

Efek Berat Molekul dan Rasio Massa Terhadap Ukuran Nanokapsul Berbasis Kitosan-Alginat yang Mengandung Minyak Cengkeh

Al-insyirah Intan^{1*}

¹Program Sarjana Departemen Kimia, Universitas Negeri Makassar, Makassar, Indonesia

ARTICLE INFORMATION

Received: 24, Januari, 2025
Accepted: 16, Februari, 2025
Online Published: 27, Februari, 2025

KEYWORD

Keywords: Nanokapsul, Kitosan, Alginat, Minyak Cengkeh

CORRESPONDING AUTHOR

E-mail: al-insyirah@gmail.com

A B S T R A C T

Nanokapsul berbasis kitosan-alginat yang mengandung minyak cengkeh disintesis melalui emulsifikasi minyak cengkeh dalam larutan natrium alginat berair, diikuti dengan gelifikasi menggunakan kalsium klorida dan kitosan serta eliminasi pelarut. Optimalisasi proses dilakukan dengan menyesuaikan berat molekul kitosan, rasio massa kitosan terhadap alginat, serta urutan penambahan kalsium klorida dan kitosan dalam formulasi. Karakterisasi nanokapsul mencakup analisis ukuran partikel, potensi zeta, struktur morfologi, efisiensi enkapsulasi, kapasitas muatan minyak cengkeh, hasil produksi, serta stabilitas pada suhu 9 °C dan 40 °C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa berat molekul serta konsentrasi kitosan mempengaruhi sifat nanokapsul yang terbentuk. Kitosan dengan berat molekul rendah diperlukan untuk memperoleh nanokapsul berukuran lebih kecil. Pada rasio tetap kitosan terhadap alginat sebesar 0,5:3, strategi penambahan kitosan setelah kalsium klorida terbukti lebih efektif dalam meningkatkan stabilitas fisik, efisiensi enkapsulasi minyak cengkeh, serta hasil sintesis nanokapsul, tanpa mengurangi kapasitas muatan minyak kunyit.

PENDAHULUAN

Cengkeh mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk eugenol, flavonoid, mineral, vitamin, serta minyak esensial yang dikenal sebagai minyak cengkeh. Komponen utama minyak ini, eugenol (2-methoxy-4-(2-propenyl-phenol), banyak dimanfaatkan dalam bidang farmasi karena sifat antibakterinya, antijamur, antiplatelet, efek pengusir serangga, serta aktivitas antioksidan, antimutagenik, dan antikarsinogenik. Namun, minyak cengkeh memiliki kelemahan seperti volatilitas tinggi, ketidakstabilan, dan kelarutan yang rendah dalam air, yang membatasi penggunaannya dalam berbagai formulasi farmasi (Murillo-Baca et al., 2020; Vásquez et al., 2019). Untuk mengatasi tantangan ini, penelitian sebelumnya telah mengembangkan nanokapsul berbasis alginat yang mengandung minyak cengkeh melalui prosedur tiga tahap, yang melibatkan emulsifikasi o/w, gelifikasi dengan kalsium klorida, serta penghilangan pelarut. Hasil menunjukkan bahwa nanokapsul ini memiliki stabilitas fisik yang baik dalam penyimpanan jangka panjang pada suhu 4 °C, tetapi kurang stabil pada suhu kamar (25 °C). Selain itu, kehilangan minyak dalam tahapan utama sintesis menyebabkan kapasitas pemuatan minyak yang rendah. Oleh karena itu, diperlukan optimasi lebih lanjut untuk meningkatkan stabilitas fisik nanokapsul pada suhu yang lebih tinggi (25 °C) serta mengurangi kehilangan minyak selama proses enkapsulasi (Nguyen & Nguyen, 2017).

Polimer alami semakin diminati sebagai sistem penghantaran obat karena sifatnya yang biokompatibel, dapat terdegradasi secara hayati, serta tidak beracun, sehingga aman untuk aplikasi medis pada manusia. Salah satu polimer yang banyak digunakan dalam bidang farmasi dan biomedis adalah alginat (Barbosa et al., 2019; Nur Alam et al., 2024). Alginat merupakan polimer anionik yang secara alami diperoleh dari alga coklat laut dan tersusun atas unit berulang asam α -L-guluronat (G) dan asam β -D-mannuronat (M), yang terhubung melalui ikatan 1,4-glikosidik. Natrium alginat yang memiliki kelarutan dalam air dapat mengalami proses pengikatan silang dengan kalsium klorida, menghasilkan partikel kalsium alginat yang tidak larut dengan ukuran nanoskopis, tergantung pada konsentrasi kedua reagen tersebut. Namun, kapsul berbasis alginat sering kali menunjukkan stabilitas yang rendah dan mengalami kehilangan zat yang dienkapsulasi. Kendala ini dapat diatasi dengan menambahkan polimer bermuatan positif,

seperti kitosan, yang meningkatkan integritas struktur kapsul dan memperbaiki efisiensi enkapsulasi (Chiao et al., 2020; Liu et al., 2016).

