

Nanoenkapsulasi Hiptolida dari *Hyptis pectinata* (L.) Poit dengan Kitosan, Pektin, dan TPP menggunakan Metode Koaservasi Kompleks

Luthfiah Putri Nur'aini, Bambang Cahyono, Pratama Jujur Wibowa, Meiny Suzery

Departemen Kimia, FSM, Universitas Diponegoro, Jl. Prof. Sudarto No. 13, Tembalang, Kec. Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah 50275

*Penulis korespondensi: meiny.suzery@live.undip.ac.id

DOI : <https://doi.org/10.24198/cna.v12.n2.50657>

Abstrak: Telah dilakukan enkapsulasi hiptolida dengan penyalut kitosan, pektin, dan tripolifosfat (TPP) menggunakan metode koaservasi kompleks. Proses enkapsulasi dibuat dalam bentuk empat formula: formula 1 kitosan (BM = 500 KDa) 1% dan pektin 0,05%; formula 2 kitosan (BM = 168 KDa) 1% dan pektin 0,05%; formula 3 kitosan (BM = 168 KDa) 1% dan pektin 0,05% yang disertai perlakuan sonikasi; formula 4 kitosan 0,04%, pektin 0,08%, dan TPP 0,01%. Karakterisasi ukuran partikel formula enkapsulasi menggunakan *particle size analyzer* (PSA), efisiensi enkapsulasi (EE) menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan interaksi gugus fungsi hiptolida dalam masing-masing formula menggunakan spektrometer Raman. Hasil karakterisasi ukuran partikel formula 1 diperoleh 111,885 μm , formula 2 sebesar 118,389 μm , formula 3 sebesar 118,388 μm , dan formula 4 yaitu 20,578 nm, dengan efisiensi enkapsulasi 97,801%. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disimpulkan bahwa formula 4 dengan komposisi kitosan 0,04%, pektin 0,08%, dan TPP 0,01% merupakan formula optimum enkapsulasi hiptolida yang mampu membentuk nanopartikel berukuran 20,578 nm.

Kata kunci: hiptolida, nanoenkapsulasi, koaservasi kompleks, pektin, kitosan-TPP

Abstract: Encapsulation of hyptolide with chitosan, pectin and tripolyphosphate (TPP) coating has been carried out using the complex coacervation method. The encapsulation process is made in the form of four formulas: formula 1 chitosan (BM = 500 KDa) 1% and pectin 0.05%; formula 2 chitosan (BM = 168 KDa) 1% and pectin 0.05%; formula 3 chitosan (BM = 168 KDa) 1% and pectin 0.05% accompanied by sonication treatment; formula 4 chitosan 0.04%, pectin 0.08%, and TPP 0.01%. Characterization of the particle size of the encapsulation formula using a particle size analyzer (PSA), encapsulation efficiency (EE) using a UV-Vis spectrophotometer, and the interaction of the hyptolide functional groups in each formula using a Raman spectrometer. The particle size characterization results for formula 1 is 111.885 μm , formula 2 is 118.389 μm , formula 3 is 118.388 μm , and formula 4 is 20.578 nm, with an encapsulation efficiency of 97.801%. Based on the research that has been conducted, it is concluded that formula 4 with a composition of chitosan 0.04%, pectin 0.08%, and TPP 0.01% is the optimum formula for encapsulating hyptolide, capable of forming nanoparticles with a size of 20.578 nm.

Keywords: hyptolide, nanoencapsulation, complex coaservation, pectin, chitosan-TPP

PENDAHULUAN

Senyawa berkerangka α,β lakton tak jenuh telah dilaporkan berpotensi sebagai antikanker karena terbukti memiliki aktivitas antiproliferasi dan apoptosis terhadap sel kanker. Salah satu senyawa α,β lakton tak jenuh yaitu hiptolida. Hiptolida dapat diperoleh dari tanaman *Hyptis pectinata* (L.) Poit (Birch & Butler 1964; Suzery *et al.* 2020). Namun, sifat dari cincin α,β lakton tidak stabil. Kelarutannya dalam air juga sangat rendah sehingga sangat menyulitkan untuk penghantarannya pada sel target di dalam aliran darah, dikarenakan kandungan utama darah dalam tubuh manusia adalah air (Siek *et al.* 1971; Jones & Tilson 2023). Agar dapat mengatasi

permasalahan tersebut, diperlukan teknik enkapsulasi untuk melindungi kerangka α,β lakton tak jenuh menggunakan penyalut berbahan dasar polimer. Dengan demikian, hiptolida dapat terlindungi dari degradasi, bioavailabilitas meningkat, dan dihantarkan tepat ke sel target tanpa menyebabkan toksisitas pada sel lain (Burgain *et al.* 2011; Agustin & Wibowo 2021).

