

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kitosan

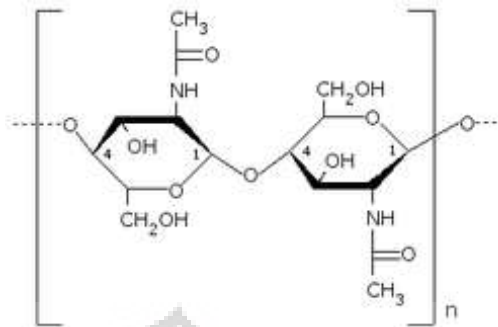
Kitosan sudah populer sejak awal abad ke 19. Kitosan pertama kali diidentifikasi oleh ilmuwan Rouget pada tahun 1878, yang merupakan senyawa turunan kitin (Au natural Herbals, 2001). Kitin merupakan konstituen organik yang banyak diperoleh dari *Crustacea*, *Orthopoda*, *Annelida*, *Molusca*, dan *Nematoda*. Kitin biasanya berkoagulasi dengan protein. Selain kulit dan kerangka, kitin juga terdapat pada trakea, insang, dinding usus, dan bagian dalam cumi-cumi. Namun sumber kitin paling banyak diperoleh dari kulit kerang dan kulit udang. Kulit kerang mengandung 24,3% dari kulit keringnya (No, H.K., 2003).

Selain mudah disintesis, juga memiliki sifat-sifat menguntungkan antara lain tidak beracun, *biocompatible*, *biodagreble* dan sumber senyawanya sangat berlimpah di alam (Hudson-Smith, 1998).

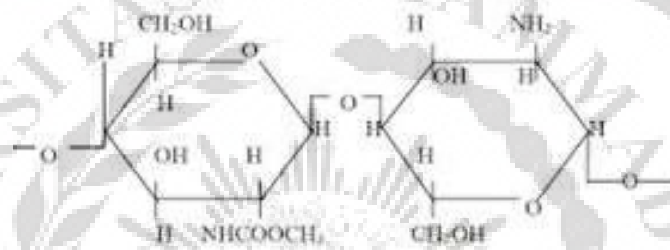
Kitosan dapat aktif dan berinteraksi dengan sel, oleh karena itu aplikasi kitosan terus dikembangkan. Hingga saat ini beberapa negara telah memproduksi kitin dan kitosan dalam skala industri antara lain; India, Amerika Serikat, Jepang, Polandia, Norwegia dan Australia (Stephen, 1995).

2.1.1. Sifat Fisik dan Kimia Kitosan

Kitosan merupakan senyawa berbobot molekul besar yang memiliki rantai polisakarida $\beta(1-4)$ -2-amino-2-deoksi-D-glukosa dengan rumus kimia $(C_6H_{11}NO_4)_n$. Gugus amino menggantikan $-OH$ pada atom C2 (Muzzarelli et al., 1997). Kitosan diperoleh dari limbah perikanan seperti kulit udang, kepiting, rajungan, dan lain-lain. Kitosan diketahui memiliki sifat yang istimewa yaitu biokompatibel, biodegradabel, dan non toksik, sehingga merupakan biomaterial yang menarik dikarenakan memiliki kemampuan sebagai bahan pembawa obat dan dapat dimodifikasi (Dong-Gon, 2003).



Gambar 1. Struktur kimia kitin (N-asetilglukosamin)



Gambar. Struktur Molekul Kitosan

Gambar 2. Struktur kimia kitosan atau poli(2-amino-dioksi- β -D-Glukosa)

Kitosan merupakan basa lemah yang kurang larut dalam air dan pelarut organik (L, Q. *et al.*, 1997) namun larut dalam senyawa asam, larutan asil, (Hirano, S. *et al.*, 1997). Kitosan dapat mengendap dalam larutan basa, dengan polianion dan membentuk gel, pada pH rendah (Koide, 1998).

Sifat-sifat kimia kitosan antara lain merupakan linear poliamin, memiliki gugus amino yang reaktif, memiliki gugus hidroksil yang reaktif, dapat membentuk kelat dengan beberapa ion logam (Kubota, 1997). Sementara sifat-sifat biologi kitosan antara lain termasuk polimer alam, mudah terurai (*biodagrebale*), tidak beracun (non toksik), dapat terikat pada sel mamalia dan bakteri (*biocompatible*). Parameter penting yang mempengaruhi sifat kitosan yaitu derajat deasetilasi (DD). Semakin tinggi DD, gugus NH_2 pada kitosan semakin banyak sehingga kitosan bersifat semakin reaktif.

Kitosan merupakan bahan yang tidak berbau, berupa serbuk atau serpihan berwarna krim sampai putih. Kitosan merupakan polisakarida yang terdiri dari kopolimer glukosamin dan N-asetil glukosamin. Derajat deasetilasi yang penting untuk mendapatkan kelarutan produk yang baik adalah sekitar 80-85%. Kitosan secara komersial terdapat dalam berbagai tipe dan grade dengan beragam berat molekul (antara 10.000 sampai 1.000.000), beragam derajat deasetilasi dan viskositas (Rowe et al., 2009).

