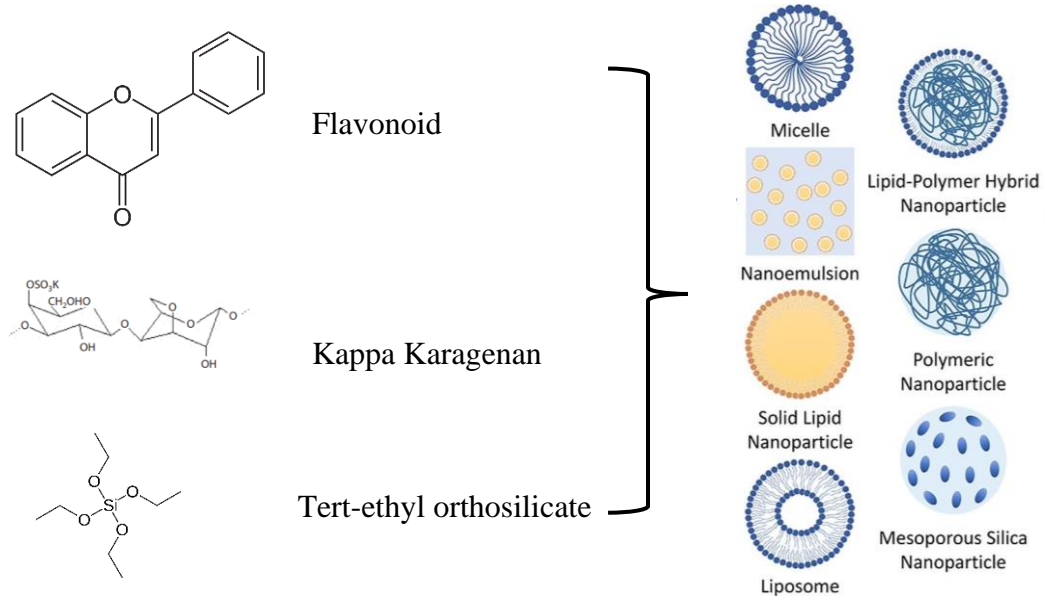


BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Mekanisme dan Reaksi Enkapsulasi