Pada pengobatan kanker payudara, untuk mencapai penghantaran tepat ke sel kanker, hiptolida yang telah terenkapsulasi harus memiliki ukuran yang lebih kecil dari sel kanker itu sendiri. Ukuran rata-rata sel tumor kanker payudara sekitar 13,1 μm (Hosokawa *et al.* 2013). Oleh karena itu, hiptolida

yang terenkapsulasi harus berukuran lebih kecil, berbentuk nanopartikel dengan rentang antara 10 hingga 1000 nm (Wirasti dkk. 2021). Nanopartikel dinilai efektif dan mampu mengantarkan senyawa yang dimuat tepat ke target, meningkatkan stabilitas, durasi efek terapi, dan kelarutan obat hidrofobik, serta memungkinkan sirkulasi obat dalam aliran darah untuk lebih lama (Akash *et al.* 2015; Ulbrich *et al.* 2016; Mohammed *et al.* 2017).

Penyalut yang digunakan untuk nanoenkapsulasi hiptolida merupakan polimer berbasis kitosan, pektin, dan tripolifosfat (TPP). Kitosan memiliki toksisitas yang rendah, stabilitas yang baik, proses preparasi yang sederhana, dan dapat diaplikasikan pada berbagai rute pemberian obat (Tiyaboonchai 2013). Polimer kitosan dan pektin akan membentuk polielektrolit kompleks yang aman, mudah terurai, dan cocok dengan lingkungan biologis (Rashidova *et al.* 2004). Penambahan TPP berfungsi sebagai pengikat yang menghasilkan struktur padat dan kompak, sehingga dapat menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil (Rampino *et al.* 2016). Metode enkapsulasi yang cocok untuk hiptolida adalah koaservasi kompleks, metode enkapsulasi kimiawi yang ekonomis, efisien, dan mampu mencapai tingkat enkapsulasi yang tinggi (Chan *et al.* 2010; Li & Huang 2013). Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan nanoenkapsulasi hiptolida dengan menggunakan kitosan, pektin, dan TPP sebagai penyalut melalui metode koaservasi kompleks.

BAHAN DAN METODE

Kristal hiptolida, pektin apel, kitosan BM = 500 KDa dan BM = 168 KDa (viskositas = 74,99 mPas; derajat deasetilasi = 96,19%), natrium tripolifosfat (NaTPP), natrium hidroksida (NaOH), asam asetat glasial (CH₃COOH), metanol p.a (CH₃OH) "Merck", akuades (H₂O), kertas saring 0,45 µm.

Penentuan Formula Optimum Penyalut Kitosan-Pektin

Formula optimum penyalut berbasis kitosan-pektin dipilih dari empat variasi, mengacu pada penelitian Feranisa *et al.* (2015) dengan modifikasi. Empat komposisi formula penyalut kitosan (BM = 500 KDa) dan pektin yang digunakan yaitu 1:1, 0,01:1, 1:0,05, dan 0,05:0,05 (%). Setiap formula divorteks selama 60 detik. Formula yang dianggap optimum memiliki penampilan sedikit keruh dan tidak ada endapan. Kondisi ini menunjukkan bahwa konsentrasi yang digunakan sudah tepat, membentuk polielektrolit kompleks, dan berpotensi membentuk nanopartikel (Feranisa *et al.* 2015).

Enkapsulasi Hiptolida dalam Penyalut Kitosan-Pektin

Konsentrasi hiptolida yang akan dienkapsulasi sebesar 400 ppm. Penentuan dosis berdasarkan nilai IC₅₀ tertinggi hiptolida disertai penambahan 20% dari

nilai IC₅₀. Hal ini dilakukan sebagai antisipasi pada sediaan peroral terdapat penyerapan dan degradasi dalam saluran pencernaan sebelum masuk ke saluran sistemik pada pengobatan (Suzery *et al.* 2020).

Formula Enkapsulasi 1

Formula 1 didasarkan pada penelitian Feranisa *et al.* (2015) dan menggunakan formula optimum penyalut kitosan-pektin dari tahap sebelumnya. Proses enkapsulasi dilakukan dengan mencampurkan larutan hiptolida 400 ppm dalam larutan kitosan dan pektin menggunakan vorteks selama 10 menit, kemudian dikarakterisasi *particle size analyzer* (PSA).

Formula Enkapsulasi 2

Formula 2 dilakukan dengan cara dan formula yang serupa pada formula 1, dengan modifikasi penggunaan kitosan berat molekul lebih rendah (BM = 168 KDa). Hasil enkapsulasi kemudian dikarakterisasi *particle size analyzer* (PSA).

Formula Enkapsulasi 3

Formula 3 dilakukan modifikasi dari formula 2 berupa penggunaan *water-bath sonicator* sebelum dan sesudah larutan dicampurkan. Hasil enkapsulasi selanjutnya dikarakterisasi oleh *particle size analyzer* (PSA).

Formula Enkapsulasi 4

Formula 4 didasarkan pada penelitian Rashidipour *et al.* (2019) dengan adanya penambahan TPP dan penggunaan kertas saring 0,45 µm. Komposisi penyalut dalam formula ini yaitu larutan kitosan 0,04% (BM = 168 KDa), larutan TPP 0,01%, dan larutan pektin 0,08%. Masing-masing larutan disaring dengan kertas saring 0,45 µm sebelum dicampurkan. Hasil enkapsulasi yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi *particle size analyzer* (PSA).