Kitosan larut dalam sebagian besar larutan asam organik pada pH kurang dari 6,5 seperti formiat, asetat, tartarat, dan asam sitrat serta tidak larut dalam asam fosfat dan asam sulfat. Berat molekul dan derajat deasetilasi adalah faktor utama yang mempengaruhi ukuran partikel, pembentukan partikel dan agregasi (Tiyaboonchai, 2003). Meskipun kitosan merupakan polimer yang memiliki toksisitas rendah, kelarutan kitosan pada pH fisiologis adalah kendala utama untuk aplikasi. Kitosan merupakan basa lemah dengan nilai pKa 6,2-7,0. Kitosan larut dalam air pada pH lebih kecil dari 6,5 dimana hanya sebagian gugus amina yang terionisasi. Berbagai modifikasi kimia telah digunakan untuk meningkatkan kelarutan kitosan. Kitosan memiliki tiga gugus yang reaktif, yaitu gugus hidroksil primer di C-6 dan gugus hidroksil sekunder di C-3, dan gugus amino pada C-2 pada setiap gugus deasetilasi. Gugus-gugus reaktif tersebut telah mengalami modifikasi kimia yaitu dengan glisidil trimetilamonium klorida, karboksimetilasi, dan sulfonasi. Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa modifikasi kimia dapat meningkatkan kelarutan kitosan dalam air dengan berbagai pH (Tungtung et al., 2012).

2.1.2. Modifikasi Kitosan

Kemampuan kitosan yang ditetapkan dalam berbagai bidang industri modern, mendorong untuk terus dikembangnya berbagai penelitian modifikasi kitosan. Modifikasi kitosan dilakukan untuk meningkatkan kelarutan senyawa dalam berbagai pelarut. Modifikasi kitosan dilakukan baik secara fisik maupun kimia. Modifikasi fisik pada kitosan mencakup perubahan ukuran partikel atau

butiran kitosan menjadi lebih kecil hingga berukuran nanopartikel. Nanopartikel adalah butiran atau partikel padat dengan kisaran ukuran 10 hingga 1000 nm (Mohanraj-Chen, 2006; Rawat *et al.*, 2006). Semakin kecil ukuran partikel, luas permukaan partikel akan semakin besar sehingga meningkatkan kemampuan kitosan baik sebagai adsorben, (Luis E. *et al.*, 2011), anti jamur, anti bakteri, maupun peranannya sebagai carrier dalam tubuh. ukuran partikel yang kecil juga meningkatkan stabilitas dari bentuk nanopartikel (Sundar dkk., 2010). Aplikasi nanoteknologi membuat banyak kemajuan dalam dunia industri, menghasilkan bahan berskala nanometer, mengeksplorasi dan merekayasa karakteristik bahan tersebut, serta mendesain ulang ke dalam bentuk, ukuran dan fungsi yang diinginkan.

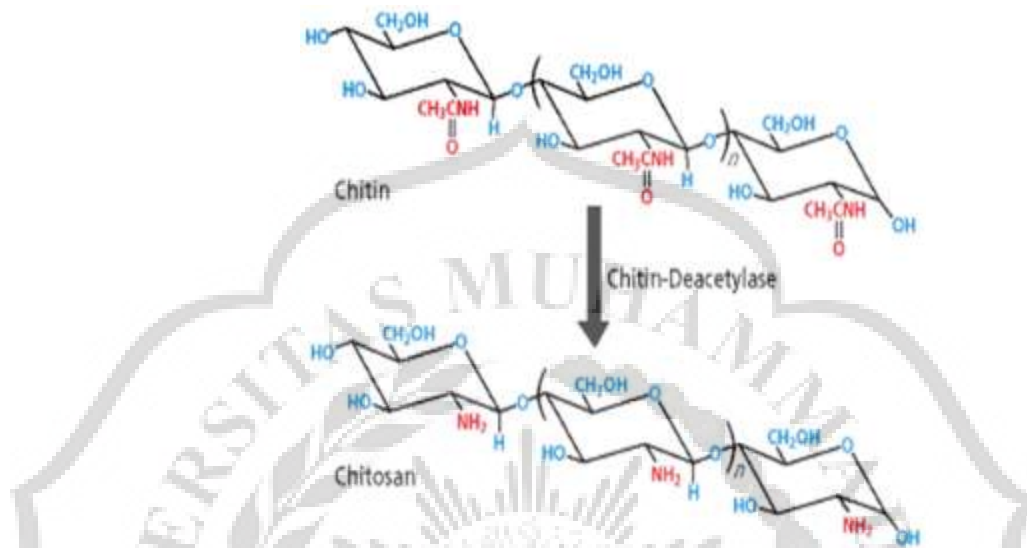
Turunan kitosan sangat mungkin disintesis dengan memanfaatkan reaktivitas gugus amino primer dan gugus hidroksil sekunder. Senyawa pertama turunan kitin yang berhasil disintesis yaitu glikol kitin (o-hidroksietil kitin) (Kim. S.J., *et al.*, 1994) .

Kitosan dapat dilakukan dengan cara direaksikan dengan senyawa ester (Luyen-Rosbach, 1995), kitosan juga sangat mungkin berikatan kimia dengan logam-logam khususnya logam transisi membentuk kelat yang biasanya diperlukan dalam immobilisasi enzim (Shi *et al.*, 2003)

2.1.3. Sintesis Kitosan

Kitosan diperoleh melalui beberapa tahapan proses yaitu deproteinasi, demineralisasi, depigmentasi dari bahan bakunya sehingga diperoleh kitin. Kitin kemudian dideasetilasi melalui proses hidrolisis basa kuat dan pekat sehingga diperoleh kitosan (Gambar 3). Proses depigmentasi bertujuan untuk menghilangkan pigmen darah merah atau hemoglobin yang disebut *bloody cockles* terdapat pada cangkang kerang darah.

Bahan baku – dicuci dan digerus – deproteinasi (NaOH) – demineralisasi (HCl) – pencucian dan pengeringan – depigmentasi (NaOCl) – kitin – deasetilasi (NaOH) – pencucian dan pengeringan – kitosan.