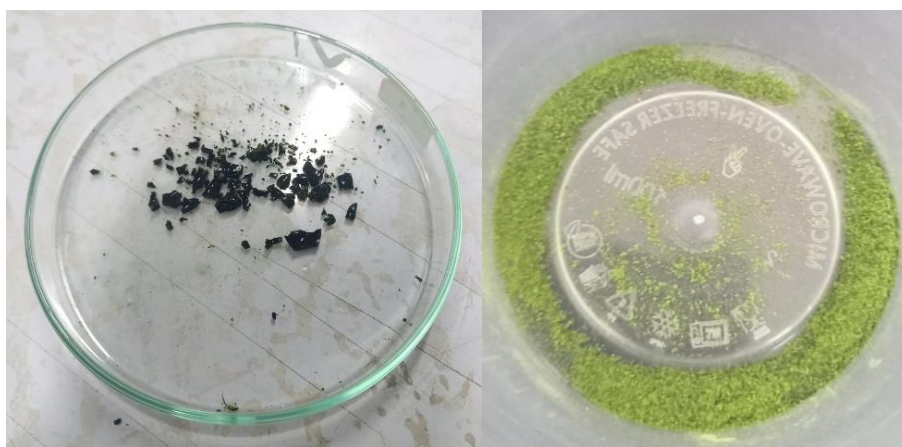
Gambar 4.1 Reaksi Enkapsulasi

Enkapsulasi merupakan suatu proses pelapisan senyawa aktif menggunakan bahan pelapis yang bertujuan untuk menjaga struktur ataupun kandungan senyawa aktif tersebut agar tidak mudah terdegradasi (Asri et al., 2021). Enkapsulasi memiliki berbagai metode, salah satunya metode sol-gel yaitu enkapsulasi menggunakan bahan pelapis keramik (silika) yang dapat menghasilkan suatu material padat atau molekul berukuran kecil. Senyawa aktif yang akan dilapisi tersebut adalah flavonoid, dimana karakteristiknya adalah termasuk kedalam senyawa gugus fenolik dan sangat rentan terhadap temperatur tinggi ($< 70^{\circ}\text{C}$) (Daffa et al., 2023). Agar senyawa aktif tersebut dapat terlindungi dari salah satu penyebab terdegradasinya berupa suhu tinggi, maka perlu dilakukan proses enkapsulasi dengan mereaksikan antara reaktan utama yaitu zat flavonoid ekstrak daun pepaya jepang dengan precursor pembentuk enkapsulatnya yaitu karagenan (*K. alvarezii*) dan TEOS. Setelah itu, terjadi proses sol-gel hingga terbentuknya gel

padat dan dikeringkan sampai menjadi butiran-butiran halus (Febriani et al., 2022). Terlihat pada gambar 4.1 menunjukkan mekanisme reaksi enkapsulasi zat flavonoid yang dimana prekursor disini berperan sebagai penstabil, pengemulsi, dan pengental untuk membentuk sebuah enkapsulat yang dapat melindungi senyawa aktif flavonoid dan juga melindungi flavonoid dari suhu yang cukup tinggi, serta bersifat hidrofilik (Supriyanti, dkk., 2017). Setelah bereaksi menggunakan metode enkapsulasi sol-gel dan saling mengikat antar molekulnya, maka terbentuklah produk enkapsulasi.

4.2 Pengujian Kadar Air

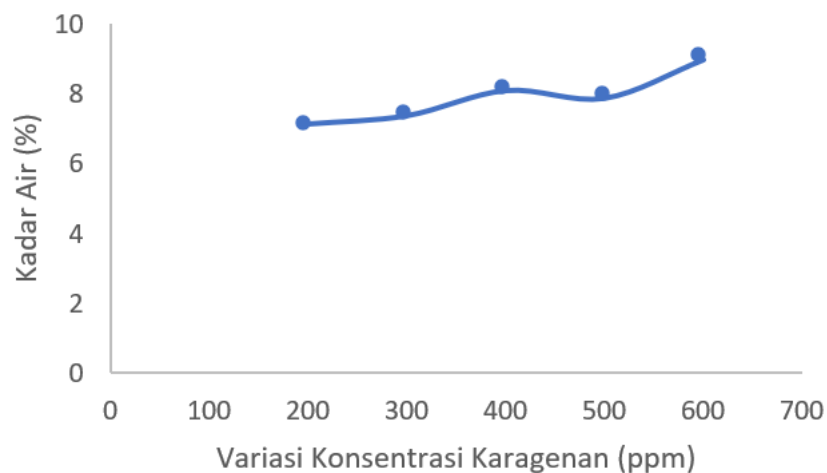
Pada penelitian ini diperoleh sampel enkapsulasi ekstrak daun pepaya jepang dengan penyalut karagenan *kappaphycus alvarezii*. Berikut merupakan hasil enkapsulasi setelah dikeringkan dengan oven dan setelah dilakukan penghalusan dapat dilihat pada gambar 4.2.



(a)

(b)