Karakterisasi Produk Enkapsulasi

Uji Ukuran Partikel

Setiap suspensi hasil enkapsulasi diuji menggunakan *particle size analyzer* (PSA) untuk mengetahui ukuran partikel rata-rata produk dan memastikan bahwa ukuran partikel telah berada dalam rentang nanometer.

Uji Efisiensi Enkapsulasi (%EE)

Efisiensi enkapsulasi diuji untuk meninjau kadar hiptolida yang berhasil terjepap dalam penyalut. Berawal dari pembuatan kurva standar hiptolida untuk menentukan nilai tetapan absorptivitasnya, kemudian suspensi hasil enkapsulasi yang membentuk nanopartikel disentrifugasi selama 90 menit dengan kecepatan 4500 rpm untuk memisahkan supernatan. Supernatan akan digunakan dalam pengukuran absorbansi pada $\lambda = 210$ nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Nilai tetapan

absorptivitas dan absorbansi diolah menjadi konsentrasi hiptolida yang terkandung dalam supernatan menggunakan persamaan Hukum *Lambert-beer*. Data hasil pengolahan tersebut selanjutnya digunakan untuk menentukan besaran persentase efisiensi enkapsulasi (%EE). Rumus %EE merupakan hasil modifikasi rumus oleh Rabima & Sari (2019) dan Reddy & Thakur (2019), sebagai berikut:

$$\%EE = \frac{\text{Kons.Hiptolida} - \text{Kons.Hiptolida (Supernatan)}}{\text{Kons.Hiptolida}} \times 100\%$$

Karakterisasi Spektroskopi Raman

Karakterisasi spektroskopi Raman bertujuan untuk membuktikan keberhasilan terjerapnya hiptolida dalam penyalut dengan mengidentifikasi interaksi yang terjadi di antara keduanya. Sampel yang digunakan berupa suspensi nanopartikel dan blanko (penyalut) yang diuji pada rentang bilangan gelombang 500 – 3500 cm^{-1} .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Formula Optimum Penyalut Kitosan-Pektin

Kitosan dan pektin berperan sebagai penyalut untuk mengenkapsulasi hiptolida. Kitosan merupakan suatu polisakarida kationik bersifat basa lemah yang muatan positifnya sangat berperan penting dalam hal mukoadhesi pada penghantaran obat. Pektin merupakan polisakarida anionik alami yang bersifat asam lemah (Minzanova *et al.* 2018). Interaksi elektrostatik antara gugus $-\text{COO}^-$ pektin dan $-\text{NH}_3^+$ kitosan akan menghasilkan ikatan ionik kuat yang dapat membentuk polielektrolit kompleks yang bersifat non toksik, *biodegradable*, *biocompatible*, dan dapat melindungi molekul bioaktif yang terjerap di dalamnya dengan baik (Grabnar & Kristl 2010). Polielektrolit kompleks ini selain unggul dalam mengenkapsulasi molekul bioaktif dan obat-obatan, juga dapat mengurangi kemungkinan toksisitas, mempengaruhi pelepasan obat dan molekul bioaktif terkontrol, serta dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi (Maciel *et al.* 2017). Hipotesis interaksi

antara kitosan dan pektin termuat pada Gambar 1. Hasil yang diperoleh dalam penentuan formula optimum penyalut ditunjukkan dalam Tabel 1.

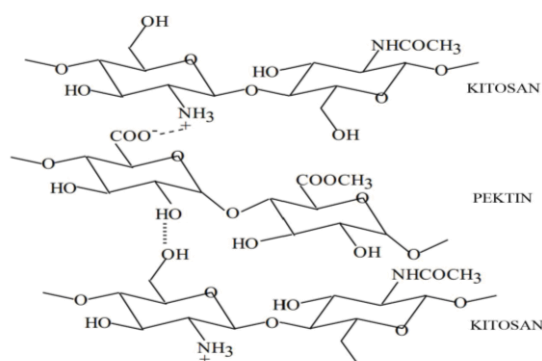
Berdasarkan hasil formulasi, formula penyalut kitosan 1% dan pektin 0,05% merupakan formula yang paling mendekati hipotesis formula optimum penyalut menurut Feranisa *et al.* (2015) (tampak sedikit keruh dan tidak membentuk endapan). Hal ini memperlihatkan konsentrasi kitosan dan pektin sudah tepat, membentuk polielektrolit kompleks hasil interaksi dari polikationik kitosan dan polianionik pektin, dan akan membentuk nanopartikel (Feranisa *et al.* 2015). Oleh karena itu, formula ini terpilih untuk digunakan pada tahap selanjutnya yaitu enkapsulasi senyawa hiptolida.