Gambar 3. Tahapan Sintesis Kitosan

Besaran derajat deasetilasi (DD) memberikan gambaran tentang jumlah gugus amina dalam kitosan. Pada proses deasetilasi terjadi pemutusan ikatan antara karbon dengan nitrogen pada gugus asetil kitin menjadi gugus amina. Deasetilasi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi, basa kuat, suhu, waktu, dan jumlah pengulangan deasetilasi. Deasetilasi kitin menjadi kitosan dengan memasukkannya dalam NaOH 40% pada suhu 120°C selama 1 sampai 3 jam dan menghasilkan 70% kitosan terdeasetilasi. Proses re-deasetilasi sangat signifikan mempengaruhi persentase derajat deasetilasi (DD). Setelah 3 kali proses re-deasetilasi DD kitosan menjadi lebih besar dari 95% (Candra, 2008).

Pembuatan nanokitosan yang berstabilitas dan berkualitas tinggi biasanya memerlukan metode yang cukup sulit. Metode yang banyak digunakan untuk membuat nanokitosan yaitu metode gelasi ionik karena relatif sederhana, mudah dikontrol dan tidak menggunakan pelarut organik sehingga lebih efisien.

Pembuatan gel kitosan dilakukan dengan melarutkan kitosan dalam asetat. Pengcilan ukuran (*sizing*) dilakukan melalui metode *magnetic stirrer*,

homogenizer atau *ultrasonicator*. Proses *sizing* dilakukan sampai larutan terlihat jernih. Pembentukan nanopartikel dilakukan melalui tahap emulsifikasi dengan penambahan 50 mikroliter twin 0,1%, dengan *sprayer* sambil *disizing* terus-menerus selama 1 jam, selanjutnya dilakukan stabilisasi dengan larutan sodium tripolifosfat 0,1% sambil *di-mix* terus selama 1 jam. Pengeringan dilakukan dengan cara *spray drying*, maka diperoleh kitosan nanopartikel (Suptijah, dkk, 2011).

Mensintesis kitosan dari kulit kerang dan rajungan dengan menggunakan metode gelasi ionik berhasil memperoleh kitosan yang berukuran 300 nm. nanopartikel kitosan yang dihasilkan dianalisis menggunakan *particle size analyzer* (PSA), diperoleh rata-rata ukuran nanokitosan sebesar 300 nm.

2.1.4. Manfaat Kitosan

Kitosan memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai agen anti bakteri, sebagai bahan kosmetik, dapat diaplikasikan pada proses pengolahan makanan dan dapat aplikasikan pada bidang farmasi.

1. Aplikasi Kitosan di Bidang Farmasi

Kitosan telah digunakan luas dalam pengobatan, menjadi bahan penting dalam aplikasi farmasi karena mempunyai kemampuan *biodegradasi*, *biocompatibility* dan non toksik (Berger, *et al.*, 2004) . aplikasi nanokitosan di bidang farmasi memiliki berbagai keunggulan antaralain dapat meningkatkan kelarutan senyawa, meningkatkan absorpsi dan mengurangi dosis pengobatan. Di bidang farmasi, nanokitosan banyak digunakan sebagai sistem pengantar obat (*carrier*), diantaranya glycerrhizinte (Wu, *et al.*, 2005), retinol (Kim, D., *et al.*, 2006), dexametason (Dustgani, 2008), estradiol (Wang, *et al.*, 2008). Metode yang digunakan dengan mendispersikan zat kedalam larutan kitosan dalam air deionisasi sambil *disizing*. Nanopartikel yang terbentuk memiliki ukuran 80-260 nm. Sebagai *carrier*, bentuk nano sangat menguntungkan karena meningkatkan penetrasi zat aktif dan bersifat lepas terkendali (Brigger I, 2002). Modifikasi nanokitosan juga dilakukan sebagai bahan enkapsulasi obat, misalnya kitosan-

tripperigium glikosida untuk pengobatan ginjal (Chen, *et al.*, 2013), kitosan-polifenol hasil ekstrak bunga mawar (Stoica, *et al.*, 2013). Kitosan yang dikombinasi dengan tripoliposfat (TPP) juga mampu meningkatkan kestabilan nanopartikel. Metode yang digunakan yaitu emulsifikasi spontan penguapan pelarut dengan kitosan DD 50% yang memiliki berat molekul rendah. Nanokitosan-alginat digunakan sebagai bahan enkapsulasi enoxapirin (Bagre, *et al.*, 2013). Kitosan juga memperlihatkan aktivitas biologi seperti *hypocholeterolemic*, antimikroba, dan anti jamur (Rhodes, 2000) serta dapat mempercepat penyembuhan luka dengan sifatnya yang mampu meningkatkan proliferasi fibroblast (Makmur, 2011). Kitosan dalam tubuh juga memiliki potensi mereduksi kolesterol lemak kambing (Hargono, dkk., 2008). Dengan massa 5 g kitosan didalam 500 mL lemak berpengaruh terhadap prosentase penyerapan kolesterol sebanyak 30,93% dan waktu operasi 60 menit menunjukkan derajat penyerapan kolesterol sebesar 45,46% kitosan yang bermuatan listrik positif dapat menyatu dengan zat asam empedu yang bermuatan negatif sehingga menghambat penyerapan kolesterol karena zat lemak yang masuk bersama makanan harus dicerna dan diserap dengan bantuan zat asam empedu yang disekresi liver.

