



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL  
KITOSAN DENGAN VARIASI ASAM**

**SKRIPSI**

**YOSMARINA HARAHAHAP**

**0806333543**

**FAKULTAS TEKNIK  
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA  
KEKHUSUSAN TEKNIK KIMIA  
DEPOK  
JUNI 2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PREPARASI DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL  
KITOSAN DENGAN VARIASI ASAM**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Teknik**

**YOSMARINA HARAHAP**

**0806333543**

**FAKULTAS TEKNIK  
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA  
KEKHUSUSAN TEKNIK KIMIA**

**DEPOK**

**JUNI 2012**

**ii**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Yosmarina Harahap

NPM : 0806333543

Tanda Tangan :



Tanggal : Juni 2012

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Yosmarina Harahap

NPM : 0806333543

Program Studi : Teknik Kimia

Judul Skripsi : “Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan dengan Variasi Asam”

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Eny Kusriani, S. Si. (.....)

Penguji : Prof. Dr. Ir. M. Nasikin, M.Eng. (.....)

Penguji : Dr. Ir. Setiadi, M. Eng. (.....)

Penguji : Dr. rer. nat. Ir. Yuswan M., M. T. (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 27 Juni 2012

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT atas berkat dan rahmat Nya sehingga saya dapat menyelesaikan tugas akhir kuliah berupa skripsi ini dengan baik. Penulisan skripsi ini ditujukan sebagai salah satu syarat kelulusan mata kuliah Skripsi dari Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Berkat rahmat dan karunia Nya saya dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Preparasi Dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan Dengan Variasi Asam”.

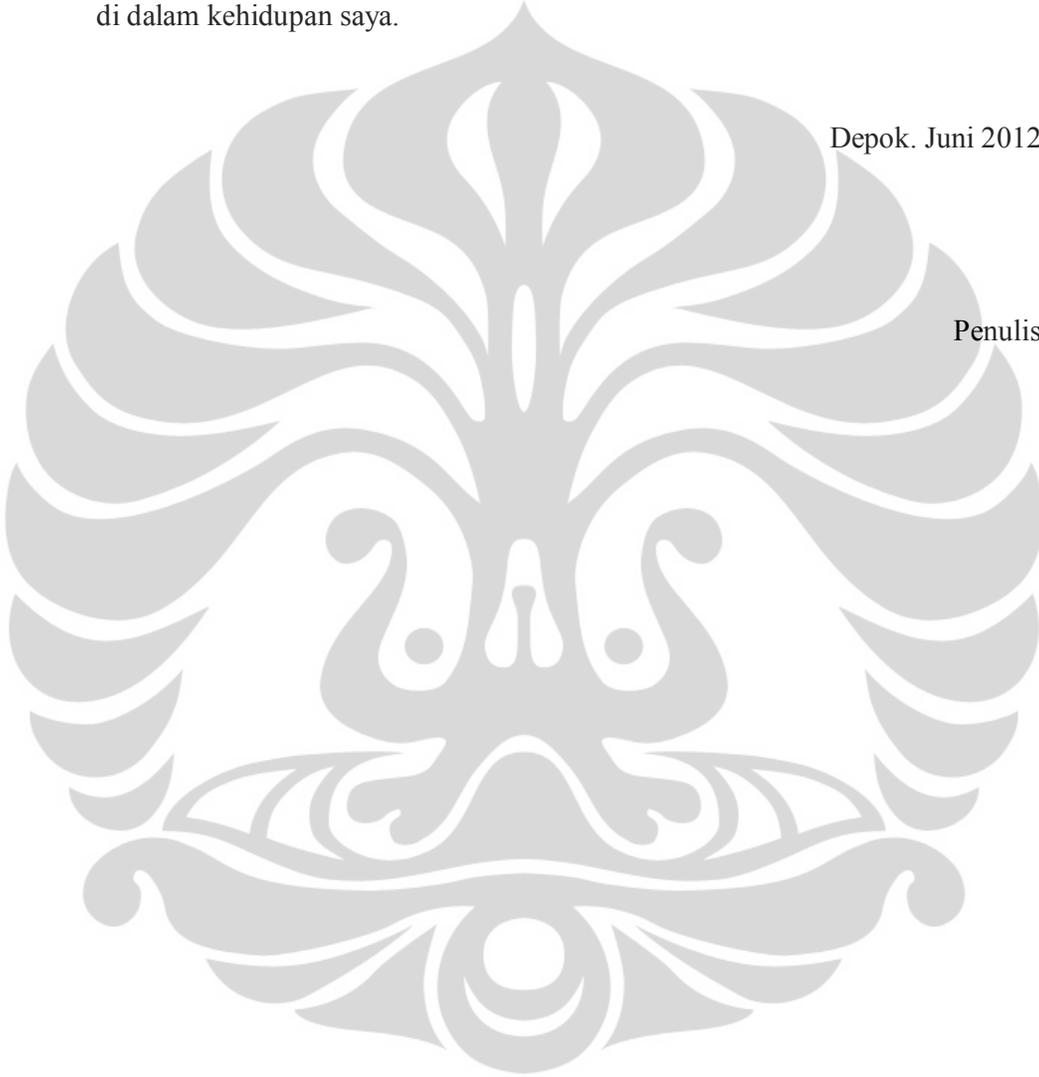
Pada kesempatan ini saya ingin mengucapkan rasa terima kasih atas terlaksananya penulisan skripsi ini dari awal hingga akhir kepada:

1. Mama & Papa atas limpahan kasih sayang, pengertian, kepercayaan, kesabaran, doa, dan segala yang telah kalian berikan kepada saya.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Widodo W. Purwanto, DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI.
3. Ibu Dr. Eny Kusriani, S.Si, atas bimbingan, ilmu, diskusi dan nasehatnya dalam pembuatan tugas akhir ini.
4. Seluruh Dosen Departemen Teknik Kimia atas ilmu yang telah diberikan dan dilimpahkan kepada saya.
5. Bapak Rachmat Dimyatie Saleh atas kebaikan dan bantuannya sehingga saya dapat melanjutkan kewajiban saya ini.
6. Teman-teman satu bimbingan kaka Fika, kaka Gefin, mbak Aida, Santoso dan Arief Frianda.
7. Teman-teman di RPKA kaka Lolyta, kaka Adet, kaka Yeni, kaka Kanya, kaka Inggit, kaka Najma, kaka Mia, kaka Gita, Mbak Indri, kaka Tania, kaka Dian, kaka Kenny, kaka Ario, kaka Juhe, kaka Arifin, kaka Sigit, Mas Harsono and the Plastic Boys Eldo, Erfan dan Adit atas perjuangan, susah, sedih, senang dan bingung penelitian, xoxo.
8. Kang Jajat, Mang Ijal, Mas Eko, Mas Taufik, Mas Sri, Mas Heri, Mas Rinan, terima kasih atas bantuannya selama ini.

9. Kaka Ibnu, kaka Maylen, kaka Sari dan kaka Ijul atas toleransi dan kerja samanya pada mata kuliah perancangan pabrik.
10. Tika, Puput, Yasmin, Ruri, Ajeng, Beby, Dita, Fandi, Intan, Utul dan teman-teman lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu.
11. Seluruh teman-teman angkatan 2008 terima kasih atas 4 tahun paling berkesan di dalam kehidupan saya.

Depok. Juni 2012

Penulis



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yosmarina Harahap  
NPM : 0806333543  
Program Studi : Teknik Kimia  
Departemen : Teknik Kimia  
Fakultas : Teknik  
Jenis Karya : Skripsi

demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty – Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**“Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan dengan Variasi Asam”**

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 27 Juni 2012

Yang menyatakan



(Yosmarina Harahap)

## ABSTRAK

Nama : Yosmarina Harahap  
NPM : 0806333543  
Program Studi : Teknik Kimia  
Judul Penelitian : Preparasi Dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan Dengan Variasi Asam

Nanopartikel kitosan dipreparasi menggunakan *potassium persulfate* (KPS) dengan variasi asam (asam asetat, asam laktat, asam format). Reaksi yang terjadi adalah depolimerisasi dilanjutkan ionik *cross-linking* dengan anion sulfat. Karakterisasi FE SEM menghasilkan nanopartikel berukuran 150-500 nm pada asam asetat, 94-140 nm pada asam laktat dan 50-110 nm pada asam format pada pengeringan oven. Pada *spray drying* dihasilkan nanopartikel berukuran 230-870 nm pada asam asetat, 150-300 nm pada asam laktat dan 130-250 nm pada asam format. Preparasi dengan asam format menghasilkan ukuran lebih baik dan distribusi partikel lebih sempit dibandingkan asam laktat dan asam asetat.

Kata kunci: depolimerisasi, ionik *cross-linking*, kitosan, nanopartikel, variasi asam

## ABSTRACT

Name : Yosmarina Harahap  
Student number : 0806333543  
Study program : Chemical engineering  
Title : Preparation and Characterization Chitosan Nanoparticles By Variety of Acids

Chitosan nanoparticles were prepared with potassium persulfate (KPS) and variety of acids (acetic acid, lactic acid, formic acid). The reactions that occurred were depolymerization followed by ionic cross-linking with sulfate anion. From FE SEM characterization showed chitosan particles size between 150-500 nm, 94-140 nm and 50-110 nm in acetic acid, lactic acid and formic acid respectively. By spray drying was obtained chitosan particles size between 230-870 nm, 150-300 nm and 130-250 nm in acetic acid, lactic acid and formic acid respectively. Preparation of chitosan nanoparticles using formic acid produced smaller particles size and narrower particles size distribution compared to lactic acid and acetic acid.