Gambar 4.2 Enkapsulasi Setelah (a) Pengeringan (b) Penghalusan



Gambar 4.3 Grafik Uji Kadar Air

Pengukuran kadar air menjadi salah satu faktor penting dalam menilai kualitas suatu produk hasil pengeringan, sebab kadar air dalam bahan dapat berdampak pada daya tahan produk tersebut. Kadar air yang rendah dapat menghindari pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri atau jamur yang bisa merusak produk. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI), kadar air pada enkapsulasi yang baik adalah kurang dari 12%. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa seluruh variasi konsentrasi karagenan masuk dalam rentang kadar air terbaik, dengan kadar air terendah dan terbesar yaitu pada variasi konsentrasi karagenan 200 ppm dan 600 ppm dengan kadar air sebesar 7,14% dan 8,9%. Berdasarkan data yang dapat dilihat pada gambar 4.3. menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi pada karagenan akan berbanding lurus dengan kadar air pada sampel. Hal ini dikarenakan dengan meningkatnya konsentrasi karagenan dalam suatu sampel dapat mengakibatkan peningkatan penyerapan air karena sifat hidrofilik pada karagenan (Necas dan Bortasikova, 2013). Menurut Jouanneau, et. al., (2010), karagenan merupakan suatu jenis polisakarida yang memiliki kemampuan untuk menyerap air. Karagenan mempunyai kekuatan ikat terhadap molekul air yang dapat membentuk gel saat terhidrasi.

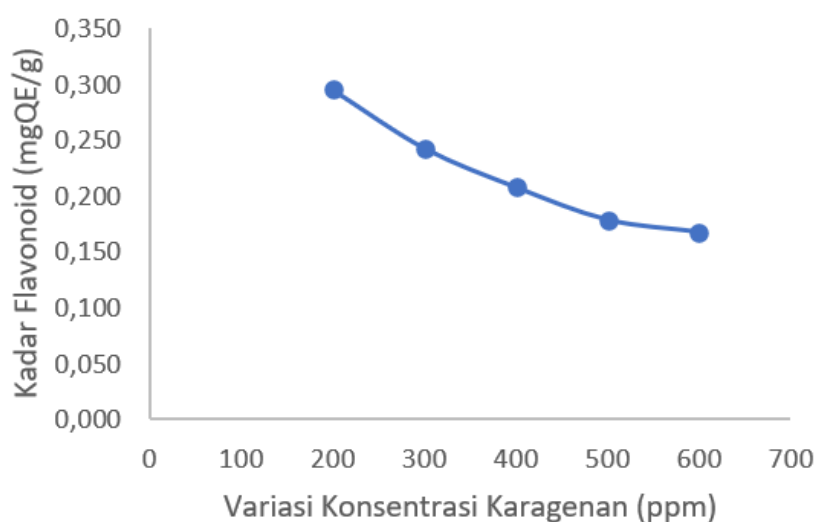
Pada saat karagenan dicampur dengan air, rantai-rantai polisakarida tersebut menjadi ikatan dengan molekul-molekul air. Hal ini berarti molekul karagenan

dapat mengikar molekul air. Semakin tinggi konsentrasi karagenan, maka semakin banyak molekul karagenan yang terdapat dalam sistem, oleh karena itu akan semakin banyak kadar air yang berikatan dengan karagenan (Hezaveh, H., & Muhamad, I. I., 2013).

4.3 Pengujian Total Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok terbesar dari senyawa fenol alami. Senyawa ini ditemukan dalam buah-buahan, sayuran, dan beberapa minuman. Flavonoid memiliki banyak keunggulan yang telah diketahui, termasuk berperan sebagai antioksidan, melindungi struktur sel, mengurangi peradangan, mencegah kehilangan tulang, serta berfungsi sebagai antibiotic (Suprasetya, 2021).

Sebelum dilakukan enkapsulasi, dilakukan uji total flavonoid yang terkandung pada ekstrak daun papaya jepang, dari pengujian diperoleh titik puncak gelombang di 415 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,172. Kemudian dilakukan perhitungan flavonoid total diperoleh sebesar 0,417 mgQE/g. Kadar flavonoid yang diperoleh dalam satuan mgQE/gram ekstrak, artinya tiap gram ekstrak mengandung milligram flavonoid yang ekuivalen dengan kuesetin (Suprasetya, 2021).