2. Aplikasi Kitosan Sebagai Agen Anti Bakteri

Penggunaan senyawa anti mikroba yang tepat dapat memperpanjang umur simpan suatu produk serta menjamin keamanan produk. Bahan antimikroba alami lebih direkomendasikan karena tidak membahayakan kesehatan. Kitosan merupakan senyawa polikationik alam yang memiliki aktivitas antibakteri (Liu, *et al.*, 2006). Telah banyak penelitian membuktikan bahwa kitosan mempunyai aktivitas antibakteri. Kitosan dapat diaplikasikan sebagai bahan aktif sediaan antiacne. Bahan aktif tersebut terdiri dari campuran nanokitosan dengan ekstrak manggis-pegagan (Rismana, dkk., 2013). Ekstrak manggis mengandung derivat xanton yang memiliki aktivitas

antifungal, antimikroba, antioksidan dan sitotoksik (Nailar, *et al.*, 2005; Suksamrarn, S. *et al.*, 2003, Yoshikawa, *et al.*, 1994). Sementara tanaman pegagan (*Centella asiatica*) berkhasiat menstimulasi kolagen pada jaringan kulit. Ekstrak pegagan dengan kandungan bioaktif triterpenoid seperti *asiaticoside*, *asiatic acid*, *madecassoside* dan *madecassic acid* mempunyai efek sebagai antinosisseptik dan antiinflamasi. Adanya nanokitosan akan meningkatkan stabilitas dan efektivitas sediaan antiacne (Rismana, dkk., 2013). Kitosan juga menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen didalam mulut. Selain itu, nanokitosan juga digunakan dalam bentuk formulasi gel pembersih tangan (Rahman, 2015), bahan pengawet (Zheng-zhu, 2002) dan bahan pengisi dalam pembuatan sabun transparan (Amin, 2006). Aktivitas antibakteri kitosan disebabkan karena terjadinya interaksi antara kitosan dengan membran sel terluar dari bakteri. Mekanisme antimikroba kitosan terhadap bakteri terjadi melalui dua teori. Teori yang pertama didasari oleh adanya gugus fungsional amina pada kitosan yang dapat membentuk ikatan pada dinding sel bakteri dan mengakibatkan timbulnya kebocoran konstituen intraseluler sehingga bakteri akan lisis. Teori kedua menyebutkan bahwa diawali dengan merusak dinding sel bakteri, kitosan melakukan pengikatan intraseluler, menghalangi mRNA, dan menghambat sintesis protein (Andreas, *et al.*, 2007). Konsentrasi kitosan juga berpengaruh terhadap daya antibakteri, yaitu semakin tinggi konsentrasi kitosan maka daya hambat terhadap bakteri semakin besar. Akan tetapi, hingga pada konsentrasi tertentu aktivitas antibakteri kitosan justru semakin menurun. Hal ini dimungkinkan karena viskositas larutan rendah (Setyahadi, 2006). Selain itu, adanya atom nitrogen menjadikan kitosan sebagai *inhibitor* dan sumber makanan bakteri sekaligus. Semakin besar konsentrasi kitosan (di atas 0,1%), sifat kitosan sebagai sumber makanan semakin besar sehingga sifat kitosan sebagai *inhibitor* semakin menurun (Candra, 2008). Selain faktor konsentrasi

derajat deasetilasi (DD) kitosan juga memberikan perbedaan aktivitas antibakteri. Semakin besar DD kitosan, aktivitas bakteri akan semakin besar. Hal ini disebabkan karena semakin besar DD kitosan maka jumlah gugus amina bermuatan positif yang terbentuk juga semakin besar sehingga peluang interaksinya dengan sel bakteri yang bermuatan negatif semakin besar pula (Khan, 2002).

3. Aplikasi Kitosan Sebagai Bahan Kosmetik

Kitosan juga telah banyak diaplikasikan dalam bahan kosmetik. Aplikasi kitosan sebagai bahan kosmetik mencakup bahan perawatan rambut dan perawatan kulit. Modifikasi kitosan-alginat diidentifikasi mampu menyerap radiasi sinar UV dan mudah membentuk ikatan kovalen dengan senyawa-senyawa bewarna. Kitosan juga dapat dikombinasikan dengan senyawa hidrokoloid lain yang bersifat anti oksidan, anti alergi, atau anti peradangan yang diperoleh dari bahan-bahan alam (tanaman). Kitosan sebagai bahan pewarna kulit memiliki keuntungan bahwa kitosan tidak dapat penetrasi ke dalam lapisan kulit karena muatan yang berlawanan. Kitosan dan rambut saling melengkapi karena memiliki muatan listrik yang berlawanan, kitosan bermuatan positif sedangkan rambut bermuatan negatif. Kitosan dalam suatu bahan jika digunakan pada rambut akan menjadikan rambut lebih lembut, halus dan kuat. Hal tersebut karena kitosan bersifat relatif jernih (transparan) dan membentuk lapisan film. Selain itu, bahan juga mampu membentuk gel jika ditambah dengan campuran air dan alkohol. Oleh karena itu kitosan biasanya digunakan untuk bahan shampoo, pembilas, pengeriting rambut, pewarna rambut, *styling lotion*, *hair spray* dan *hair tonic*. Senyawa turunan kitosan yang sering digunakan dalam bahan kosmetik anatarlain gliseril kitosan, oligomer kitosan yang terhidrolisasi, kuartener hidroksipropil tersubstitusi kitosan, poliooksialkilen kitosan, kitosan oligosakarida, kitin sulfat, dan karboksimetil kitosan (Dutta, P.K., *et al.*, 2004)

4. Aplikasi Kitosan Dalam Proses Pengolahan Makanan

Penggunaan kitosan dalam proses pengolahan makanan juga telah banyak dilakukan karena senyawa ini relatif tidak beracun didalam tubuh. Kitosan menunjukkan sifat yang baik sebagai emulsifier, bahan pengisi (*thickening*), dan bahan *gelling* untuk menstabilkan makanan. Bahkan kitosan juga berperan sebagai serat didalam makanan. Penggunaan nanokitosan dalam proses pengolahan makanan juga mampu mengatasi beberapa masalah seperti rasa, warna dan daya simpan. Kitosan juga berperan dalam bahan pendukung padatan untuk mengatasi mikroba, immobilisasi sel hewan atau tumbuhan (Dutta, *et al.*, 2004)

2.2. Kerang Darah(*Anadara granosa*)

Kerang Darah (*Anadara granosa*) merupakan hewan moluska (binatang lunak) yang memiliki dua buah cangkang (bivalvia).