Hasil Enkapsulasi Senyawa Hiptolida dan Analisis Ukuran Partikel

Enkapsulasi senyawa hiptolida dilakukan dengan metode koaservasi kompleks hingga empat formula menggunakan penyalut kitosan-pektin. Ukuran partikel dianalisis pada keempat produk enkapsulasi untuk memastikannya telah membentuk nanopartikel. Berdasarkan hasil analisis PSA, pada formula 4 berhasil diperoleh nanopartikel berukuran 20,578 nm. Hasil enkapsulasi tiap formula ditunjukkan dalam Tabel 2.

Pada formula enkapsulasi 1, ukuran partikel yang diperoleh masih dalam skala mikrometer, 111,885 μm , tidak sesuai hipotesis. Perbedaan hasil yang diperoleh dimungkinkan karena perbedaan senyawa bioaktif yang dijerap serta dipengaruhi oleh tingkat viskositas dan berat molekul dari kitosan yang cukup tinggi, dilihat dari produk enkapsulasi yang terbentuk tampak sedikit kental.

Pada formula enkapsulasi 2, alasan penggunaan kitosan berat molekul yang lebih rendah (dari 500 KDa menjadi 168 KDa) dikarenakan berat molekul suatu penyalut cukup mempengaruhi ukuran partikel. Semakin kecil berat molekul, maka semakin kecil pula ukuran nanopartikel yang terbentuk (Luangtananan *et al.* 2005; Morris *et al.* 2010; Nguyen *et al.*



Gambar 1. Hipotesis interaksi kitosan dan pektin (Kowalonek 2017)

Tabel 1. Hasil formulasi penyalut kitosan-pektin

Formula (1:1)		Hasil
Kitosan	Pektin	
1%	1%	Tampak keruh, terbentuk endapan, kental
0,01%	1%	Tampak keruh, tidak terbentuk endapan, sedikit kental
1%	0,05%	Tampak sedikit keruh, tidak terbentuk endapan, sedikit kental
0,05%	0,05%	Tampak bening, encer

Tabel 2. Hasil produk enkapsulasi hiptolida dengan penyalut kitosan-pektin

No.	Formula	Visual	Ukuran Partikel	Referensi	Catatan
1	Larutan Kitosan (BM = 500 KDa; pH 4,7-4,8) 1% : Pektin 0,05% : Hiptolida	Keruh, tidak ada endapan, sedikit kental	111,885 μm	Feranisa <i>et al.</i> (2015)	Penggunaan formula penyalut optimum tidak menghasilkan nanopartikel (hipotesis tidak sesuai)
2	Larutan Kitosan (BM = 168 KDa; pH 4,7-4,8) 1% : Pektin 0,05% : Hiptolida	Keruh-jernih, tidak ada endapan, tidak kental	118,389 μm	Luangtana-anan <i>et al.</i> (2005); Morris <i>et al.</i> (2010); dan Nguyen <i>et al.</i> (2017).	Penggunaan kitosan BM lebih rendah tidak berpengaruh pada penurunan ukuran partikel
3	Larutan Kitosan (BM = 168 KDa; pH 4,7-4,8) 1% : Pektin 0,05% : Hiptolida – Sonikasi	Keruh-jernih, tidak ada endapan, tidak kental, lebih homogen	118,388 μm	Lestari dkk. (2013) dan Low <i>et al.</i> (2022)	Penggunaan sonikator tidak berpengaruh signifikan
Nilai optimum ukuran partikel dengan penyalut kitosan 1% dan pektin 0,05% berada di kisaran 100 μm					
4	Larutan Kitosan (BM = 168 KDa; pH 4,7-4,8) 0,04% : Pektin 0,08% : TPP 0,01% : Hiptolida – Sonikasi dan Filtrasi	Lebih jernih, tidak ada endapan, tidak kental, lebih homogen	20,578 nm	Rampino <i>et al.</i> (2016) dan Rashidipour <i>et al.</i> (2019)	Penggunaan TPP dan menjadikan struktur lebih kompak dan ukuran menjadi lebih kecil Kertas saring 0,45 μm memastikan tidak ada agregat besar pada produk

2017). Akan tetapi, ternyata hasil yang diperoleh masih berada di rentang mikrometer, 118,389 μm . Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh masih adanya agregat yang cukup besar dalam produk enkapsulasi, sehingga diperlukan teknik sonikasi untuk memecah agregat tersebut menjadi lebih kecil

Pada formula enkapsulasi 3, dilakukan modifikasi dengan sonikasi menggunakan *water-bath sonicator* karena sonikasi akan mampu memecahkan agregat yang berukuran besar menjadi lebih kecil sebab gelombang ultrasonik yang ditimbulkan akan menghasilkan gelembung kavitasi. Namun, setelah dianalisis PSA, hasil yang diperoleh masih dalam rentang yang sama yaitu 118,388 μm . Faktor yang dapat menyebabkan hal ini yaitu kurangnya agen

penstabil (contoh: TPP) yang dapat mencegah aglomerasi kembali partikel yang telah terpecah menjadi ukuran yang lebih kecil setelah dilakukan sonikasi. Berdasarkan ketiga hasil formula enkapsulasi yang telah dibuat disertai modifikasi berat molekul kitosan dan sonikasi, dapat disimpulkan bahwa nilai optimum ukuran partikel pada komposisi penyalut kitosan 1% dan pektin 0,05% berada di kisaran 100 μm .