Gambar 4.4 Pengujian Kadar Total Flavonoid

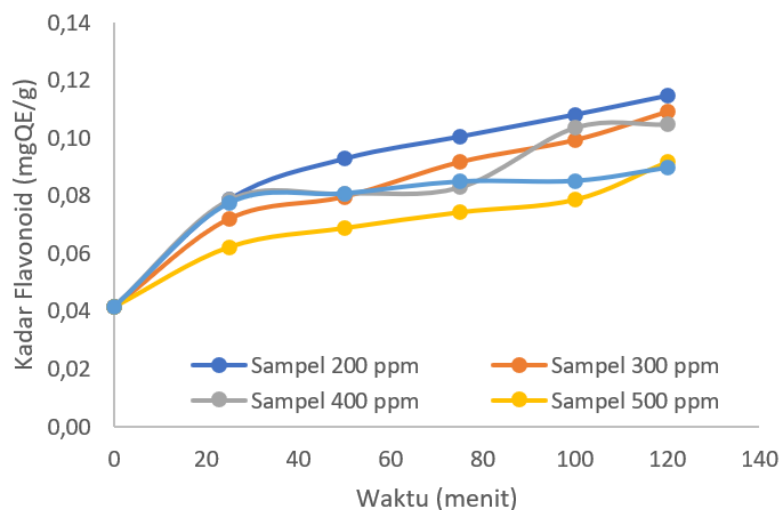
Pengujian kadar total flavonoid adalah metode pengukuran total flavonoid yang terdapat dalam suatu sampel. Dalam metode ini menggunakan AlCl_3 untuk mengetahui gugus hidroksi dan keto yang berdekatan serta gugus orto-hidroksi. AlCl_3 dapat menimbulkan terjadinya pergerakan spektrum ultraviolet pada flavonoid. Prinsip penentuan flavonoid total dengan AlCl_3 adalah terjadinya penyusunan kompleks antara AlCl_3 dengan gugus keto yang terdapat pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang berdekatan dari golongan flavon dan flavonol (Parthasarathi and Park, 2015).

Proses penentuan total flavonoid menggunakan standar yaitu quersetin, hal ini dikarenakan quersetin adalah flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang berdekatan serta gugus keto pada atom C-4. Syarat yang digunakan untuk standar flavonoid adalah harus memuat gugus hidroksi pada karbon posisi ketiga, ikatan ganda antara karbon posisi dua dan tiga, serta gugus karbonil pada karbon posisi keempat dan gugus polihidroksi pada kedua cincin aromatik (Sugrani, 2009).

Pada penelitian ini diperoleh kadar total flavonoid tertinggi sebesar 0,295 mgQE/g pada konsentrasi karagenan 200 ppm, nilai tersebut sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh standar kadar total flavonoid menurut (Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 6 Tahun 2016 Tentang Formularium Obat Herbal Asli Indonesia) adalah 5 g/kg BB. Tidak toksis pada pemberian subkronik dengan dosis 5 g/kg. Pada gambar 4.4 berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh hasil semakin turunnya kadar flavonoid total akibat meningkatnya konsentrasi karagenan sebagai penyalut.

Semakin besarnya konsentrasi karagenan sebagai penyalut menyebabkan semakin rendahnya kadar flavonoid, hal ini dikarenakan kadar karagenan akan mengakibatkan bertambahnya jumlah agregat yang terbentuk karena struktur *double helix* yaitu berupa jaring-jaring yang semakin kuat pada karagenan, hal ini membuat struktur enkapsulasi menjadi lebih padat, oleh karena itu flavonoid akan terjatoh oleh karagenan yang semakin tinggi konsentrasinya (Kaya et al, 2014).