Kitosan adalah polisakarida linier bermuatan positif yang terdiri dari unit-unit D-glukosamin dan N-asetil-D-glukosamin yang terhubung melalui ikatan β -(1,4)-glikosidik (Faisal et al., 2024; Syahrir & Eka Pratiwi, 2021). Dalam bidang farmasi, kitosan semakin menarik perhatian karena sifat polimeriknya yang unik, termasuk muatan kationik, sifat tidak toksik, biokompatibilitas tinggi, dan kemampuan terdegradasi secara hayati [28]. Muatan positifnya memungkinkan kitosan berinteraksi dengan polimer bermuatan negatif, seperti alginat, sehingga membentuk kompleks melalui mekanisme gelasi ionik yang berlangsung secara spontan. Kompleks alginat-kitosan ini memiliki karakteristik biokompatibel dan tidak beracun, sehingga banyak diteliti untuk aplikasi dalam pembentukan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat. Namun, hingga saat ini, sistem ini belum banyak dikembangkan untuk enkapsulasi senyawa minyak volatile (Meza-Sepulveda et al., 2024).

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan stabilitas fisik nanokapsul kitosan-alginat yang mengandung minyak cengkeh serta meminimalkan kehilangan minyak selama proses pembuatannya. Studi ini mengevaluasi pengaruh berat molekul kitosan, rasio massa antara kitosan dan alginat, serta urutan penambahan kitosan dan kalsium klorida terhadap karakteristik nanokapsul yang diperoleh. Nanokapsul yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi berdasarkan ukuran rata-rata partikel, potensi zeta, efisiensi pemulihan, kapasitas pemuatan minyak cengkeh, serta tingkat hasil yang diperoleh. Selain itu, stabilitas fisik suspensi nanokapsul yang mengandung minyak cengkeh juga dianalisis untuk menentukan ketahanannya selama penyimpanan.

METODE

Bahan

Natrium alginat dengan viskositas sedang (2808 ± 43 cps pada 2% (b/v), 25 °C) dan kandungan asam guluronat rendah (FG= 0,39). Kitosan dengan berat molekul rendah (LMkitosan, berat molekul rata-rata (M_n)= 41.000 Da) disiapkan melalui deasetilasi basa kitin. Derajat deasetilasi kedua jenis kitosan dikendalikan pada $86 \pm 2\%$. Minyak cengkeh yang tersedia secara komersial mengandung 21,5% (b/v). Semua bahan kimia lainnya, termasuk Tween 80®, asam asetat, etanol, dan kalsium klorida, bermutu analitis, dan asetonitril bermutu HPLC.

Prosedur Kerja

Preparasi Nanokapsul Kitosan-Alginat/Minyak cengkeh

Nanokapsul kitosan-alginat disintesis menggunakan metode yang dimodifikasi dari prosedur yang dikembangkan oleh [32], serta [33]. Secara ringkas, emulsi minyak-dalam-air (o/w) dibuat dengan meneteskan perlahan 0,6 ml larutan minyak cengkeh dalam etanol (20 mg/ml) ke dalam 20 ml larutan alginat berair (0,6 mg/ml) yang mengandung 1% (b/v) Tween 80®. Campuran ini kemudian disonikasi selama 15 menit untuk membentuk emulsi yang stabil. Setelah itu, emulsi dicampurkan dengan 4 ml larutan CaCl_2 (0,67 mg/ml) dan diaduk selama 30 menit. Selanjutnya, suspensi nanokapsul ditambahkan dengan 4 ml larutan kitosan dalam berbagai konsentrasi (0–0,6 mg/ml dalam asam asetat 1% (v/v)) dan diaduk kembali selama 30 menit. Dispersi nanokapsul kitosan-alginat yang mengandung minyak cengkeh kemudian dibiarkan seimbang semalaman sebelum proses penghilangan etanol menggunakan evaporasi putar pada suhu 40 °C selama 20 menit. Akhirnya, nanokapsul kitosan-alginat yang mengandung minyak cengkeh diperoleh dalam bentuk dispersi dalam larutan berair (Agarwal et al., 2017; Zhao et al., 2007).