2.2.1. Klasifikasi Kerang Darah

Kingdom	: Animalia
Sub Kingdom	: Metazoa
Filum	: Mollusca
Kelas	: Bivalvia
Sub Kelas	: Pteriomorphia
Ordo	: Arcoida
Super Famili	: Arcoidea/Aracea
Famili	: Archidae
Genus	: <i>Anadara</i>
Spesies	: <i>Anadara granosa</i>



Gambar 4. Kerang Darah (*Anadara granosa*)

Kerang darah (*Anadara granosa*) merupakan salah satu jenis kerang yang terdapat di pantai laut pada substrat lumpur berpasir dengan kedalaman 1-30 m (Suwigno *et al.*, 2005). Kerang darah disebut *Anadara granosa* karena kelompok kerang ini memiliki pigmen darah merah (haemoglobin) yang disebut *bloody cockles*. Kerang ini memiliki cairan haemoglobin yang berfungsi mengikat oksigen dalam daging kerang, sehingga kerang ini dapat hidup pada kondisi kadar oksigen yang relative rendah. Kerang darah masih bisa hidup setelah dipanen walaupun tanpa air (Nurjanah *et al.*, 2005).

2.2.2. Ciri-ciri Kerang Darah (*Anadara granosa*)

Kerang darah memiliki cangkang yang lebih tebal, lebih kasar, lebih bulat dan bergerigi dibagian puncaknya serta tidak ditumbuhi oleh rambut-rambut. Mempunyai dua keping cangkang yang tebal, elips dan kedua sisi sama, cangkang berwarna putih ditutupi periostrakum yang berwarna kuning kecoklatan sampai coklat kehitaman, ukuran kerang dewasa 6-9 cm. Komposisi kimia kerang sangat bervariasi tergantung pada spesies, jenis kelamin, umur dan habitat.

2.2.3. Kandungan Gizi Kerang Darah (*Anadara granosa*)

Pada umumnya kerang kaya akan asam suksinat, asam sitrat, asam glikolat yang erat kaitannya dengan cita rasa dan memberikan energi sebagai kalori. Selain itu kerang juga mengandung enzim tiaminase dalam jumlah yang besar sehingga dapat merusak vitamin B1 bila dikonsumsi dalam keadaan mentah. Tiaminase dapat dinonaktifkan dengan pemanasan atau pemasakan.

2.2.4. Manfaat Kerang Darah (*Anadara granosa*)

Kerang darah merupakan salah satu jenis kerang yang bernilai ekonomis tinggi dan harganya terjangkau pada masyarakat. Kerang darah bermanfaat sebagai antioksidan dalam sistem pertahanan tubuh terhadap reaksi oksidasi radikal bebas. Kerang darah diduga memiliki komponen mineral tertentu yang berguna sebagai antioksidan, diantaranya adalah tembaga (Cu), zat besi (Fe), Seng (Zn) dan selenium (Se). Cu dan Zn merupakan mineral penting untuk tubuh manusia. Apabila kekurangan Fe, maka akan menyebabkan anemia, sedangkan selenium merupakan mineral yang cukup esensial, sebagai enzim yang paling penting antioksidan. Kerang darah juga mengandung Ca yang berguna sebagai mineral untuk pembentukan tulang dan gigi terutama pada masa pertumbuhan dan ibu hamil (Nurjanah *et al.*, 2005)

2.3. Nano Partikel

Nanopartikel adalah partikel berukuran 1-100 nanometer dan kebanyakan metode menyarankan sebaiknya ukuran diameter partikel antara 200 dan 400 nm. Dalam bidang farmasi, terdapat dua pengertian nanopartikel yaitu senyawa obat melalui suatu cara dibuat berukuran nanometer (nanokristal) dan suatu obat dienkapsulasi dalam suatu sistem pembawa berukuran nanometer, yaitu nanocarrier (Rachmawati, 2007). Nanopartikel bertujuan untuk mengatasi kelarutan zat aktif yang sukar larut, memperbaiki bioavailabilitas yang buruk, memodifikasi sistem penghantaran obat sehingga obat dapat langsung menuju daerah yang spesifik, meningkatkan stabilitas zat aktif dari degradasi lingkungan (penguraian enzimatis, oksidasi, hidrolisis), memperbaiki absorpsi suatu senyawa makromolekul, dan mengurangi efek iritasi zat aktif pada saluran cerna (Mohanraj and Chen, 2006).

2.3.1. Jenis-jenis Nanopartikel

Nanopartikel dibagi menjadi nanokristal dan *nanocarrier*. Terdapat bermacam-macam *nanocarrier* seperti nanotube, liposom, misel, dan lain-lain.

1. Nanokristal

Nanokristal adalah gabungan dari banyak molekul yang membentuk suatu kristal, merupakan senyawa obat murni dengan penyaluran tipis menggunakan surfaktan. Nanokristal tidak membutuhkan banyak surfaktan agar stabil karena gaya elektrostatis sehingga mengurangi kemungkinan keracunan oleh bahan tambahan (Rawat, *et al.*, 2006).

Nanokristal memungkinkan pengembangan formulasi melalui rute pemberian dimana ukuran partikel merupakan faktor kritis, seperti obat tetes mata, cairan infus, dan obat suntik (Rachmawati, 2007).