Pada formula enkapsulasi 4, diperoleh ukuran partikel rata-rata berskala nanometer, yaitu 20,578 nm dengan nilai indeks polidispersitas (PDI) sebesar 0,003, sesuai dengan yang diharapkan berhasil membentuk nanopartikel. Nilai PDI memperlihatkan bahwa partikel monodisperse karena nilai PDI < 0,1

(Raval *et al.* 2019). Keberhasilan formula enkapsulasi 4 dalam membentuk nanopartikel selain dipengaruhi oleh perbandingan komposisi, diduga juga dipengaruhi oleh penggunaan TPP yang menyebabkan struktur menjadi lebih kompak sehingga ukuran partikel menjadi lebih kecil, dan filtrasi dengan kertas saring 0,45 yang dapat memastikan tidak adanya agregat besar dalam produk enkapsulasi. Keunggulan dari terbentuknya nanopartikel yaitu nanopartikel akan mampu menghantarkan senyawa yang dimuat tepat ke target, meningkatkan stabilitas, dan meningkatkan durasi efek terapi (Akash *et al.* 2015; Ulbrich *et al.* 2016; Mohammed *et al.* 2017).

Hasil Uji Efisiensi Enkapsulasi (%EE)

Efisiensi enkapsulasi diujikan pada produk enkapsulasi 4 yang berhasil membentuk nanopartikel untuk menentukan seberapa banyak hiptolida yang berhasil terjerap dalam penyalut. Tahap pengujian diawali dengan pembuatan kurva standar hiptolida untuk menentukan tetapan absorptivitas hiptolida dan diperoleh sebesar 0,0213. Hasil perhitungan %EE yang diperoleh dapat dilihat dalam Tabel 3.

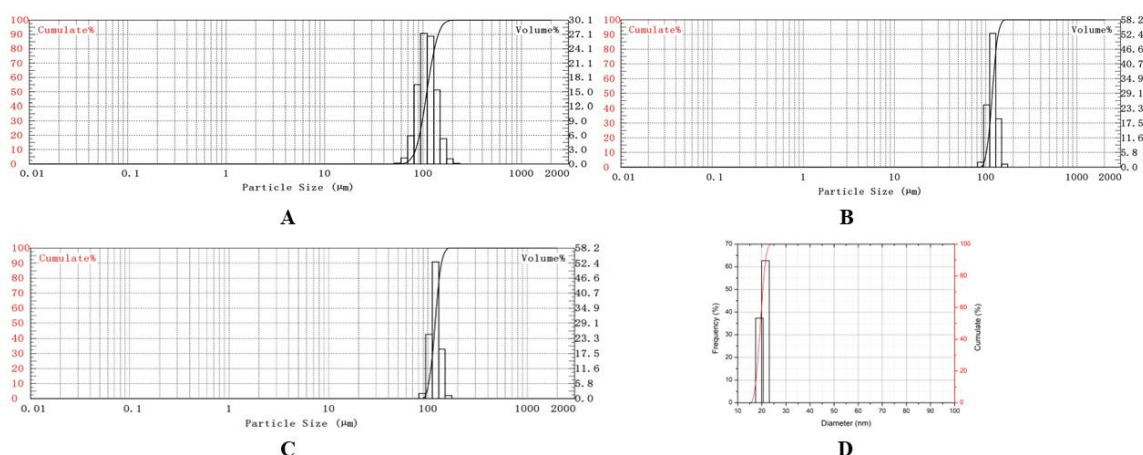
Persentase efisiensi enkapsulasi produk diperoleh sebesar 97,801%. Hasil yang diperoleh cukup tinggi, membuktikan kadar hiptolida yang terjerap penyalut cukup besar, dan menunjukkan semakin baik kemampuan penyalut dalam melindungi hiptolida (Supriyadi & Rujita 2013). Pada produk enkapsulasi ini, hiptolida dilindungi oleh adanya ikatan hidrogen yang terjadi antara gugus C=O hiptolida dengan -OH kitosan dan pektin. Gugus $-\text{COO}^-$ pektin dan $-\text{NH}_3^+$

kitosan akan berinteraksi elektrostatis dan membentuk ikatan ionik yang kuat, sedangkan TPP akan memberikan struktur yang kompak. Hipotesis interaksi termuat pada Gambar 3.