Keywords: chitosan, depolymerization, ionic cross-linking, nanoparticles, variety of acids

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	iii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI</b> <b>TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS</b> .....	vii
<b>ABSTRAK</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiv
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Batasan Masalah .....	3
1.5 Sistematika Penulisan .....	3
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Kitosan .....	5
2.2 Nanopartikel kitosan .....	7
2.3 Aplikasi Nanopartikel Kitosan .....	11
2.4 Preparasi Nanopartikel Kitosan .....	14
2.4.1 <i>Cross-linking</i> .....	14
2.4.2 <i>Spray drying</i> .....	16
2.4.3 Koaservasi atau Presipitasi .....	18
2.4.4 Polimerisasi (Penambahan KPS) .....	18
2.5 Variasi Asam .....	21
2.5.1 Asam Asetat .....	21
2.5.2 Asam Format .....	21
2.5.3 Asam Laktat .....	22
2.6 Campuran .....	22
2.6.1 Suspensi .....	22
2.6.2 Larutan .....	23
2.6.3 Koloid .....	23
2.7 Karakterisasi Nanopartikel Kitosan .....	25

2.7.1 FTIR.....	25
2.7.2 SEM.....	25
2.7.3 TEM.....	26
2.8 Penelitian Terdahulu .....	27
<b>3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>30</b>
3.1 Rancangan Penelitian .....	30
3.2 Alat dan Bahan.....	31
3.3 Tempat Penelitian.....	32
3.4 Prosedur Penelitian.....	32
3.4.1 Preparasi nanopartikel kitosan dengan metode penambahan KPS.....	32
3.4.2 Variabel Penelitian .....	32
3.4.3 Preparasi nanopartikel kitosan dengan metode penambahan KPS dan pengeringan <i>spray drying</i> .....	33
3.4.4 Variabel Penelitian .....	34
3.5 Perhitungan Yield.....	34
3.6 Karakterisasi .....	35
3.6.1 FTIR ( <i>Fourier Transform Infra Red</i> ).....	35
3.6.2 FE SEM ( <i>Field Emission Scanning Electron Microscopy</i> ).....	35
3.6.3 PSA ( <i>Particle Size Analyzer</i> ).....	35
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>36</b>
4.1 Proses Sintesis Nanopartikel kitosan.....	36
4.2 Hasil Pengeringan Oven.....	37
4.2.1 Hasil Pengeringan <i>Spray drying</i> .....	38
4.3 Hasil Karakterisasi FTIR ( <i>Fourier Transform Infrared</i> ) .....	38
4.4 Mekanisme Reaksi .....	40
4.4.1 Reaksi Depolimerisasi .....	40
4.4.2 Reaksi <i>Cross-linking</i> dengan Ion Sulfate.....	42
4.5 Analisis Hasil dan Reaksi .....	43
4.6 Hasil Karakterisasi FE SEM ( <i>Field Emission Scanning Electron Microscopy</i> ).....	46
4.6.1 Pengeringan Oven .....	46
4.6.2 Pengeringan <i>Spray drying</i> .....	48
4.1 Karakterisasi PSA .....	50
4.1.1 Pengeringan Oven .....	50
4.1.2 Pengeringan <i>Spray Drying</i> .....	52

<b>5. KESIMPULAN</b> .....	54
5.1 Kesimpulan.....	54
5.2 Saran.....	55
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	56



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kelebihan dan kekurangan masing-masing metode karakterisasi pengukuran nanopartikel.....	9
Tabel 2.2 Reviu mengenai penetrasi ukuran partikel pada beberapa organ.....	13
Tabel 2.3 Ringkasan Penelitian Terdahulu .....	27
Tabel 2.4 Pemetaan penelitian.....	29
Tabel 4.1 Hasil preparasi pada pelarut asam asetat .....	37
Tabel 4.2 Hasil preparasi pada pelarut asam laktat .....	37
Tabel 4.3 Hasil preparasi pada pelarut asam format.....	38
Tabel 4.4 Hasil preparasi pada pengeringan dengan <i>spray drying</i> .....	38
Tabel 4.5 Ikatan-ikatan pada FTIR.....	40
Tabel 4.6 Ukuran partikel kitosan pada pengeringan oven dengan karakterisasi FE SEM .....	47
Tabel 4.7 Ukuran partikel kitosan pada pengeringan <i>spray drying</i> dengan karakterisasi FE SEM .....	48
Tabel 4.8 Ukuran partikel kitosan pada pengeringan oven dengan karakterisasi PSA .....	51
Tabel 4.9 Ukuran partikel kitosan pada pengeringan spray drying dengan PSA..	52

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur molekul kitosan.....	5
Gambar 2.2 Mekanisme sederhana sintesis kitosan dari kitin.....	6
Gambar 2.3 Mekanisme pelepasan obat dari sistem partikel.....	12
Gambar 2.4 skema representasi preparasi kitosan partikel metode gelasi ionik...	14
Gambar 2.5 Skema representasi preparasi partikel kitosan dengan metode <i>emulsion cross-linking</i> .....	15
Gambar 2.6 Skema representasi preparasi partikel kitosan metode <i>spray drying</i> .	16
Gambar 2.7 Gambar hasil SEM partikel kitosan dari <i>spray drying</i> .....	17
Gambar 2.8 Skema representasi preparasi nanopartikel kitosan dengan metode koaservasi/presipitasi.....	18
Gambar 2.9 Mekanisme preparasi kitosan-poli asam akrilat nanopartikel.....	19
Gambar 2.10 Mekanisme formasi kopolimer nanopartikel kitosan-PMMA.....	20
Gambar 2.11 Struktur kimia asam asetat.....	21
Gambar 2.12 Struktur kimia asam format.....	21
Gambar 2.13 Struktur kimia asam laktat.....	22
Gambar 2.14 Koloid stabil dan koloid tidak stabil.....	24
Gambar 2.15 Contoh spectrum FTIR nanopartikel kitosan-PMMA.....	25
Gambar 2.16 Gambar SEM nanopartikel kitosan-PLA dengan perbesaran hingga 20000 kali.....	26
Gambar 2.17 Gambar FE SEM nanopartikel kitosan dengan FE SEM.....	26
Gambar 2.18 Contoh gambar hasil TEM nanopartikel kitosan-PMAA.....	27
Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian.....	30
Gambar 3.2 Rancangan alat penelitian dengan <i>hot plate magnetic stirrer</i> .....	33
Gambar 4.1 Dari kiri ke kanan: sistem pada awal reaksi, sistem pada menit ke 45, sistem setelah pendinginan.....	37
Gambar 4.2 Grafik FTIR pengeringan oven.....	38
Gambar 4.3 Grafik FTIR <i>spray drying</i> .....	39
Gambar 4.4 Mekanisme depolimerisasi kitosan oleh ion persulfate.....	41
Gambar 4.5 Mekanisme reaksi <i>cross-linking</i> kitosan berat molekul rendah dengan ion sulfat.....	42
Gambar 4.6 Skema pembentukan rantai lurus larutan kitosan menjadi partikel kitosan <i>cross-linked</i> ion sulfat.....	43
Gambar 4.7 Skema sederhana preparasi nanopartikel kitosan nanopartikel dengan penambahan KPS.....	43
Gambar 4.8 Hasil FE SEM nanopartikel kitosan dengan pengeringan oven a) kitosan komersil b) asam asetat c) asam laktat d) asam format.....	46
Gambar 4.9 Skema sederhana hubungan konversi dan ukuran partikel.....	48
Gambar 4.10 hasil FE SEM nanopartikel kitosan dengan <i>spray drying</i> a) kitosan komersil b) asam asetat c) asam laktat d) asam format.....	49
Gambar 4.11 Grafik perbandingan karakterisasi PSA preparasi nanopartikel kitosan pengeringan oven.....	50
Gambar 4.12 Grafik perbandingan karakterisasi PSA preparasi nanopartikel kitosan pengeringan <i>spray drying</i> .....	52

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kitosan merupakan polisakarida dari senyawa turunan kitin yang berasal dari kulit udang. Polisakarida dimanfaatkan untuk pembuatan nanopartikel karena biokompatibel, biodegradable, dan hidrofilik (Huang, 2005). Kitosan memiliki keunikan tersendiri dari polisakarida lain yaitu keberadaan gugus amino pada struktur nya yang mengakibatkan kitosan bersifat kationik dan mucoadesif (Janes, 2005). Karena itu pemanfaatannya sangat baik sebagai penghantaran obat. Penyalutan obat dengan kitosan akan memanjangkan waktu tinggal obat di dalam tubuh (Miyazaki, 2000). Sifat kationik kitosan menghasilkan interaksi elektrostatik yang kuat antara kitosan dengan obat (Mao, 2004).