2. *Nanocarrier*

Nanocarrier merupakan suatu sistem pembawa dalam ukuran nanometer. *Nanocarrier* meliputi:

a. *Nanotube*

Nanotube adalah lembaran atom yang diatur menjadi bentuk tube dalam skala nanometer, memiliki rongga di tengah dan struktur yang menyerupai sangkar berbahan dasar karbon. *Nanotube* ber dinding tunggal digunakan sebagai sistem penghantaran obat dalam gen karena bentuknya menyerupai asam nukleat. *Nanotube* ber dinding ganda digunakan sebagai pembawa untuk transformasi sel bakteri dan untuk elektroporasi sel (Rawat *et al.*, 2006).

b. Nanoliposom

Liposom merupakan konsentrat vesikel lapis ganda yang terdapat cairan di dalamnya dengan dibungkus membrane lipid lapis ganda yang terbuat dari fosfolipid alam umumnya (Rawat *et al.*, 2006). Liposom terbentuk ketika lapisan lipid tipis terhidrasi dan sejumlah kristal cair lapis ganda mengembang. Liposom biasanya digunakan sebagai pembawa obat sediaan kosmetik untuk mempertahankan kelembaban kulit (Rachmawati, 2007). Nanoliposom dapat

dimanfaatkan sebagai perlindungan terhadap obat dari degradasi biologis sebelum sampai pada tempat yang diharapkan (Martien, 2012).

c. Nanopartikel Lipid Padat

Nanopartikel lipid padat adalah pembawa koloidal berbahan dasar lipid dengan ukuran 20-1000 nanometer yang terdispersi dalam air atau larutan surfaktan dalam air, berisi inti hidrofob padat disalut oleh fosfolipid lapis tunggal. Inti padat ini berisi senyawa obat yang didispersikan dalam matriks lemak padat yang mudah mencair (Rawat *et al.*, 2006).

d. Misel

Misel merupakan agregat molekul amfipatik dalam air dengan bagian nonpolar di dalam dan polar di luar pada bagian yang terpapar air. Dengan struktur itu obat yang bersifat hidrofob terdispersi di bagian dalam inti misel sehingga cocok sebagai pembawa obat yang tidak larut air (Rawat *et al.*, 2006). Misel memiliki kegunaan pada stabilitas termodinamik dalam larutan fisiologis yang mengakibatkan disolusi lambat secara *in vivo* (Rachmawati, 2007).

e. Dendrimer

Dendrimer merupakan makromolekul yang terdiri atas cabang-cabang di sekeliling inti pusat yang bentuk dan ukurannya dapat diubah sesuai yang diinginkan. Molekul obat dapat dimuat baik dalam dendrimer atau diabsorpsi pada permukaannya. Dendrimer cocok untuk zat penyalut untuk perlindungan dan penghantaran obat menuju target yang spesifik sehingga dapat mengurangi toksitas (Rawat *et al.*, 2006; Rachmawati, 2007).

f. Nanopartikel Polimerik

Nanopartikel polimerik terbagi menjadi nanokapsul dan nanosfer. Nanokapsul terdiri dari polimer yang membentuk dinding yang melingkupi inti dalam di mana obat dijerat. Nanosfer terbuat dari

matrik polimer padat dan senyawa obat terdispersi di dalamnya (Delie, 2005). Polimer yang biasa digunakan antara lain poli asam laktat (PLA), poli asam glikolat (PGA), poli alkilsianiakrilat (PACA), dan lainnya.

g. Nanopartikel cross link

Nanopartikel cross link merupakan nanopartikel yang terbentuk dari proses sambung silang antara elektrolit dengan pasangan ionnya. Ikatan sambung silang ini terjadi secara ionik maupun kovalen. Pembuatan nanopartikel sambung silang dilakukan menggunakan metode gelasi ionik. Metode sambung silang yang biasa digunakan adalah gelasi ionik, karena menggunakan pasangan ion yang lebih sesuai untuk protein dan menghindari pengadukan berlebihan, panas tinggi, dan penggunaan pelarut organik (Vauthier *et al.*, 2007). Mekanisme pembentukan nanopartikel kitosan didasarkan pada interaksi elektrostatik antara amin dari kitosan dan muatan negatif dari polianion. Kitosan dapat dilarutkan dengan asam asetat. Polianion kemudian ditambahkan, sehingga terbentuk nanopartikel secara spontan dengan pengadukan magnetic stirrer pada suhu kamar (Sailaja *et al.*, 2010). an, gelatin, albumin, dan natrium alginat (Rawat *et al.*, 2006).

2.3.2. Kelebihan Nanopartikel

Beberapa kelebihan nanopartikel adalah kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang dapat ditembus oleh partikel koloidal. Selain itu, nanopartikel fleksibel untuk dikombinasikan dengan berbagai teknologi lain. Kemampuan ini membuka potensi luas untuk dikembangkan pada berbagai keperluan dan target. Kelebihan lain adalah adanya peningkatan afinitas dari sistem karena peningkatan luas permukaan kontak pada jumlah yang sama (Buzea *et al.*, 2007).

2.3.3. Metode Pembuatan Nanopartikel

Pemilihan metode pembuatan nanopartikel bergantung pada polimer dan sifat obat. Secara konvensional nanopartikel dibuat dengan dua metode, yaitu polimerisasi monomer sintesis dan dispersi polimer sintesis. Pada dasarnya, monomer yang tidak larut air didispersikan dalam air kemudian polimerisasi dikendalikan dengan penambahan inisiator kimia. Senyawa obat akan terjerat dalam dinding polimer ketika ditambahkan dalam medium polimerisasi atau diabsorpsi di permukaan partikel (Delie, 2005).

Pembuatan nanopartikel dapat diklasifikasikan secara luas menjadi dua kategori yaitu:

1. Proses *top-down*

Proses *top-down* terdiri atas pengurangan ukuran partikel dari partikel obat yang besar menjadi partikel yang lebih kecil dengan menggunakan teknik penggilingan yang bervariasi seperti penggilingan media, mikrofluidisasi dan homogenisasi tekanan tinggi. Tidak ada pelarut keras yang digunakan dalam teknik ini. Walaupun demikian, semua proses penggilingan media membutuhkan energi yang tinggi dan tidak efisien. Pertimbangan terhadap banyaknya panas yang dihasilkan dalam metode ini membuat pengolahan material yang termolabil menjadi sulit (Patravale, 2004).