Hasil Karakterisasi Spektroskopi Raman

Karakterisasi spektroskopi Raman dilakukan terhadap suspensi blanko penyalut kitosan-pektin-TPP dan nanopartikel hiptolida-kitosan-pektin-TPP. Hal ini bertujuan untuk menganalisis perbedaannya serta keberhasilan terjerapnya hiptolida dalam penyalut dengan melihat interaksi yang terjadi di antara keduanya. Alasan penggunaan spektroskopi Raman dibandingkan instrumen lainnya, seperti *Fourier-transform infrared spectroscopy* (FTIR), adalah karena sampel yang akan diuji berbasis aqueous. Dengan FTIR, pita serapan air cukup kuat dan dapat mempersulit analisis sampel yang mengandung air. Sebaliknya, dengan spektroskopi Raman, hamburan Raman pada air cukup lemah, sehingga kemungkinan terinterferensi dalam analisis sampel akibat keberadaan air, cukup rendah.

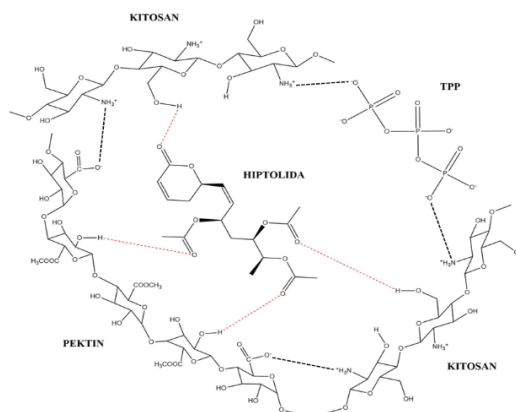
Spektra Raman ditunjukkan dalam Gambar 4. Spektra Raman mengindikasikan terdapat N-H tekuk kitosan dengan adanya puncak 1512 cm^{-1} pada spektrum nanopartikel dan puncak 1515 cm^{-1} pada spektrum blanko (Silva-Molina *et al.* 2011). Spektrum nanopartikel pada 1731 cm^{-1} diidentifikasi sebagai gugus C=O yang dimiliki ester atau lakton pada hiptolida dan gugus C=O yang dimiliki pektin. Spektrum blanko juga menunjukkan gugus C=O pada 1715 cm^{-1} namun intensitasnya tidak sekuat pada



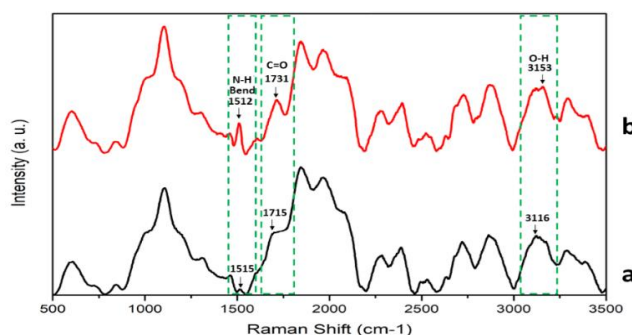
Gambar 2. Hasil analisis ukuran partikel dengan PSA *Laser Diffraction* formula 1-3 (a-c) dan PSA *Dynamic Light Scattering* formula 4 (d)

Tabel 3. Hasil uji efisiensi enkapsulasi (%EE)

Pengulangan	Absorbansi	Konsentrasi (Supernatan)	%EE
1	0,188	8,826	97,793
2	0,187	8,779	97,805
3	0,187	8,779	97,805
Rata-rata			97,801
SD			0,007



Gambar 3. Hipotesis interaksi antara hiptolida, kitosan, pektin, dan TPP



Gambar 4. Spektra Raman (a) blanko kitosan-pektin-TPP, (b) nanopartikel hiptolida-kitosan-pektin-TPP

nanopartikel, gugus C=O ini diduga hanya berasal dari pektin. Keberadaan interaksi hidrogen teridentifikasi setelah penambahan hiptolida dalam nanopartikel. Pada awalnya, spektrum blanko dengan puncak 3116 cm⁻¹ menunjukkan gugus hidroksil (-OH) milik kitosan dan pektin, kemudian pada spektrum nanopartikel dengan puncak 3153 cm⁻¹, selain menunjukkan gugus hidroksil (-OH) milik kitosan dan pektin, juga dapat diidentifikasi sebagai ikatan hidrogen yang terbentuk ketika gugus C=O hiptolida berinteraksi dengan -OH kitosan dan pektin. Keberadaan gugus OH dapat mempengaruhi tidak munculnya regang amina sekunder akibat tumpang tindih atau interferensi dengan spektrum gugus OH.