Nanopartikel kitosan adalah kitosan dengan ukuran partikel dibawah 400 nm (Siregar, 2009). Nanopartikel kitosan sebagai penghantaran obat menawarkan penghantaran dengan rute yang tidak berbahaya seperti oral, hidu, mata, serap (Tiyaboonchai, 2003). Nanopartikel kitosan dapat diserap oleh organ tubuh manusia yang memiliki kemampuan fenetrasi membrane berukuran nano seperti pada ginjal, hati dan paru-paru (Gaumet, 2008). Pada nanopartikel kitosan penyebaran ukuran partikel sangat fundamental. Partikel dengan penyebaran yang sempit akan menghasilkan *loading* dan penghantaran obat yang lebih efisien (Fan, 2012).

Nanopartikel kitosan dapat terbentuk pada kondisi asam dimana larutan kitosan homogen akan membentuk partikel jika direaksikan dengan anion. Metode-metode yang digunakan dalam preparasi nanopartikel kitosan antara lain koaservasi (Kumbar, 2002; Hao, 2001; Ozbas-Turan, 2002), ionik *gelation* (Calvo, 1997; Tokumitsu, 1999; Fishbein, 2000; Janes, 2001; Pan, 2002; Qi, 2004), *Emulsion Cross-linking* (Kumbar 2002; Thanoo, 2003; Jameela; 2005), *Emulsion-droplet coalescence* (Tokumitsu, 1999), *Reverse micellar* (Maitra, 2004; Luisi, 2008), *Sieving* (Aminabhavi, 2004). Ukuran

partikel yang dihasilkan bervariasi dari 100 nm hingga 600 nm. Berbagai metode diatas melibatkan surfaktan dan agen *cross-linking* berbahaya seperti glutaraldehyd dan tidak sederhana. Diperlukan metode lain yang lebih sederhana, tanpa melibatkan pelarut organik, surfaktan dan agen presipitasi.

Penelitian lain yang mengalami perkembangan adalah penggunaan potassium persulfate (KPS) pada preparasi nanopartikel kitosan dengan berbagai jenis asam. KPS dapat mendegradasi kitosan pada suhu 70 °C karena ion persulfate nya dapat menyerang dan memotong rantai panjang polimer kitosan (Hsu, 2001). Namun penggunaan KPS juga dimanfaatkan untuk preparasi nanopartikel kitosan dengan asam metil metakrilat (Hsu, Don & Chiu, 2002), asam akrilat (Hu, Jiang & Ding, 2002), asam metakrilat (Moura et al., 2008) dengan mempolimerisasikan monomer kitosan dengan monomer asam membentuk nanopartikel kopolimer. Dari metode ini dihasilkan kitosan dengan ukuran hingga 60 nm hingga 300 nm. Metode ini berlangsung sederhana tanpa keberadaan surfaktan dan pelarut organik. Karena itu penelitian ini akan menggunakan metode penambahan KPS pada kitosan yang dilarutkan dalam asam.

Dari penelitian sebelumnya difokuskan pada metode preparasi nanopartikel kitosan. Sedikit sekali penelitian mengenai pengaruh asam sebagai variasi pembentukan nanopartikel kitosan. Penelitian Bodnar pada tahun 2005 berhasil memaparkan pengaruh perbedaan asam pelarut di- dan tri-karboksilat yang membentuk *intramolecular cross-linking* dengan kitosan. Dihasilkan ukuran partikel antara 60 nm – 280 nm. Dari penelitian ini disederhanakan preparasi menggunakan asam mono karboksilat sederhana sebagai pelarut.

Asam mono karboksilat yang digunakan adalah asam asetat, asam format dan asam laktat. Asam-asam ini digunakan karena strukturnya yang sederhana dan merupakan asam lemah yang dapat melarutkan kitosan. Ketiga jenis asam ini memiliki tingkat kuat asam yang berbeda. Menarik untuk diamati apakah akan ada pengaruh dari kuat asam ke dalam preparasi nanopartikel kitosan dengan memvariasikan jenis asamnya.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dihadapi dalam penelitian ini antara lain :

1. Bagaimana peran dan pengaruh asam mono karboksilat sederhana dalam preparasi nanopartikel kitosan dengan metode penambahan KPS?
2. Bagaimana mekanisme reaksi pembentukan nanopartikel kitosan dengan pelarut asam mono karboksilat sederhana dengan metode ini?
3. Bagaimana ukuran dan distribusi ukuran partikel yang dihasilkan dari metode preparasi ini?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui peran asam mono karboksilat sederhana dalam preparasi nanopartikel kitosan
2. Mengetahui reaksi dan mekanisme reaksi yang terjadi akibat penambahan KPS pada berbagai jenis asam mono karboksilat sederhana
3. Menghasilkan nanopartikel kitosan dan distribusi ukurannya
4. Mengetahui pengaruh perbedaan asam mono karboksilat sederhana sebagai pelarut pada preparasi nanopartikel kitosan karena perbedaan struktur kimia maupun kuat asamnya

## 1.4 Batasan Masalah

1. Metode preparasi yang digunakan adalah penambahan KPS
2. Variasi asam pelarut adalah asam karboksilat yaitu asam asetat, format, laktat
3. Karakterisasi yang digunakan adalah FTIR, FE SEM dan PSA

## 1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan skripsi ini adalah sebagai berikut:

### **BAB I PENDAHULUAN**

Berisi pendahuluan yang terdiri dari latar belakang, rumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah dan sistematika penulisan.

### **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

Berisi tinjauan pustaka yang membahas tentang sifat fisika dan kimia dari kitosan dan nanopartikel kitosan, aplikasi nanopartikel kitosan, metode preparasi nanopartikel kitosan, penjelasan mengenai asam pelarut, teori koloid dan pemisahan, karakterisasi FTIR, FE SEM dan PSA serta penelitian terdahulu mengenai preparasi nanopartikel kitosan.

### **BAB III METODE PENELITIAN**

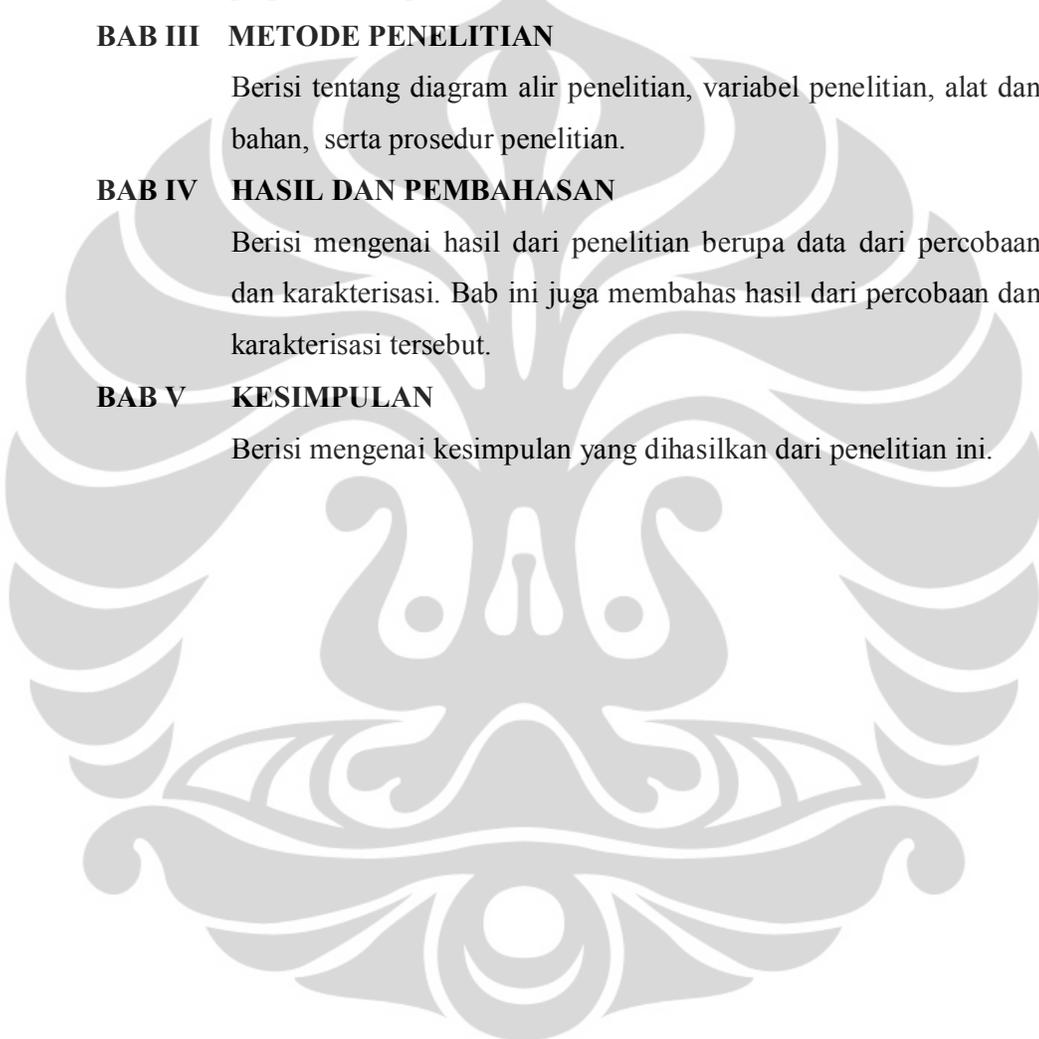
Berisi tentang diagram alir penelitian, variabel penelitian, alat dan bahan, serta prosedur penelitian.

### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

Berisi mengenai hasil dari penelitian berupa data dari percobaan dan karakterisasi. Bab ini juga membahas hasil dari percobaan dan karakterisasi tersebut.

### **BAB V KESIMPULAN**

Berisi mengenai kesimpulan yang dihasilkan dari penelitian ini.

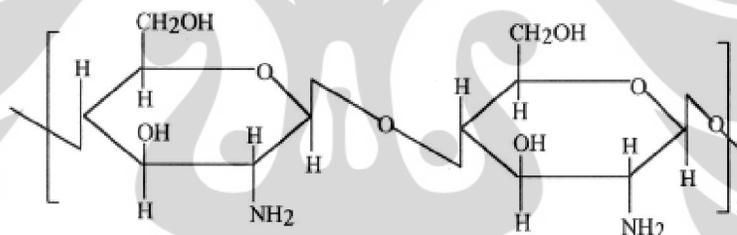


## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kitosan

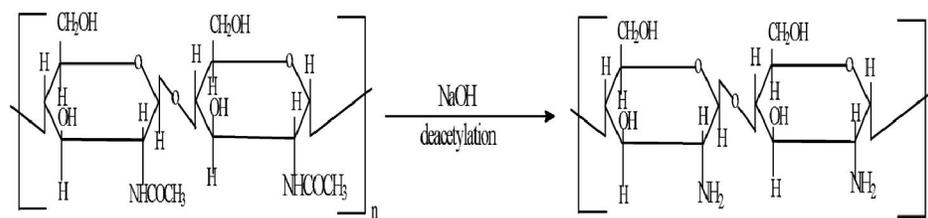
Kitosan merupakan senyawa turunan kitin yang telah mengalami proses deasetilasi. Kitin adalah senyawa yang menjadi penyusun kulit udang, kulit kepiting dan kulit *crustacean* lainnya (Paniche, 1998). Kitosan merupakan biopolimer alami yang aman dikonsumsi, mampu menyerap lemak dan biodegradable diantara sifat-sifat lainnya. Kitosan memiliki banyak manfaat untuk bidang agrikultur, obat-obatan, lingkungan dan makanan. Namun untuk bidang obat-obatan dan makanan pemanfaatan kitosan terbatas oleh berat molekulnya yang tinggi yang menyebabkan rendahnya kelarutan kitosan di dalam larutan (Ilyina, et al., 2000).



Gambar 2.1 Struktur molekul kitosan

sumber: "A review of chitin and chitosan applications" Ravi Kumar, 2000

Kitosan dihasilkan dari kitin melalui proses deproteinisasi (DP), demineralisasi (DM), penghilangan warna (DC) dan deasetilasi (DA). Untuk beberapa dekade kitosan telah diterima secara luas sebagai bahan baku dan teknik rangkaian pembawa untuk berbagai senyawa bioaktif karena kitosan merupakan sejenis bahan yang biodegradasi, bioserasi dan mempunyai sifat bioaktif (Ravi Kumar, 2000). Proses paling penting dari sintesis kitosan dari kitin adalah deasetilasi. Deasetilasi merupakan proses penghilangan gugus asetilglukosamin pada kitin dan digantikan oleh gugus NH<sub>2</sub> pada kitosan (Muzzarelli, 1977).



Gambar 2.2 Mekanisme sederhana sintesis kitosan dari kitin

sumber: "A review of chitin and chitosan applications" Ravi Kumar, 2000

Variasi dari metode preparasi kitosan menghasilkan perbedaan pada derajat deasetilasi, distribusi dari grup asetil, viskositas dan berat molekul (Hwa, 1996). Variasi ini memengaruhi kelarutan dari kitosan dan aktivitas antimikroba dari berbagai sifat lainnya. Kitosan komersil biasanya memiliki derajat deasetilasi bervariasi antara 70% - 95% dan berat molekul bervariasi antara 50 – 2000 kDa (Rege, et al., 2003).

Kitosan memiliki gugus amino dengan pKa 6.2-7, merupakan zat basa (Kumar, 2000). Kitosan dapat larut dalam asam di bawah pH 6. Asam asetat, asam format dan asam laktat dapat digunakan untuk melarutkan kitosan. Kelarutan kitosan meningkat seiring rendahnya nilai pH. Hal ini terjadi karena pada pH rendah grup amino dari kitosan mendapatkan donor proton dari asam dihasilkan di polyelectrolyte kationik larut dalam air. Pada kondisi ini, muatan permukaan kitosan positif (kationik) yang dapat membuat kitosan berinteraksi dengan muatan permukaan negatif. Namun jika pH lebih dari 6, gugus amine pada kitosan akan terdeprotonasi dan kehilangan muatannya menghasilkan polimer tidak larut bermuatan netral. Transisi larut dan tidak larutnya kitosan terjadi pada pH 6-6.5.

Kitosan mudah mengalami degradasi secara biologis dan tidak beracun, flokulan dan koagulan yang baik, mudah membentuk membrane atau film serta membentuk gel. Kitosan juga bersifat hidrofilik, menahan air dalam strukturnya dan membentuk gel secara spontan. Pembentukan gel berlangsung pada nilai pH asam dan sedikit asam, disebabkan sifat kationik kitosan.

Viskositas gel kitosan meningkat dengan meningkatnya berat molekul atau jumlah polimer. Penurunan pH akan meningkatkan viskositas. Viskositas juga

meningkat dengan meningkatnya derajat deasetilasi. Gel kitosan terdegradasi secara berangsur-angsur, sebagaimana halnya kitosan melarut (Zhang, et al., 2005).

Kitosan sebagai media penghantar obat telah acap kali digunakan dikarenakan sifat *biodegradable* nya yang dapat memanjangkan waktu tinggal obat (Miyazaki, 2001). Secara khusus kitosan digunakan untuk preparasi formulasi *mucoadhesive* (Lehr, 2002), meningkatkan kelarutan bagi obat yang sukar sekali larut (Genta, 2004), penargetan penghantaran obat ke dalam tubuh (Gallo 1998), dan peningkatan absorpsi dengan enzim peptida (Luehen, 2004). Kelarutan kitosan merupakan aspek paling berpengaruh dalam penggunaan kitosan sebagai media penghantaran obat. Sedangkan kelarutan kitosan sendiri dipengaruhi oleh berat molekul dan derajat deasetilasi (Muzzarelli, 1996).

## 2.2 Nanopartikel kitosan

Nanopartikel adalah koloid padat yang memiliki ukuran dengan kisaran 1-100 nm. Nanopartikel terdiri dari makro molekul material yang sudah direduksi ukuran secara *top-down*, partikel dari *bulk* menjadi serbuk lalu menjadi nanopartikel, maupun secara *bottom-up*, partikel dari ukuran atom menjadi molekul lalu menjadi nanopartikel (Alleman, 1993). Nanopartikel saat ini menjadi atensi para peneliti karena pengembangan material dalam skala nano dapat meningkatkan sifat fisik, mekanik dan kimia suatu material tanpa harus merusak struktur atomnya (Quo, 2000). Hal ini juga berlaku dalam pengembangan untuk nanopartikel kitosan.

Nanopartikel kitosan dianggap sangat baik untuk media penghantar obat karena stabilitasnya, toksisitas rendah, metode preparasi sederhana dan dapat menjadi bermacam cara penghantaran (Tiyaboonchai, 2003). Kitosan adalah polimer yang memiliki kelebihan diantaranya murah, biokompatibel, *biodegradable*, tidak beracun dan dapat larut dalam air.

Sedangkan nanopartikel kitosan akan menambah kelebihan sebelumnya menjadi kitosan yang lebih stabil, meningkatkan daya adsorpsi kitosan, meningkatkan kemampuan penghantaran, dan menambah varietas dari obat yang dapat dihantarkan (Pan et al, 2002).

Preparasi nanopartikel kitosan selama tiga dekade belakangan dilakukan dengan berbagai metode diantaranya koaservasi (Kumbar, 2002; Hao, 2001; Ozbas-Turan, 2002), gelas ionik (Calvo, 1997; Jame, 2001; Pan, 2002; Fuente, 2009), mikroemulsi (Maitra, 1999), (Erbacher, 1998), emulsifikasi (Shabouri, 2002), *cross-linking* (Bodnar, 2005), polimerisasi (Hsu, 2002; Moura, 2008). Peneliti saat ini tidak berhenti mengembangkan metode pembentukan nanopartikel kitosan karena pembentukan nanopartikel kitosan dapat dimanipulasi tergantung kebutuhan terhadap jenis obat apa yang akan disalutkan dengan kitosan. Berbagai perbedaan metode ini memberikan hasil yang berbeda bagi ukuran partikel maupun struktur molekul partikel kitosan yang terbentuk. Ukuran partikel kitosan umumnya bervariasi antara 50 nm - 500 nm. Namun hasil yang cenderung didapat dengan metode umum berkisar antara 300 nm – 500 nm.