4.4 Pengujian *Release*



Gambar 4.5 Kurva Uji *Release*

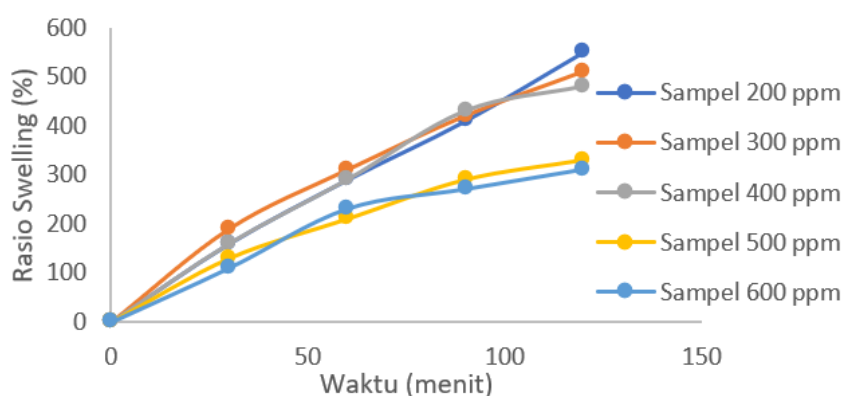
Uji *release* atau uji pelepasan merupakan sebuah proses dimana untuk mengetahui suatu sampel akan melepaskan senyawa yang terkandung didalamnya seberapa besar dengan menggunakan suatu media khusus (Febriani et al., 2022). Pada penelitian ini, salah satu tujuannya adalah untuk mengetahui karakteristik penyalut/enkapsulat terhadap proses pelepasan senyawa aktif, maka pengujian *release* ini dilakukan.

Berdasarkan kurva pada gambar 4.5 dapat dilihat untuk setiap sampelnya mengalami pelepasan senyawa flavonoid yang cukup cepat dan lambat, namun untuk hasil pelepasan senyawa aktifnya yang lebih baik adalah pada sampel 600 ppm dengan kadar flavonoidnya sebesar sebesar 0,090 mgQE/g. Standar uji *release* berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan No.11 Tahun 2022 tentang Tata Laksana Uji Bioekivalensi, menyatakan bahwa pelepasan senyawa aktif didalam enkapsulasi yang dilakukan secara cepat (*fast release*) memiliki ketentuan yaitu $\geq 85\%$ jumlah zat/senyawa aktif lepas dalam kurun waktu ≤ 15 menit, dan sebaliknya apabila pelepasan secara lambat sebanyak $\leq 50\%$ jumlah senyawa aktif dalam kurun waktu ≤ 120 menit. Namun, dari setiap sampel yang diuji lebih sesuai pengujian dengan *slow release*, alasannya adalah untuk

meningkatkan keamanan senyawa aktif yang membuat kadar senyawa aktif didalam tubuh berada pada rentang aman dan tidak mendekati kadar toksik berbahaya (Kemenkes, 2022). Kadar persentasi *release* diketahui dari jumlah pada waktu tertentu kemudian dibagi dengan kadar total flavonoid sebelum dienkapsulasi.

Selain itu, alasan lainnya dikarenakan matriks yang digunakan pada penelitian ini adalah larutan karagenan dengan larutan TEOS, dimana kedua larutan tersebut apabila bercampur akan membentuk sebuah jaringan antara silika dari TEOS yang berikatan dengan karagenan. Reaksi kimia ini disebut sebagai biomineralisasi silika, yaitu terjadinya interaksi antara bahan organik karagenan dengan senyawa anorganik berupa TEOS yang bertujuan untuk membentuk struktur komposit (Skinner dan Ehrlich, 2014). Pada variasi sampel 200 ppm diperoleh kandungan flavonoid sebesar 0,295 mgQE/gram, kemudian setelah dienkapsulasi diperoleh nilai pelepasan flavonoid sebesar 0,11 mgQE/gram selama waktu 2 jam jika diubah dalam bentuk persentase diperoleh sebesar 38,89%. Hal tersebut sesuai dengan ketentuan standar pada bagian (*slow release*), dan juga variasi sampel 200 ppm lebih mendekati ketentuan berupa $\leq 50\%$ jumlah senyawa aktif selama kurun waktu 2 jam dibandingkan dengan variasi sampel lainnya.