Pergeseran puncak dari bilangan gelombang 1715 ke 1731 cm⁻¹ yang khas berada pada rentang milik gugus C=O dalam ester, dimana menunjukkan kemungkinan adanya penambahan molekul ester dalam sampel, dan pergeseran puncak dari 3116 ke 3153 cm⁻¹ milik gugus OH merupakan fenomena yang dapat terjadi ketika adanya penambahan molekul. Penambahan molekul baru dapat menyebabkan terjadinya interaksi antar molekul yang akan menyebabkan perubahan frekuensi vibrasi ikatan dalam molekul. Perubahan tersebut dapat mengakibatkan pergeseran puncak yang dijelaskan dalam efek Raman (Bumrah & Sharma 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disimpulkan bahwa formula 4 dengan komposisi kitosan 0,04%, pektin 0,08%, dan TPP 0,01% merupakan formula optimum enkapsulasi hiptolida yang mampu membentuk nanopartikel berukuran 20,578 nm. Formula 1, 2, dan 3 membentuk mikropartikel berukuran 111,885 µm, 118,389 µm, dan 118,388 µm. Nanopartikel hiptolida memiliki persentase efisiensi enkapsulasi sebesar 97,801% menunjukkan penyalut yang digunakan memiliki kemampuan yang cukup baik dalam melindungi hiptolida. Keberhasilan terjerapnya hiptolida dalam penyalut ditunjukkan oleh hasil karakterisasi Raman, melalui adanya penambahan gugus C=O milik hiptolida dan ikatan hidrogen setelah berikatan hiptolida.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro yang telah memberi pendanaan penelitian ini dengan nomor kontrak 21.F/UN7.F8/PP/II/2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, D.A. & Wibowo, A.A. (2021). Teknologi enkapsulasi: teknik dan aplikasinya. *DISTILAT: Jurnal Teknologi Separasi*. 7(2): 202-209.
- Akash, M.S.H., Rehman, K. & Chen, S. (2015). Natural and synthetic polymers as drug carriers