Karakterisasi Nanokapsul Kitosan-Alginat/Minyak cengkeh

Nanokapsul kitosan-Alginat/minyak cengkeh dikarakterisasi dengan beberapa parameter yaitu Analisa gugus fungsi dengan FTIR, Analisa morfologi dengan SEM, dan Analisa termal dengan TGA. Ukuran partikel nanokapsul diukur dengan menggunakan PSA untuk mengetahui distribusi ukuran partikel di dalam nanokapsul (Yaldiz & Camlica, 2022).

HASIL & PEMBAHASAN

Pengaruh berat molekul kitosan

Nanokapsul kitosan-alginat yang mengandung minyak cengkeh disiapkan dalam medium berair melalui proses emulsifikasi minyak-dalam-air (o/w), gelifikasi ionik, dan penghilangan pelarut. Emulsifikasi dilakukan dengan mendispersikan minyak cengkeh encer ke dalam larutan alginat berair yang mengandung Tween 80®, dengan rasio minyak terhadap dinding alginat sebesar 1:1, sehingga misel polimerik alginat dengan inti minyak cengkeh segera terbentuk. Lapisan alginat kemudian dipadatkan melalui proses ikatan silang dengan kalsium klorida dan kitosan, yang berlangsung secara spontan akibat interaksi elektrostatis antara gugus karboksilat bermuatan negatif pada alginat dengan ion kalsium bermuatan positif dan/atau gugus amino terprotonasi pada kitosan. Akhirnya, pelarut etanol yang digunakan untuk mengencerkan minyak cengkeh dihilangkan dari sistem melalui proses penguapan di bawah tekanan rendah (Abdelhamid & Khalil, 2019; Ahmad et al., 2016).

Pengaruh berat molekul kitosan terhadap karakteristik nanokapsul dianalisis dengan menggunakan kitosan berat molekul rendah (LM) dan sedang (MM). Dalam proses formulasi, kalsium klorida ditambahkan sebelum kitosan, dengan rasio massa alginat terhadap kalsium klorida sebesar 1:0,33. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ukuran rata-rata nanokapsul yang terbentuk dengan kitosan LM dan MM masing-masing adalah 302 ± 13 nm dan 422 ± 12 nm (**Tabel 1**), mengindikasikan bahwa berat molekul kitosan berpengaruh terhadap ukuran nanokapsul. Sesuai dengan temuan Lu et al. [34], larutan polimer dengan berat molekul lebih tinggi memiliki viskositas yang lebih besar, yang berkontribusi pada pembentukan nanokapsul berukuran lebih besar. Pengukuran potensi zeta (**Tabel 1**) menunjukkan bahwa perbedaan berat molekul kitosan tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap parameter ini ($p > 0,05$). Oleh karena itu, kitosan LM dipilih sebagai biopolimer kationik yang lebih sesuai untuk menghasilkan nanokapsul kitosan-alginat berukuran lebih kecil dan digunakan dalam eksperimen selanjutnya. Selain itu, ukuran nanokapsul kitosan-alginat secara signifikan lebih besar dibandingkan nanokapsul alginat tanpa kitosan (104 ± 7 nm), meskipun potensi zeta dari kedua jenis nanokapsul tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (Tabel 1). Abedini et al., (2011) mengemukakan bahwa peningkatan ukuran partikel menunjukkan adanya perlekatan polimer pada permukaan inti minyak. Oleh karena itu, peningkatan ukuran nanokapsul akibat penambahan kitosan kemungkinan disebabkan oleh keberadaan kitosan pada permukaan polimer alginat, yang terutama terjadi melalui interaksi elektrostatis. Hal ini berpotensi meningkatkan stabilitas inti minyak dalam sistem nanokapsul.