2. Proses *bottom-up*

Pembuatan *bottom-up* berupa pembentukan nanostruktur atom demi atom atau molekul demi molekul. Pada pendekatan *bottom-up*, obat dilarutkan dalam pelarut organik dan kemudian diendapkan pada penambahan antisolvent dalam adanya stabilizer (Patravale, 2004).

2.3.4. Metode Pembuatan Nanopartikel Sistem Polimer

Pembuatan nanopartikel dengan sistem polimer memiliki dua metode yang umum digunakan. Metode polimerisasi monomer sintesis dan dispersi polimer (Schmidt and Lamprecht, 2009).

1. Polimerisasi Monomer Sintesis

Nanopartikel yang terbentuk didapatkan dengan menginduksi reaksi polimerisasi dari monomer agar menjadi polimer sebagai suatu pembawa (Schmidt and Lamprecht, 2009). Prosesnya yaitu dengan mendispersikan suatu monomer yang tidak larut air ke dalam fase pendispersi air, kemudian diinduksi dan diberi pengendali reaksi berupa inisiator kimia, variasi pH, dan stabilizer (Delie and Blanco-Prieto, 2005).

2. Dispersi Polimer

Pembuatan nanopartikel menggunakan polimer memiliki prinsip presipitasi. Pada dasarnya proses ini dibuat dengan pembentukan emulsi dari fase organik yang terlarut polimer di dalamnya dengan fase air, kemudian untuk pembentukan partikel maka fase organik harus dihilangkan (Delie and Blanco-Prieto, 2005). Beberapa jenis metode dispersi polimer:

a. Metode Penguapan Pelarut

Polimer dilarutkan dalam pelarut organik seperti etil asetat yang digunakan sebagai pelarut dalam melarutkan obat yang bersifat hidrofob. Campuran polimer dan larutan obat lalu diemulsifikasi dalam larutan yang mengandung surfaktan dan menjadi bentuk emulsi minyak dalam air (o/w). Setelah terbentuk emulsi yang stabil, pelarut organik kemudian diuapkan dengan ditekan atau diputar secara terus menerus menggunakan pengaduk magnetik. Ukuran partikel dipengaruhi oleh tipe dan konsentrasi penstabil yang digunakan, kecepatan homogenizer, dan konsentrasi polimer (Mohanraj and Chen, 2006).

b. Emulsifikasi Spontan

Merupakan metode modifikasi dari penguapan pelarut. Dalam metode ini pelarut yang larut dalam air bersama dengan sejumlah kecil pelarut organik yang tidak larut air, digunakan sebagai fase minyak. Karena difusi spontan dari pelarut menyebabkan

turbulensi antarmuka antara dua fase yang membentuk partikel kecil. Semakin banyak konsentrasi air yang larut dalam pelarut, ukuran dari partikel yang dihasilkan akan semakin kecil (Mohanraj and Chen, 2006).

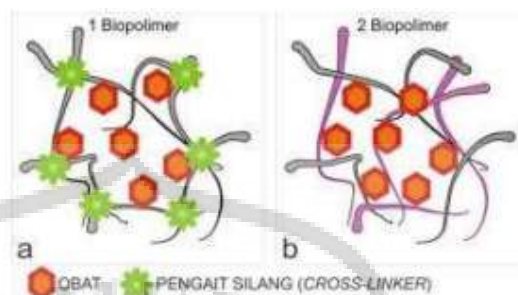
c. Gelasi Ionik

Metode ini melibatkan proses sambung silang antara polielektrolit dengan adanya pasangan ion multivalennya. Gelasi ionik diikuti dengan kompleksasi polielektrolit dengan polielektrolit yang berlawanan. Pembentukan ikatan sambung silang ini akan memperkuat kekuatan mekanis dari partikel yang terbentuk (Park and Yeo, 2007). Kitosan yang merupakan polimer kationik dapat bereaksi dengan anion multivalen seperti tripolifosfat. Pembentukan mikropartikel dengan metode gelasi ionik dapat dilakukan dengan pengerasan tetesan cair yang didispersikan pada fase minyak atau organik. Prosedur meliputi pencampuran dua fase cair, fase yang satu mengandung kitosan dan fase yang satu mengandung anion multivalen (Mohanraj and Chen, 2006).

d. Spray Drying

Polimer dilarutkan dalam pelarut organik, obat didispersikan ke dalamnya, kemudian dimasukkan ke dalam alat spray dry. Sampel menjalani proses penyemprotan melalui aliran udara panas tersebut, pelarut akan menguap sehingga menyisakan partikel padat berukuran nanometer (Delie and Blanco-Prieto, 2005).

Ilustrasi matriks yang terbentuk dengan gelasi ionik dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Ilustrasi matriks nanopartikel dengan metode gelasi ionik (Martien, 2012)

2.3.5. Karakterisasi Nanopartikel

Penentuan karakteristik nanopartikel diperlukan untuk mendapat pengertian mekanis dari perilaku nanopartikel. Hal ini dapat digunakan untuk memperkirakan kinerja dan untuk merancang partikel, pengembangan formulasi dan mengatasi masalah-masalah dalam proses pembuatan nanopartikel.

1. Sifat Organoleptis

Mengetahui morfologi dari nanopartikel yang mempengaruhi sifat pelepasan zat aktif dari nanopartikel tersebut. Pengamatan ini dapat dilakukan menggunakan mikroskop optic dengan perbesaran yang disesuaikan. Pengamatan kejernihan dilakukan untuk mengetahui morfologi dan ukuran dari *nanocarrier* secara visual. Partikel yang berukuran nanometer tidak dapat terlihat secara kasat mata, suspensi akan terlihat jernih dan transparan (Perdana, 2007).