Karakterisasi nanopartikel kitosan bervariasi antara lain FTIR, SEM, FE SEM, TEM, AFM, DLS, PSA, dan XRD. Pada tahun 2007 Gaumet mereviu jurnal-jurnal publikasi mengenai karakterisasi kitosan. FTIR digunakan untuk mengetahui ikatan dan gugus yang terdapat pada partikel kitosan dengan memanfaatkan prinsip transformasi fourier dengan infra merah. Sedangkan karakterisasi lain yang lebih fundamental adalah karakterisasi untuk mengetahui ukuran partikel. Pengukuran dapat dilakukan dengan memanfaatkan teknologi mikroskopik atau pun penghamburan cahaya. Masing-masing karakterisasi memiliki kelemahan dan kelebihan yang dapat dilihat pada tabel 2.1. Gaumet pada tahun 2008 merangkum mengenai kelebihan dan kekurangan jenis-jenis karakterisasi pada penentuan ukuran partikel. Karakterisasi itu antara lain *light scattering*, *scanning microscopy*, *transmission electron*, *centrifugation*, *elution*, dan *chromatography*.

Tabel 2.1 Kelebihan dan kekurangan masing-masing metode karakterisasi pengukuran nanopartikel

Method <sup>a</sup>	Principle	Measured size <sup>b</sup>	Limitations
LS	Light interaction	50 nm–1 $\mu$ m	Non-appropriated for very polydisperse populations Indirect method Great influence of aggregates or larger particles Many influencing parameters
LLD	Light interaction	1–1000 $\mu$ m	High amount of sample required Indirect method
SEM, TEM	Microscopy	50 nm–100 $\mu$ m	Time consuming Influence of the preparation sample
AFM	Microscopy	10 nm–1 $\mu$ m	Sampling Non-automated Complexity of the set up Image treatment Subjective
ANUC	Centrifugation	–	Complex data processing
FFF	Elution	20 nm–1 $\mu$ m	Difficult to handle Optimization needed for each kind of particles
CE	Electrophoresis	20–500 nm	Complexity of the set up
PCH, SEC	Chromatography	<100 nm	Long steps of optimization Time consuming

Sumber: “Nanoparticles for drug delivery: the need for precision in reporting particle size parameters” Gaunet, 2008

Karakterisasi DLS dan PSA memanfaatkan prinsip penghamburan cahaya. DLS dilakukan pada kondisi kering sedangkan PSA dilakukan dengan mendispersikan partikel pada media dispersannya. Menurut Gaunet karakterisasi dengan penghamburan cahaya ini dapat mengidentifikasi sampel dengan ukuran 50 nm hingga 1  $\mu$ m. Gaunet berpendapat bahwa karakterisasi DLS dan PSA tidak efektif karena dipengaruhi oleh agregasi partikel yang lebih besar, dipengaruhi banyak parameter, tidak cocok digunakan pada populasi dengan ukuran partikel yang tidak seragam, metode karakterisasi tidak secara langsung pada sampel karena memanfaatkan media pendispersan. Karena faktor-faktor tersebut sampel yang dikarakterisasi dengan DLS dan PSA dikhawatirkan tidak merepresentasikan kondisi sampel sesungguhnya, sampel sudah tercemari.

Karakterisasi lain untuk mengetahui ukuran partikel adalah pemanfaatan prinsip mikroskopis dengan SEM, FE SEM, TEM dan AFM. Karakterisasi jenis ini dapat melihat ukuran partikel dari 1 nm hingga 1  $\mu$ m. SEM, FE SEM dan AFM dilakukan dengan menembakkan elektron pada sampel dengan perbesaran hingga 100.000 kali tergantung spesifikasi alat karakterisasi. Dari hasil penggambaran perbesaran ini ukuran partikel sampel langsung dapat terlihat. Menurut Gaunet, karakterisasi jenis ini sangat baik untuk mengetahui

ukuran partikel karena karakterisasi langsung pada sampel tanpa ada perantara. Namun penggunaan alat SEM, FE SEM dan AFM terbatas karena alat tidak berjalan otomatis sehingga karakterisasi bergantung pada operator pelaksana alat.

Sedangkan karakterisasi TEM menggunakan *transmission electron microscopy*, sehingga penglihatan pada perbesaran dapat dilakukan secara tembus gambar. Karakterisasi TEM dapat meningkatkan penggambaran sehingga jika terjadi penumpukan pada perbesaran sampel tetap dapat dilihat ukuran dan bentuknya. Karakterisasi TEM membutuhkan biaya dan energi yang lebih besar dibandingkan dengan SEM, FE SEM dan AFM.

Karakterisasi lain yang dapat dilakukan adalah XRD (Leineweber, 2006). XRD merupakan karakterisasi untuk mengidentifikasi kristal suatu sampel dari keberadaan senyawa, struktur kristal dan ukuran kristal. Pada sampel nanopartikel ukuran kristal sama dengan ukuran partikel nya, namun hal ini tidak terlalu akurat, dibutuhkan karakterisasi lain untuk menopang hasil karakterisasi XRD untuk pengukuran ukuran partikel. XRD memanfaatkan difraksi sinar X yang ditembakkan ke sampel pada kondisi kering yang menghasilkan puncak-puncak pada grafik XRD. Masing-masing puncak mengindikasikan senyawa yang berada pada sampel. Semakin tinggi intensitas puncak nya semakin tinggi kandungan senyawa pada sampel. Pengukuran partikel menggunakan rumus Scherrer dengan perhitungan sudut difraksi, panjang gelombang sinar X, dan lebar puncak difraksi.

Pada tahun 2005, Bodnar, Hartban dan Borbely menjelaskan mengenai preparasi nanopartikel kitosan menggunakan berbagai asam karboksilat di-dan tri- karboksilat. Asam karboksilat berperan sebagai agen *cross-link* antara molekul kitosan. Gugus karboksil dari asam akan berikatan dengan gugus –NH<sub>2</sub> dari kitosan. Reaksi kondensasi dari grup karboksilat dan grup amino berlangsung di dalam carbodiimide terlarut dalam air. Metode ini mengizinkan terjadinya pembentukan nanopartikel polikation, polianion dan poliampholyte. Nanopartikel kitosan yang terbentuk stabil di larutan pH rendah, pH normal dan kondisi sedikit alkali. Jenis asam yang digunakan pada penelitian ini adalah asam succinic, asam malic, dan asam sitrat. Masing-masing asam

menghasilkan ukuran partikel nanopartikel kitosan yang berbeda namun telah berhasil membentuk nanopartikel. Ukurannya berkisar antara 100-280 nm. Kitosan biodegradable nanopartikel ini dapat digunakan untuk berbagai aplikasi biomedis karena toksisitasnya yang rendah. Karakterisasi menggunakan TEM dan spektroskopi NMR.

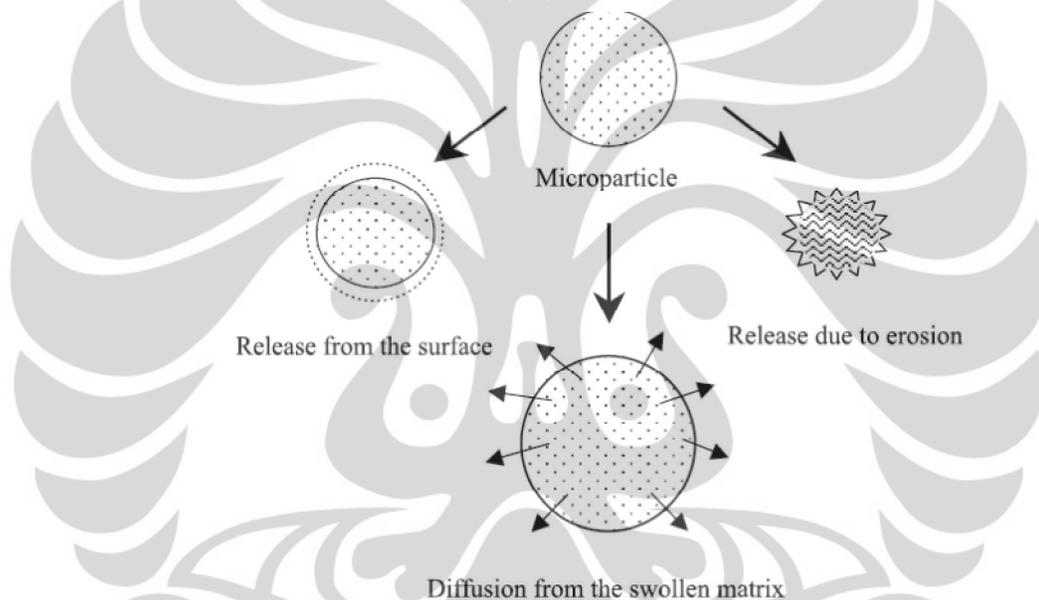
Pada tahun 2008 Moura menghasilkan preparasi nanopartikel kitosan dengan polimer asam metakrilat dengan metode polimerisasi. Asam metakrilat adalah salah satu jenis asam karboksilat dengan tingkat asam lemah. Preparasi dilakukan dengan bantuan reagen KPS sebagai agen polimerisasi. Dari hasil ini didapatkan ukuran partikel kitosan hingga 170 nm. Larutan nanopartikel juga sensitive terhadap pH akibat adanya *swelling* dan agregasi dari partikel pada pH netral. Satu hal lain yang menonjol dari penelitian ini adalah kitosan yang terbentuk sangat homogen dalam hal ukuran partikel dan bentuknya sehingga dapat langsung diaplikasikan.