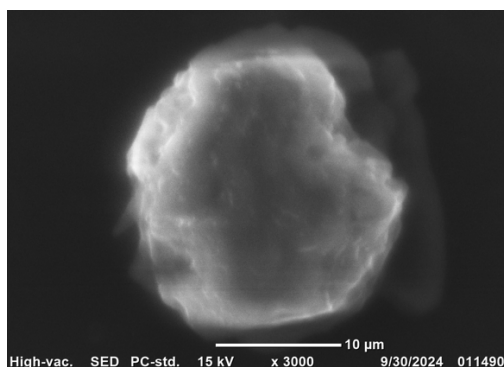
Tabel 1. Ukuran partikel rata-rata nanokapsul hasil sintesis

No.	Ukuran partikel (nm)	Zeta potential (mV)
1.	302 ± 13	-30 ± 15
2.	422 ± 12	-31 ± 13
3.	104 ± 7	-33 ± 21

Pengaruh Rasio Massa Kitosan-Alginat

Seperti yang telah diperkirakan, ukuran rata-rata nanokapsul sangat dipengaruhi oleh jumlah kitosan yang ditambahkan ke dalam formulasi, di mana peningkatan konsentrasi kitosan menghasilkan nanokapsul dengan ukuran lebih besar. Ketika rasio massa kitosan terhadap alginat adalah 0,067:1 dan 0,1:1, ukuran nanokapsul yang terbentuk masing-masing meningkat 1,4 dan 3,2 kali dibandingkan dengan nanokapsul yang terbentuk tanpa kitosan (rasio 0:1). Namun, pada rasio 0,2:1, terjadi presipitasi partikel. Temuan ini sejalan dengan penelitian (Livazovic et al., 2015) yang melaporkan bahwa peningkatan jumlah polimer relatif dalam sistem mengakibatkan pembentukan kapsul berukuran lebih besar. Selain itu, nanokapsul yang dihasilkan menunjukkan nilai potensi zeta negatif dalam rentang -30 hingga -33 mV. Amorini et al., (2022) menjelaskan bahwa peningkatan rasio massa kitosan terhadap alginat meningkatkan kandungan kitosan dalam nanopartikel serta memperkuat interaksi antar polimer, yang dihasilkan dari pembentukan kompleks polielektrolit dengan stabilitas lebih tinggi. Berdasarkan hasil tersebut, rasio massa kitosan terhadap alginat sebesar 0,1:1 dipilih sebagai kondisi optimal untuk memperoleh nanokapsul yang stabil. Karakterisasi morfologi kapsul pada rasio ini dilakukan

menggunakan mikroskop elektron (Gambar. 1), yang mengungkapkan bahwa kapsul memiliki bentuk bulat dengan dinding yang mengelilinginya setebal sekitar 10 nm.



Gambar 1. Mikrograf SEM Nanokapsul Kitosan-Alginat

Urutan penambahan senyawa selama proses formulasi nanokapsul alginat diketahui memiliki pengaruh signifikan terhadap ukuran rata-rata nanokapsul. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, efek tersebut dianalisis dengan menggunakan rasio tetap kitosan terhadap alginat sebesar 0,1:1. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ketika kitosan MM atau LM ditambahkan setelah kalsium klorida, ukuran nanokapsul yang terbentuk masing-masing adalah 667 ± 17 nm dan 522 ± 15 nm. Sebaliknya, jika kitosan MM atau LM ditambahkan sebelum kalsium klorida, ukuran nanokapsul meningkat menjadi 777 ± 85 nm dan 759 ± 8 nm. Temuan ini mengindikasikan bahwa, terlepas dari urutan penambahan, nanokapsul yang mengandung kitosan LM selalu lebih kecil dibandingkan dengan yang mengandung kitosan MM. Ukuran nanokapsul terkecil diperoleh saat kitosan LM ditambahkan setelah kalsium klorida. Studi sebelumnya oleh Rajaonarivony et al. juga menunjukkan bahwa sifat senyawa pertama yang ditambahkan dalam formulasi nanokapsul mempengaruhi proses pembentukan nanopartikel alginat. Fenomena ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan struktur kompleks yang terbentuk antara kalsium klorida dan alginat dibandingkan dengan kompleks yang terbentuk antara kitosan dan alginat. Dalam struktur kompleks kalsium-alginat, ion kalsium berinteraksi dengan urutan oligopoliguluronat dari polimer alginat, yang menyebabkan pengemasan paralel dari segmen ini sehingga membentuk struktur kotak telur yang lebih kompak.

