin Cair**

Parafin cair atau paraffinum liquidum merupakan campuran dari hidrokarbon – hidrokarbon cair yang diperoleh dengan penyulingan. Merupakan zat cair yang mengandung minyak, tidak berbau dan tidak berwarna, jernih, tidak berfluoresensi. Berat jenis tidak lebih rendah dari 0,87 – 0,88 (selisih 0,0006 untuk 1°). Parafin cair memiliki titik lebur diatas 360°C. Parafin cair praktis tidak larut dalam air dan alkohol 95% P, dapat larut dalam kloroform P, eter P, minyak lemak, tetapi tidak dengan minyak jarak.

Parafin cair mudah mengalami oksidasi saat dipanaskan dan terkena cahaya, reaksi oksidasi dapat membentuk senyawa peroksida yang akan menjadi katalis untuk reaksi oksidasi selanjutnya. Oleh karena itu, penyimpanan harus dilakukan dalam wadah tertutup baik dan terlindung cahaya (29).

### II.7.5 Heksana

Heksana atau n-hexan adalah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus molekul  $C_6H_{14}$  (isomer utama *n*-heksana memiliki rumus molekul  $CH_3(CH_2)_4CH_3$ ). Merupakan cairan tidak berwarna, mudah menguap dan mudah terbakar. Awalan *heks-* merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran *-ana* berasal dari *alkana*, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Seluruh isomer heksana amat tidak reaktif, dan sering digunakan sebagai pelarut organik yang inert (31).