4.5 Pengujian Swelling



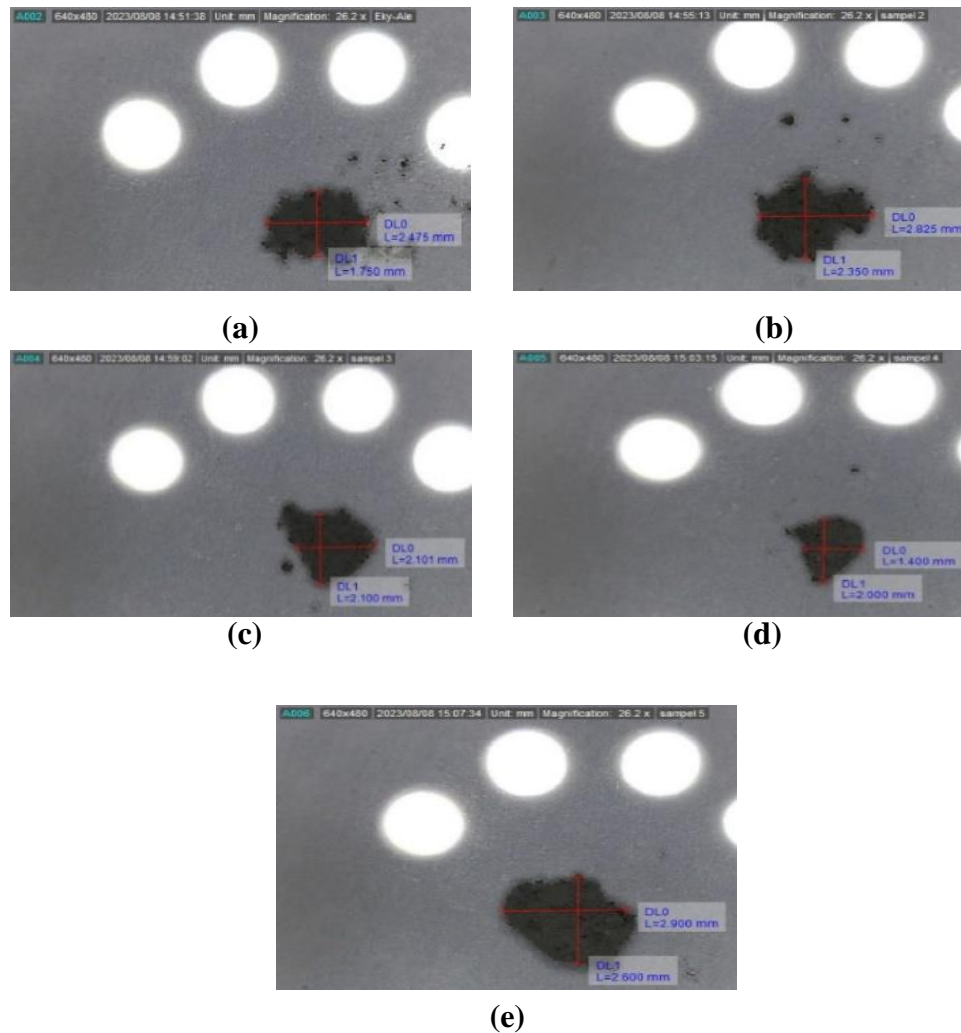
Gambar 4.6 Kurva Uji *Swelling*

Pengujian selanjutnya adalah uji *swelling* atau uji pengembangan. Uji *swelling* ini bertujuan untuk memperkirakan kadar senyawa organik yang bisa

terdifusi kedalam enkapsulasi, dimana pengujian ini juga untuk membuktikan bahwa masih terdapat rongga-rongga pada enkapsulasi tersebut yang akan mempengaruhi sifat mekanik dari jaringan polimer yang terbentuk (Prameswari, dkk, 2014). Pengujian ini menggunakan media air dan dilakukan selama 2 jam untuk semua sampel. Selain untuk memperkirakan terdifusinya senyawa organik kedalam enkapsulasi, uji *swelling* juga untuk mengetahui kemampuan enkapsulasi tersebut dalam menyerap cairan dan juga bentuk respons dari penyerapannya berupa perubahan ukuran maupun volume enkapsulasinya.