2. Ukuran dan Distribusi Ukuran Nanopartikel

Ukuran dan distribusi nanopartikel diukur menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) menggunakan prinsip *Photon Correlation Spectroscopy* dan *Electrophoretic Light Scattering*. Rentang pengukuran dengan alat ini yaitu 0,6 μm – 7 nm (Coulter, 2008). Konsepnya bahwa partikel kecil dalam suspensi bergerak dengan pola secara acak, kemudian sinar laser menyinarinya. Semakin besar ukuran

partikel, semakin lambat Gerak Brown. Ukuran dan distribusi partikel merupakan karakteristik yang paling penting dalam sistem nanopartikel. Hal ini digunakan untuk memperkirakan distribusi secara *in vivo*, biologis, toksisitas, dan kemampuan membidik dari sistem nanopartikel (Mohanraj, 2006). Penentuan ukuran dan distribusi ukuran nanopartikel harus dilakukan karena mempengaruhi secara langsung keunikan sifat nanopartikel. Metode yang dapat digunakan antara lain *Dynamic Light Scattering (DLS)*, *Static Light Scattering (SLS)*, NMR, turbidimetri, dan lain sebagainya (Haskell, 2006). Setelah sampel diukur dengan perhitungan beberapa jenis menghasilkan representasi dari distribusi ukuran partikel. Partikel distribusi ukuran dapat dihitung sebagai angka atau volume distribusi massa. Analisis memberikan nilai ukuran untuk setiap partikel yang diperiksa (Horiba, 2014).

3. Morfologi Nanopartikel

Bentuk dan keadaan permukaan nanopartikel dapat memberi informasi tentang sifat pelepasan obat. Dapat digunakan *Scanning Electron Microscopy (SEM)*, *Transmission Electron Microscopy (TEM)*, dan mikroskop daya atom (Haskell, 2006).

4. Potensial Zeta

Potensial zeta biasanya digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan nanopartikel, berkaitan dengan interaksi elektrostatik nanopartikel. Interaksi elektrostatik akan menentukan kecenderungan agregasi dan tolak menolak. Potensial zeta adalah ukuran muatan permukaan partikel yang tersebar dalam medium pendispersi. Idealnya, muatan potensial zeta partikel harus lebih tinggi daripada medium pendispersi untuk mencegah agregasi. Potensial zeta harus dapat dikendalikan (Vaughn dan Williams, 2007). Nanopartikel dengan nilai potensial zeta lebih kecil dari -30 mV dan lebih besar dari +30 mV memiliki stabilitas lebih tinggi (Murdock *et al.*, 2008). Sistem dispersi dengan nilai zeta potensial yang rendah lebih mudah

membentuk agregat seiring dengan gaya Van der Waals dalam interaksi partikel (Nanocomposix, 2012).

5. Persen Transmitan (%T)

Persen transmitan (%T) menunjukkan fraksi daya radiasi yang diteruskan oleh sampel, dinyatakan sebagai $A = -\log \%T$, dimana A adalah absorbansi. Transmitan dapat juga dinyatakan dalam persamaan $T = I/I_0$ (IUPAC, 1997).



Gambar 6. Hukum Lambert-Beer pada spektrofotometri UV Visibel

Persen Transmitan (%T) digunakan untuk mengukur kejernihan secara kuantitatif dari larutan atau sistem disperse. Nilai persen transmitan yang tinggi artinya ukuran partikel semakin kecil. Secara fisik sistem disperse nanopartikel tidak dapat dilihat secara kasat mata sehingga terlihat jernih dan transparan (Perdana, 2007). Ukuran partikel yang kecil menyebabkan Gerak Brown yang terjadi semakin cepat. Gerak Brown yang semakin cepat akan mencegah proses sedimentasi dan mengakibatkan larutan semakin jernih (Sumardjo, 2006)

a. Indeks Polidispersitas

Indeks polidispersitas merupakan jumlah yang dihitung dari dua parameter sederhana untuk data korelasi (cumulants). Nanopartikel dengan nilai PDI adalah 1 memiliki distribusi ukuran yang sangat luas dan mengandung partikel besar atau agregat yang dapat mengalami sedimentasi (Malvern Instrument, 2005). Nilai PDI di bawah 0,05 biasanya dimiliki oleh sistem monodispersi. Untuk partikel berukuran 100-300

nm, nilai PDI umumnya di bawah 0,3 maka dapat dikatakan baik. Partikel dengan ukuran di atas 500 nm dan memiliki nilai PDI di atas 0,5 dikatakan besar dan teraglomerasi. Saat nilai PDI di atas 0,3. Maka ukuran rata-rata partikel tidak dapat digunakan (Nanocomposix, 2012).

2.4. Penelitian Terdahulu

Secara umum pembuatan nanokitosan terdiri dari isolasi kitosan dan pembentukan nanokitosan dengan pengikat silang. Isolasi kitosan terdiri dari deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi. Pembuatan nanokitosan yang berstabilitas dan berkualitas tinggi biasanya memerlukan metode yang cukup sulit. Metode yang banyak digunakan untuk membuat nanokitosan yaitu metode gelasi ionik, karena relatif sederhana mudah dikontrol dan tidak menggunakan pelarut organik sehingga lebih efisien.

Menurut (Bodmeier *et al.*, 1989) sebagai pencetus yang pertama dalam membuat nanokitosan menggunakan metode gelasi ionik menyebutkan bahwa “pembuatan nanokitosan dengan menggunakan metode gelasi ionik dengan menambahkan larutan tripolifosfat (TPP) kedalam larutan asam kitosan dengan pengadukan konstan”.