KESIMPULAN

Nanokapsul biopolimer berbasis kitosan-alginat dapat dimanfaatkan untuk mengenkapsulasi minyak cengkeh melalui tiga tahap utama, yakni emulsifikasi o/w, gelifikasi, dan penghilangan pelarut. Karakteristik nanokapsul yang mengandung minyak kunyit dipengaruhi secara signifikan oleh berat molekul kitosan, rasio massa antara kitosan dan alginat, serta urutan penambahan kitosan selama proses formulasi. Penggunaan kitosan dengan berat molekul rendah diperlukan untuk menghasilkan nanokapsul berukuran kecil. Selain itu, efisiensi pemulihan minyak cengkeh, perolehan nanokapsul, serta stabilitas fisik suspensi nanokapsul mencapai kondisi optimal ketika rasio massa kitosan terhadap alginat adalah 0,1:1, dengan penambahan kitosan dilakukan setelah kalsium klorida dalam formulasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Ketua Program Studi DIII TLM dan mahasiswa yang telah membantu atas dalam penulisan artikel review ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.06.006>
- Amini, S. M. (2019). Gold nanoparticles for drug delivery systems. *Materials Science and Engineering: C*, 93, 392-400. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.08.061>
- Anandalakshmi, K., Venugobal, J., & Ramasamy, V. (2016). Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using *Petalium murex* leaf extract and their antibacterial activity. *Applied Nanoscience*, 6(3), 399-408. <https://doi.org/10.1007/s13204-015-0449-z>
- Basavegowda, N., & Idhayadhulla, A. (2020). Plant-mediated green synthesis of metal nanoparticles and their biological applications. *New Journal of Chemistry*, 44(16), 6801-6810. <https://doi.org/10.1039/C9NJ06341C>
- Chen, X., & Schluesener, H. J. (2008). Nanosilver: A nanoparticle in medical application. *Toxicology Letters*, 176(1), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.10.004>
- Dhand, C., Dwivedi, N., Loh, X. J., Ying, A. N. J., Verma, N. K., Beuerman, R. W., & Lakshminarayanan, R. (2015). Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: A comprehensive overview. *RSC Advances*, 5(127), 105003-105037. <https://doi.org/10.1039/C5RA19388E>
- El-Rafie, H. M., & Hamed, M. A. (2014). Antimicrobial activity of green synthesized silver nanoparticles using polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 113, 86-93. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.06.077>
- Ghorbani, H. R. (2019). Biosynthesis of nanoparticles: Green synthesis of silver nanoparticles using extracts of wild plants. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 187(1), 56-79. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2830-z>
- Gopinath, V., Priyadarshini, S., Loke, M. F., Arunkumar, R., Marsili, E., MubarakAli, D., & Alharbi, N. S. (2020). Biogenic synthesis, characterization of antibacterial silver nanoparticles and evaluation of its toxicity in zebra fish embryos. *Microbial Pathogenesis*, 139, 103916. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103916>
- Gurunathan, S., Han, J. W., Kwon, D. N., & Kim, J. H. (2014). Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Nanoscale Research Letters*, 9, 373. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-373>
- Hussein, M. Z., Zainal, Z., Yahaya, A. H., & Foo, D. W. (2005). Controlled release of a plant growth regulator, α -naphthaleneacetate, from the lamellar nanocomposite zinc-aluminium-layered double hydroxide. *Journal of Controlled Release*, 107(2), 299-308. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.06.016>
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638-2650. <https://doi.org/10.1039/C1GC15386B>

- Jain, D., Daima, H. K., Kachhwaha, S., & Kothari, S. L. (2009). Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 4(3), 557-563.
- Jo, Y. K., Kim, B. H., & Jung, G. (2009). Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. *Plant Disease*, 93(10), 1037-1043. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-10-1037>
- Kharissova, O. V., Dias, H. V. R., Kharisov, B. I., Pérez, B. O., & Pérez, V. M. (2013). The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 31(4), 240-248. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.01.003>
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J. H., Park, S. J., Lee, H. J., ... & Cho, M. H. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3(1), 95-101. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2006.12.001>
- Logeswari, P., Silambarasan, S., & Abraham, J. (2013). Synthesis of silver nanoparticles using plants extract and analysis of their antimicrobial property. *Journal of Saudi Chemical Society*, 17(2), 203-208. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2012.04.007>
- Mahapatra, O., Bhagat, M., & Gopalakrishnan, C. (2008). Green synthesis of silver nanoparticles using *Ocimum sanctum* (Tulsi) leaf extract and screening its antimicrobial activity. *Materials Letters*, 62(29), 4247-4250. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2008.06.051>
- Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1), 76-83. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002>
- Singh, M., Kalaivani, R., Manikandan, S., & Kumaraguru, A. K. (2013). Facile green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Turbinaria ornata* and its antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 106, 182-189. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.12.084>
- Sun, Q., Cai, X., Li, J., Zheng, M., Chen, Z., Yu, X., & Zhang, Y. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 444, 226-231. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.12.036>