- for delivery of therapeutic proteins. *Polymer Reviews*. **55(3)**: 371-406.
- Birch, A.J. & Butler, D.N. (1964). 799. The structure of hyptolide. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*. **0**: 4167-4168.
- Bumbrah, G.S. & Sharma, R. M. (2016). Raman spectroscopy–Basic principle, instrumentation and selected applications for the characterization of drugs of abuse. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*. **6(3)**: 209-215.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M. & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*. **104(4)**: 467-483.
- Chan, E.S., Yim, Z.H., Phan, S.H., Mansa, R.F. & Ravindra, P. (2010). Encapsulation of herbal aqueous extract through absorption with calcium alginate hydrogel beads. *Food and Bioprocess Processing*. **88(2-3)**: 195-201.
- Feranisa, A., Arimurni, D.A., Ismail, H., Martien, R. & Sisindari, S. (2015). Formulation of medium viscosity chitosan-pectin–MJ protein nanoparticles conjugated with Anti-Ep-CAM and its cytotoxicity against T47D breast cancer cell lines. *Indonesian Journal of Biotechnology*. **20(1)**: 1-10.
- Grabnar, P.A. & Kristl, J. (2010). Physicochemical characterization of protein-loaded pectin-chitosan nanoparticles prepared by polyelectrolyte complexation. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*. **65(11)**: 851-852.
- Hosokawa, M., Kenmotsu, H., Koh, Y., Yoshino, T., Yoshikawa, T., Naito, T., Takahashi, T., Murakami, H., Nakamura, Y., Tsuya, A., Shukuya, T., Ono, A., Akamatsu, H., Watanabe, R., Ono, S., Mori, K., Kanbara, H., Yamaguchi, K., Tanaka, T. & Yamamoto, N. (2013). Size-based isolation of circulating tumor cells in lung cancer patients using a microcavity array system. *PLoS ONE*. **8(6)**: p. e67466.
- Jones, A.W. & Tilson, C. (2023). Distribution ratios of ethanol and water between whole blood, plasma, serum, and erythrocytes: Recommendations for interpreting clinical laboratory results in a legal context. *Journal of Forensic Sciences*. **68(1)**: 9-21.
- Kowalonek, J. (2017). Studies of chitosan/pectin complexes exposed to UV radiation. *International Journal of Biological Macromolecules*. **103**: 515-524.
- Lestari, M.W., Saputro, S.H. & Wahyuni, S. (2013). Sintesis dan karakterisasi nanokatalis CuO/TiO₂ yang diaplikasikan pada proses degradasi limbah fenol. *Indonesian Journal of Chemical Science*. **2(2)**: 154-159.
- Li, Y. & Huang, Q. (2013). Influence of protein self-association on complex coacervation with polysaccharide: a Monte Carlo study. *The Journal of Physical Chemistry B*. **117(9)**: 2615-2624.
- Low, S.S., Yew, M., Lim, C.N., Chai, W.S., Low, L.E., Manickam, S., Tey, B.T. & Show, P.L. (2022). Sonoproduction of nanobiomaterials – A critical review. *Ultrasonics Sonochemistry*. **82**: p. 105887.
- Luangtana-anan, M., Opanasopit, P., Ngawhirunpat, T., Nunthanid, J., Srimornsak, P., Limmatvapirat, S. & Lim, L. Y. (2005). Effect of chitosan salts and molecular weight on a nanoparticulate carrier for therapeutic protein. *Pharmaceutical Development and Technology*. **10(2)**: 189-196.
- Maciel, V.B., Yoshida, C.M., Pereira, S.M., Goycoolea, F.M. & Franco, T.T. (2017). Electrostatic self-assembled chitosan-pectin nano-and microparticles for insulin delivery. *Molecules*. **22(10)**: 1-21.
- Minzanova, S.T., Mironov, V.F., Arkhipova, D.M., Khabibullina, A.V., Mironova, L.G., Zakirova, Y.M. & Milyukov, V.A. (2018). Biological activity and pharmacological application of pectic polysaccharides: A review. *Polymers*. **10(12)**: 1-31.
- Mohammed, M.A., Syeda, J.T., Wasan, K.M. & Wasan, E.K. (2017). An overview of chitosan nanoparticles and its application in non-parenteral drug delivery. *Pharmaceutics*. **9(4)**: 1-26.
- Morris, G.A., Kök, S.M., Harding, S.E. & Adams, G.G. (2010). Polysaccharide drug delivery systems based on pectin and chitosan. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*. **27(1)**: 257-284.
- Nguyen, T.V., Nguyen, T.T.H., Wang, S.L., Vo, T.P.K. & Nguyen, A.D. (2017). Preparation of chitosan nanoparticles by TPP ionic gelation combined with spray drying, and the antibacterial activity of chitosan nanoparticles and a chitosan nanoparticle–amoxicillin complex. *Research on Chemical Intermediates*. **43**: 3527-3537.
- Rabima, R. & Sari, M.P. (2019). Entrapment efficiency and drug loading of curcumin nanostructured lipid carrier (NLC) formula. *Pharmaciana*. **9(2)**: 299-306.
- Rampino, A., Borgogna, M., Bellich, B., Blasi, P., Virgilio, F. & Cesàro, A. (2016). Chitosan-pectin hybrid nanoparticles prepared by coating and blending techniques. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **84**: 37-45.
- Rashidipour, M., Maleki, A., Kordi, S., Birjandi, M., Pajouhi, N., Mohammadi, E., Heydari, R., Rezaee, R., Rasoulzadeh, B. & Davari, B. (2019). Pectin/chitosan/tripolyphosphate nanoparticles: efficient carriers for reducing soil sorption, cytotoxicity, and mutagenicity of paraquat and enhancing its herbicide activity. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry*. **67(20)**: 5736–5745.
- Rashidova, S. Sh., Milusheva, R. Yu., Semenova, L. N., Mukhamedjanova, M. Yu., Voropaeva, N. L., Vasilyeva, S., Faizieva, R. & Ruban, I. N. (2004). Characteristics of interactions in the pectin-chitosan system. *Chromatographia*. **67(2)**: 5736–5745
- Raval, N., Maheshwari, R., Kalyane, D., Youngren-Ortiz, S.R., Chougule, M.B. & Tekade, R.K. (2019). Importance of Physicochemical Characterization of Nanoparticles in Pharmaceutical Product Development. In Tekade, R.K. (Eds). *Basic Fundamentals of Drug Delivery*. Pp. 369–400. Academic Press. Cambridge, Massachusetts.
- Reddy, S.G. & Thakur, A. (2019). Drug entrapment efficiency of silver nanocomposite hydrogel. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. **577(1)**: 012176.
- Siek, T.J., Albin, I.A., Sather, L.A. & Lindsay, R.C. (1971). Comparison of flavor thresholds of aliphatic lactones with those of fatty acids, esters, aldehydes, alcohols, and ketones. *Journal of Dairy Science*. **54(1)**: 1-4.
- Silva-Molina, R.A., Duarte-Moller, A., Orrantia-Borunda, E., Parra-Berumen, R.L. & Álvarez-Ramos, M.E. (2011). The role of pH on the second harmonic response of glycine sodium nitrate (GSN). *International Journal of the Physical Sciences*. **6(4)**: 885-890.
- Supriyadi & Rujita, A.S. (2013). Karakteristik mikrokapsul minyak atsiri lengkuas dengan maltodekstrin sebagai enkapsulan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. **24(2)**: 201–208.
- Suzery, M., Cahyono, B. & Amalina, N.D. (2020). Antiproliferative and apoptosis effect of hyptolide from *Hyptis pectinata* (L.) Poit on human breast cancer cells. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. **10(2)**: 001-006.
- Tiyaboonchai, W. (2003). Chitosan nanoparticles: a promising system for drug delivery. *Naresuan University Journal: Science and Technology (NUJST)*. **11(3)**: 51-66.
- Ulbrich, K., Hola, K., Subr, V., Bakandritsos, A., Tucek, J. & Zboril, R. (2016). Targeted drug delivery with polymers and magnetic nanoparticles: covalent and noncovalent approaches, release control, and clinical studies. *Chemical Reviews*. **116(9)**: 5338-5431.
- Wirasti, W., Slamet, S., Permadi, Y.W. & Agmarina, S.N. (2021). Pengujian Karakter Nanopartikel Metode Gelasi Ionik Ekstrak Dan Tablet Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains dan Kesehatan*. **8(2)**: 147-151.