Berdasarkan kurva uji *swelling* pada gambar 4.6, menunjukkan penyerapan air melalui enkapsulasi dari sampel 200 hingga 600 ppm. Semua sampel tersebut mengalami penyerapan air yang cukup besar, namun untuk paling terbesar rasio penyerapannya dan yang baik penyerapannya adalah pada sampel 200 ppm, yaitu sebesar 550%. Standar uji *swelling* berdasarkan Pusat Penemuan dan Pengembangan Obat, Universitas Thammasat, Thailand, menyatakan rasio *swelling* yang relatif lebih tinggi didalam air deionisasi atau aquades sebesar $\pm 500\%$ (Treesuppharat, dkk. 2017). Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang diperoleh. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan perbedaan konsentrasi karagenan yang dapat mempengaruhi karakteristik dari enkapsulasi itu sendiri. Pada sampel 200 ppm yang merupakan konsentrasi paling rendah memiliki kemampuan mengembang/*swelling* yang cukup besar dikarenakan pori-pori pada enkapsulasi yang terbentuk membesar. Begitu konsentrasinya naik hingga 600 ppm, akan membuat jarak antara molekul pada karagenan menjadi lebih rapat lagi, yang membuat pori-pori enkapsulasi terbentuk akan semakin kecil sehingga air akan kesulitan berdifusi kedalam enkapsulasi dan membuat kemampuan *swelling* enkapsulatnya menjadi menurun/mengecil (Prameswari, dkk, 2014).

4.6 Pengujian Ukuran Sampel



Gambar 4.7 Uji Ukuran Sampel (a) 200 ppm, (b) 300 ppm, (c) 400 ppm, (d) 500 ppm, dan (e) 600 ppm

Uji ukuran sampel bertujuan untuk mengetahui ukuran sampel yang terbentuk dengan menggunakan bantuan alat berupa mikroskop dan untuk menunjukkan bentuk dari enkapsulasi yang dihasilkan dari reaksi silang antara larutan karagenan dengan larutan TEOS. Pengujian ini menggunakan mikroskop elektronik “Dinolite” dengan pembacaannya melalui perangkat komputer/laptop.

Berdasarkan gambar sampel yang ditunjukkan pada gambar 4.7, menunjukkan macam-macam ukuran setiap sampel dengan perbandingan luas yang

beragam. Setelah diamati, untuk ukuran sampel terbesar ada pada sampel 600 ppm dengan enkapsulasinya sebesar 2,9 mm atau 2900 μm , dan sedangkan ukuran sampel terkecil ada pada sampel 500 ppm dengan ukuran enkapsulasinya sebesar 1,4 mm atau 1400 μm . Berdasarkan standar ukuran enkapsulasi menurut Departemen Teknologi dan Sains Makanan Iran Tahun 2008, bahwa enkapsulasi memiliki 3 macam ukuran, yaitu nanoenkapsulasi ($<1,0 \mu\text{m}$), mikroenkapsulasi (1,0-5000 μm), dan makroenkapsulasi ($>5000 \mu\text{m}$). Dilihat dari hasil yang diperoleh, bahwa enkapsulasi pada penelitian ini memiliki ukuran pada mikroenkapsulasi. Hal tersebut dikarenakan pada saat proses penghalusan sampel yang seharusnya menghasilkan ukuran-ukuran partikel yang cukup kecil, namun masih ada yang memiliki ukuran cukup besar walaupun telah dilakukan penghalusan. Selain itu, pada gambar tersebut juga dapat terlihat bentukan dari enkapsulasi setiap sampel yang memiliki bentuk bulat tidak sempurna dengan permukaan pada enkapsulasinya halus dan bertekstur seperti pasir.