### 2.3 Aplikasi Nanopartikel Kitosan

Nanopartikel kitosan dapat diaplikasikan di berbagai bidang. Pemanfaatan sebelumnya dimanfaatkan sebagai adsorben, filler, dan delivery carrier. Pada adsorben pemanfaatan dimanfaatkan untuk penyerapan limbah  $Fe^{3+}$  (Kamelia, 2009) dan zat warna (Mukhlis, 2009). Dalam penelitian bioplastik nanopartikel kitosan dimanfaatkan sebagai filler dalam pembuatan plastik. Penambahan nanopartikel kitosan meningkatkan kemampuan film terhadap ketahanan permeabilitas uap air secara signifikan (Dogan, 2007). Namun pengembangan nanopartikel kitosan secara luas dikembangkan sebagai penghantaran obat.

Partikel kitosan dengan ukuran mikro maupun nano dimanfaatkan dalam penghantaran obat dengan target usus besar, penghantaran obat pada selaput mukosa, terapi kanker, penghantaran gen, penghantaran topikal, penghantaran okular dan penghantaran lambung atau saluran pencernaan. Kitosan digunakan sebagai media penyalut obat. Obat yang masuk ke dalam tubuh secara oral maupun intravenous harus disalut dengan media penyalut karena molekul obat yang berbentuk kristal dapat melukai lambung. Selain itu penyalutan berguna

untuk menahan pelepasan obat di dalam tubuh. Kitosan mendapatkan atensi sebagai media penyalut karena sifat biokompatibel, biodegradable dan tidak beracun. Pada tahun 2000 Shu dan Zhu memaparkan mengenai pengaruh pelepasan obat yang disalut dengan kitosan dan tidak. Kitosan yang tidak disalut obat terlepas 19.2% pada jam ke 25 sedangkan kitosan yang disalut obat terlepas 14.6% pada jam ke 90. Perbedaan yang signifikan ini akan sangat berguna pada penghantaran obat ke dalam usus halus dimana saluran cerna membutuhkan waktu yang sangat lama lebih dari 8 jam dari mulut ke usus halus sehingga obat akan tetap tertahan dan sampai di usus halus untuk penargetan pemulihan penyakit.



Gambar 2.3 Mekanisme pelepasan obat dari sistem partikel

Sumber: "Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery"  
Agnotri, et al., 2004

Obat yang disalut dengan kitosan akan tertahan di dalam tubuh sebelum terlepas menyebabkan pelepasan dapat berlangsung lama. Mekanisme pelepasan obat yang disalut dengan kitosan di dalam tubuh terjadi akibat difusi, erosi dan swelling. Difusi obat melalui membrane kitosan, erosi kitosan sehingga kitosan terdegradasi meninggalkan obat dan swelling dimana partikel akan mengembang hingga batas tertentu lalu pecah menyebabkan obat di dalam partikel terlepas seiring pecahnya partikel (Shu dan Zhu, 2000).

Kondisi pH di dalam saluran pencernaan akan mempengaruhi fenomena pelepasan obat dari matriks kitosannya.



Tabel 2.2 Reviu mengenai penetrasi ukuran partikel pada beberapa organ

Organ or pathological situation	Fenestration size	Animal model
Kidney	20–30 nm	Guinea-pig, rabbit, rat
Liver	150 nm	Mice
Spleen	150 nm	Mice
Lung	1–400 nm	Dog
Bone marrow	85–150 nm	Guinea-pig, rabbit, rat
Skeletal, cardiac and smooth muscle	$\leq 6$ nm	Mice
Skin, subcutaneous and mucuous membrane	$\leq 6$ nm	Mice
Blood–brain barrier	No fenestrations	–
Tumor <sup>a</sup>	200–780 nm	Mice
Brain tumor <sup>b</sup>	100–380 nm	Rat
Inflamed organs	80 nm–1.4 $\mu$ m	Hamster

These values result from indirect measurements and should be used with caution.

<sup>a</sup> Implanted tumor.

<sup>b</sup> Intravenously inoculated tumor.

Sumber: “Nanoparticles for drug delivery: the need for precision in reporting particle size parameters” Gaumet, 2008

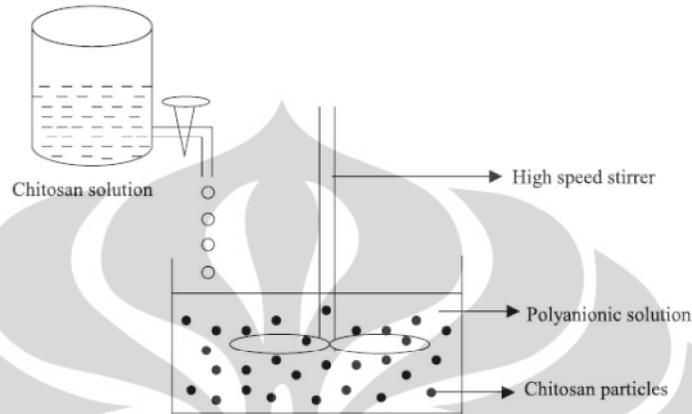
Dari tabel 2.2 dapat dilihat skema jelas mengenai kebutuhan ukuran nanopartikel pada penghantaran obat dalam tubuh dengan menggunakan hewan sebagai model. Gaumet mereviu jurnal-jurnal yang telah melaporkan penelitian mengenai kemampuan fenetrasi pada beberapa organ tubuh. Pada ginjal kemampuan fenetrasi atau pembukaan membrane 20 – 30 nm, pada hati 150 nm, pada paru-paru 1 nm – 400 nm, pada tulang 85 nm – 150 nm, pada kulit kurang dari 6 nm.

Fenetrasi ini menjadi indikator bahwa obat yang masuk ke dalam organ harus berukuran dibawah ukuran fenetrasinya. Disinilah nanopartikel berperan sebagai salah satu kebutuhan penting untuk penghantaran obat secara aman dan bertarget sehingga obat dapat terhantarkan ke dalam organ-organ ini. Contoh lain dari penghantaran nanopartikel adalah obat yang disuntikkan ke dalam pembuluh darah. Pembuluh darah arteri berukuran 2  $\mu$ m. Jika obat ingin dimasukkan secara intravenous obat yang dimasukkan harus berukuran dibawah 2  $\mu$ m.

## 2.4 Preparasi Nanopartikel Kitosan

### 2.4.1 Cross-linking

#### 2.4.1.1 Gelasi Ionik



Gambar 2.4 skema representasi preparasi kitosan partikel dengan metode gelasi ionik

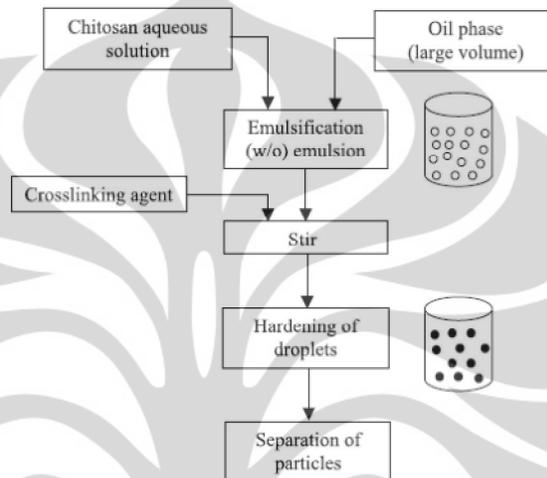
Sumber: "Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery"  
Agnotri, et al., 2004

Nanopartikel kitosan dipreparasi dengan teknik gelasi ionik. Metode ini pertama kali diteliti oleh Calvo et al., pada tahun 1997. Mekanisme dari metode ini adalah pembentukan nanopartikel kitosan berdasarkan interaksi elektrostatik antara gugus amine positif pada kitosan ( $-NH_2$ ) dengan gugus muatan negatif dari polianion contohnya *tripolyphosphate* (TPP) (Xu and Du, 2003). Karena kompleksitas interaksi ini kitosan mengalami gelasi ionik dan terpresipitasi membentuk partikel. Teknik ini dapat dilakukan dengan sederhana dan mudah pada media larutan.

Pertama-tama kitosan dilarutkan dalam pelarut asam umumnya asam asetat. Pelarutan dapat menggunakan agen penstabil atau pun tidak. Setelah itu larutan kitosan dimasukkan ke dalam larutan polianion TPP sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Gugus negatif dari TPP akan mengikat gugus  $-NH_2$  dari kitosan secara spontan pada pengadukan mekanik dengan suhu ruang. Hasilnya terbentuk emulsi kitosan gel berwarna putih. Nanopartikel kitosan dari metode ini memiliki ukuran bervariasi antara 300-500 nm. Ukuran partikel dihasilkan dari metode ini dipengaruhi oleh berat molekul kitosan awal.

Pada tahun 2003, Janes memaparkan bahwa kitosan dengan berat molekul rendah menghasilkan nanopartikel kitosan dengan ukuran hingga 93 nm. Sedangkan kitosan dengan berat molekul tinggi menghasilkan ukuran 300 nm.

#### 2.4.1.2 Emulsion *Cross-linking*



Gambar 2.5 Skema representasi preparasi partikel kitosan dengan metode *emulsion cross-linking*

Sumber: "Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery"  
Agnotri, et al., 2004

Metode ini memanfaatkan gugus fungsi grup amine ( $-NH_2$ ) pada kitosan untuk *cross-linking* dengan gugus aldehid dari *cross-linking agent*. Pada metode ini larutan air dalam minyak disiapkan dengan mengemulsikan larutan kitosan di dalam fasa minyak. Hal ini dilakukan agar air dalam minyak dapat membentuk koloid emulsi. Emulsifikasi berlangsung dengan ditambahkan surfaktan yang sesuai. Setelah emulsifikasi akan terbentuk tetesan-tetesan air yang terperangkap di dalam minyak, nantinya tetesan ini yang akan ditambahkan *cross-linking agent* sehingga terbentuk partikel keras bukan lagi larutan.

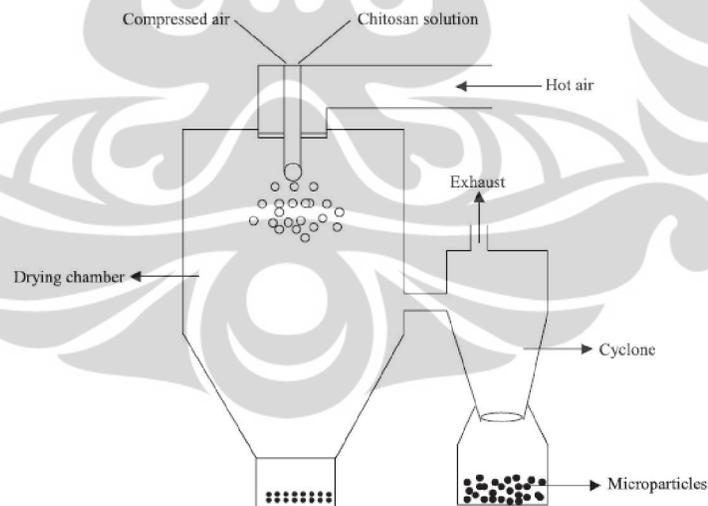
Emulsi yang telah stabil ditambahkan dengan *cross-linking agent* dalam hal ini digunakan glutaraldehid. Glutaraldehid berfungsi untuk mengeraskan tetesan air di dalam fasa minyak sehingga terbentuk partikel kitosan yang keras. Mikropartikel kitosan kemudian disaring dan dicuci

berulang kali kemudian dikeringkan. Dengan metode ini ukuran partikel kitosan dapat dikontrol dengan mengontrol ukuran tetesan di dalam fasa minyak.

Ukuran partikel kitosan bergantung pada penambahan *cross-linking agent* pada saat proses pengerasan tetesan. Metode ini dapat menghasilkan kitosan dengan ukuran 40-230  $\mu\text{m}$  pada kondisi kering. Partikel kitosan yang dihasilkan dapat digunakan sebagai basis untuk penghantaran obat seperti aspirin dan progesterone. Namun partikel kitosan dari metode ini memiliki berbagai kekurangan diantaranya metode yang tidak sederhana, glutaraldehid sebagai *cross-linking agent* merupakan senyawa yang berbahaya bagi kesehatan, proses penghilangan sisa *cross-linking agent* yang sulit dan hasil dari metode ini yang masih berukuran mikron.

Metode ini juga menggunakan banyak bahan kimia yang ditambahkan ke dalam sistem seperti surfaktan untuk pengemulsi, n-hexane dan alkohol. Metode ini sangat cocok digunakan untuk pembuatan kitosan pembawa obat untuk partikel mikrosfer.

#### 2.4.2 *Spray drying*



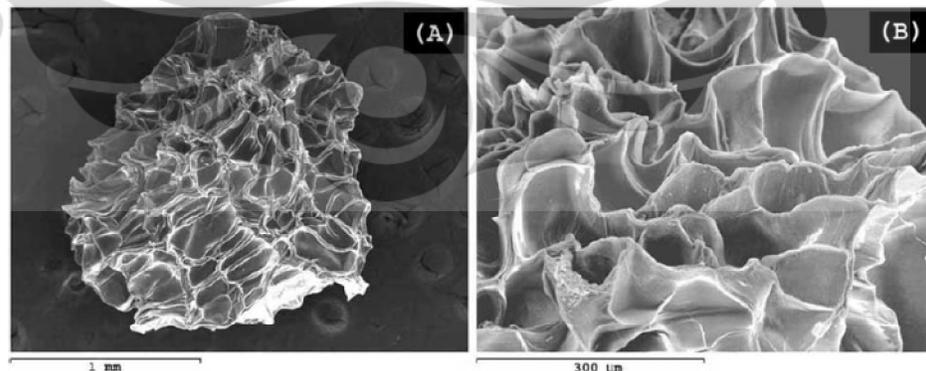
Gambar 2.6 Skema representasi preparasi partikel kitosan metode *spray drying*

Sumber: "Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery"

Agnotri, et al., 2002

*Spray drying* adalah metode untuk memproduksi serbuk, granular atau aglomerasi dari campuran obat dan larutan excipien atau pun berasal dari suspensi. Metode ini berdasarkan mengeringkan tetesan atomisasi pada aliran udara panas. Pada metode ini kitosan dilarutkan dalam asam asetat, obat kemudian didispersikan di dalam larutan kemudian *cross-linking agent* yang sesuai ditambahkan untuk mengikat kitosan dengan obat. Larutan atau dispersan ini kemudian diatomisasi di dalam keberadaan aliran udara panas. Atomisasi dari penyemprotan melewati nozzle kecil membuat adanya tetesan-tetesan kecil, dimana pelarut akan ter evaporasi karena aliran udara panas secara instan sehingga terbentuk partikel kering (He, 1999). Berbagai parameter proses dapat dikontrol untuk menghasilkan ukuran partikel yang diinginkan. Ukuran partikel tergantung pada ukuran nozzle atomisasi, laju alir, tekanan atomisasi, suhu udara dan *cross-linking agent* nya.

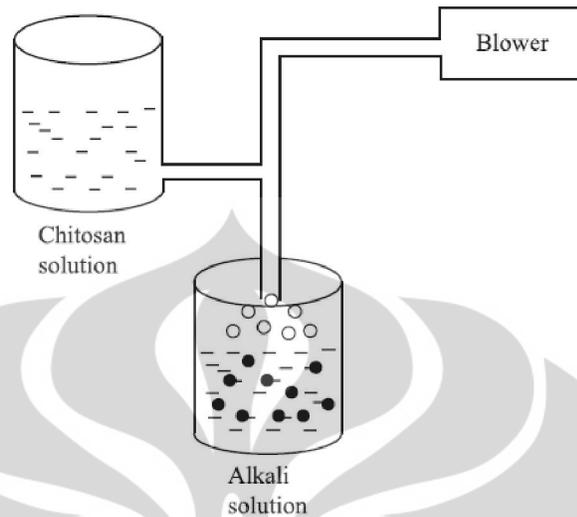
Pada tahun 1999, He memaparkan penelitian mengenai *un-cross-linked* dan *cross-linked* mikropartikel kitosan dengan metode *spray drying* untuk penghantaran *cimetidine*. Ukuran partikel dari *un-cross-linked* bervariasi antara 4-5  $\mu\text{m}$ . Sedangkan partikel *cross-linked* berukuran 2-10  $\mu\text{m}$ . Ukuran partikel dipengaruhi oleh pengaruh *cross-linking agent*. Mikropartikel dengan ukuran partikel lebih kecil diproduksi dengan meningkatkan laju alir udara panas. Namun pengaruh suhu udara panas yang masuk 140 °C – 180 °C tidak terlalu mempengaruhi ukuran partikel.



Gambar 2.7 Gambar hasil SEM partikel kitosan dari *spray drying*

Sumber: “New Drug Delivery System Based On Chitosan” Panos, Acosta, dan Heras, 2008

### 2.4.3 Koaservasi atau Presipitasi



Gambar 2.8 Skema representasi preparasi nanopartikel kitosan dengan metode koaservasi/presipitasi

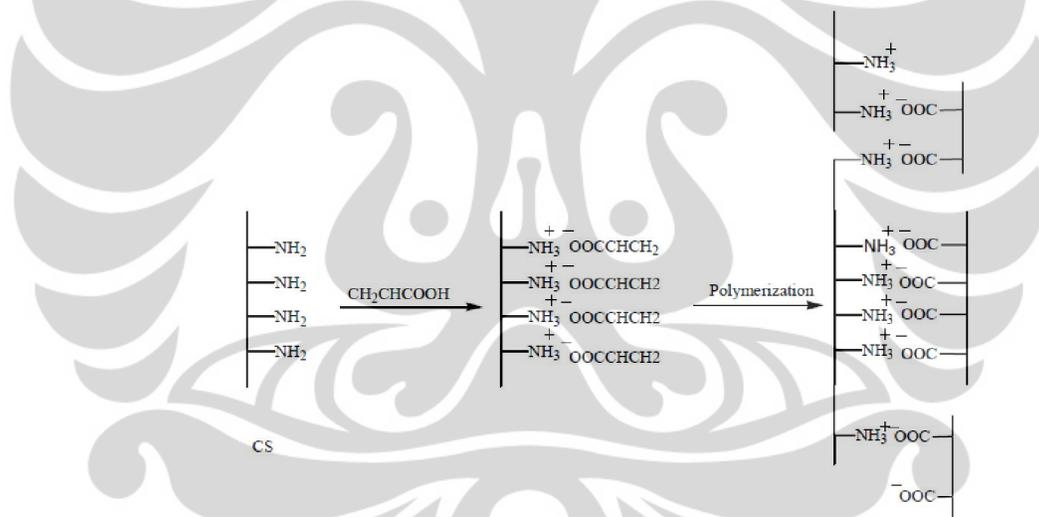
Sumber: "Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery"  
Agnotri, et al., 2004

Metode koaservasi memanfaatkan sifat fisiokimia dari kitosan. Kitosan tidak dapat larut dalam larutan alkalin dengan pH diatas 7 sehingga kitosan akan terpresipitasi atau terkoaservasi jika dikontakkan dengan larutan alkali. Partikel dihasilkan dengan menambahkan larutan kitosan ke dalam larutan alkali seperti NaOH menggunakan nozzle udara terkompresi untuk membentuk droplet koaservasi. Separasi dan purifikasi dilakukan dengan filtrasi maupun sentrifugasi dilanjutkan dengan pencucian menggunakan air panas dan air dingin.

Metode ini dapat dilihat pada gambar 2.10. Dengan memvariasikan tekanan udara masuk atau diameter dari nozzle semprot dapat mengontrol ukuran diameter partikel kitosan. Pada teknik lain digunakan larutan sodium sulfat ke dalam larutan kitosan dalam asam lalu dilanjutkan dengan pengadukan dan ultrasonikasi selama 30 menit. Mikrosfer yang terbentuk dibersihkan dengan sentrifugasi dan resuspensi dalam air demin.

#### 2.4.4 Polimerisasi (Penambahan KPS)

Polimerisasi merupakan metode paling terakhir perkembangannya dalam preparasi nanopartikel kitosan. Pada metode ini polimer kitosan dipolimerisasikan dengan polimer lain membentuk nanopartikel kitosan kompleks. Mekanisme nya adalah dengan memanfaatkan keberadaan ion persulfate sebagai agen polimerisasi. Sintesis ini berhasil dilakukan pertama kali oleh Hu, Jiang dan Ding pada tahun 2002. Hu et al. mereaksikan asam akrilat di dalam larutan kitosan sebagai template. Ion persulfate sebagai pembentuk polimer poli asam akrilat yang digunakan adalah potassium persulfate (KPS). Reaksinya berlangsung seperti pada Gambar 2.9. Gugus amine dari kitosan berikatan dengan gugus karboksil dari rantai asam akrilat. Setelah polimerisasi ikatan ini menghubungkan polimer kitosan dengan polimer asam akrilat.



Gambar 2.9 Mekanisme preparasi kitosan-poli asam akrilat nanopartikel

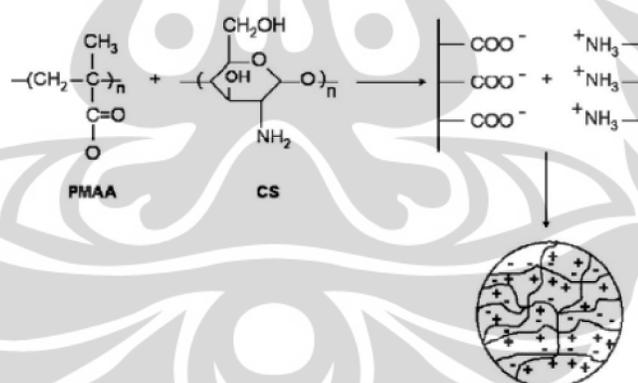
Sumber: "Synthesis and characterization of chitosan-poly(acrylic acid) nanoparticles" Hu, 2002

Kitosan dilarutkan di dalam asam akrilat dengan magnetic stirring. Setelah larutan homogen ditambahkan KPS ke dalam larutan. Sistem campuran dipertahankan pada pH 4. Setelah itu dilakukan polimerisasi pada suhu 70 °C didalam reaktor dengan laju alir nitrogen dan pengadukan cepat dengan magnetic stirrer. Setelah satu jam larutan sistem berubah dari

larutan jernih menjadi larutan yang memiliki turbiditas atau kekeruhan. Turbiditas mengindikasikan terbentuknya suspensi. Suspensi kemudian didinginkan untuk menghentikan reaksi polimerisasi dengan memasukkan sistem pada baskom es. Suspensi kemudian disaring dengan kertas saring didapatkan nanopartikel kitosan kompleks dengan poli asam akrilat.

Metode ini menghasilkan ukuran partikel kitosan dari 50 hingga 400 nm, seragam, hidrofilik dan memiliki muatan permukaan positif yang dapat meningkatkan kestabilannya dalam keberadaan kation biologis. Muatan positif ini menguntungkan jika nanopartikel digunakan untuk penyalutan obat tertentu karena interaksi dengan membrane muatan negatif dan penargetan penghantaran obat tertentu secara *in vivo*. Pelarutan nanopartikel pada larutan bergantung pada pH. Nanopartikel terbentuk secara spontan pada kondisi sedang tanpa suhu tinggi, tanpa pelarut organik, tanpa surfaktan dan tanpa membutuhkan teknologi khusus dalam pembuatannya.

Pada tahun 2008, Moura memaparkan mengenai polimerisasi monomer kitosan dengan monomer asam metakrilat.



Gambar 2.10 Mekanisme formasi kopolimer nanopartikel kitosan-PMMA

Sumber: "Preparation of chitosan nanoparticles using methacrylic acid" Moura, 2008

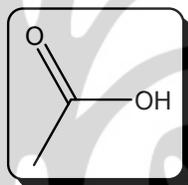
Polimerisasi terbentuk dengan bantuan KPS sebagai pembentuk monomer kitosan. Kitosan bertindak sebagai template pembentukan polimer poli asam metakrilat. Gugus amine  $\text{NH}_3^+$  dari monomer kitosan akan berikatan dengan gugus karboksil  $\text{COO}^-$  dari asam metakrilat lalu

membentuk kopolimer polielektrolit. Polielektrolit adalah polimer yang pada setiap monomernya memiliki grup elektrolit. Grup elektrolit adalah senyawa yang memiliki ion bebas pada strukturnya sehingga membuat senyawa tersebut memiliki konduktivitas elektrik. Tipe elektrolit paling umum adalah larutan ionik. Gugus elektrolit ini akan terdisosiasi dalam air membuat polimer memiliki muatan.

Polimer yang terbentuk dari metode ini menghasilkan ukuran partikel hingga 60 nm. Ukurannya menjadi 270 nm pada karakterisasi dengan aquades pH 7 akibat adanya *swelling* dan agregasi menandakan polimer sensitive terhadap perubahan pH.

## 2.5 Variasi Asam

### 2.5.1 Asam Asetat

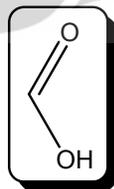


Gambar 2.11 Struktur kimia asam asetat

Sumber: ChemDraw Ultra® by Cambridgesoft database

Asam asetat (nama IUPAC: asam etanoat) adalah salah satu jenis asam karboksilat sederhana dengan rumus kimia  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Asam asetat merupakan asam lemah. Asam asetat memiliki bau asam yang kuat menyengat, tidak berwarna, encer, dan larut dalam air. Berat molekul asam asetat 60 g/mol dengan tingkat kuat asam pKa sebesar 4.79.

### 2.5.2 Asam Format

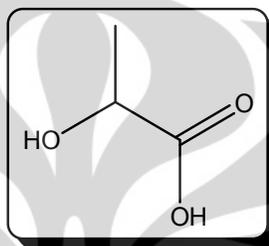


Gambar 2.12 Struktur kimia asam format

Sumber: ChemDraw Ultra® by Cambridgesoft database

Asam format (nama IUPAC: asam metanoat) adalah asam karboksilat paling sederhana dengan rumus kimia  $\text{HCOOH}$ . Asam format merupakan asam lemah. Asam format memiliki bau asam yang khas, tidak berwarna, encer, dan larut dalam air. Berat molekul asam format adalah 46.03 gr/mol dengan tingkat kuat asam  $\text{pK}_a$  3.77.

### 2.5.3 Asam Laktat



Gambar 2.13 Struktur kimia asam laktat

Sumber: ChemDraw Ultra® by Cambridgesoft database

Asam laktat (nama IUPAC: 2-hidroksi asam propanoat) adalah asam karboksilat sederhana dengan rumus kimia  $\text{CH}_2\text{OHCOOH}$ . Asam laktat merupakan asam lemah. Asam laktat memiliki gugus hidroksil yang terikat pada grup karboksil sehingga asam laktat tergolong pada asam hidroksi alfa. Asam laktat memiliki bau yang manis, tidak berwarna, agak kental dan larut dalam air. Berat molekul asam laktat adalah 90.08 gr/mol dengan tingkat kuat asam  $\text{pK}_a$  3.86.

## 2.6 Campuran

### 2.6.1 Suspensi

Dalam suatu suspensi, paling sedikit suatu komponen yang secara relative mempunyai partikel besar akan saling tersebar dengan komponen lainnya. Contohnya pasir yang tersuspensi dalam air. Pada suspensi, ukuran dari partikel yang tersuspensi cukup besar untuk dapat dilihat oleh mikroskop. Jika suspensi ini diaduk maka partikel-partikel dari suspensi akan mengendap karena pengaruh gaya gravitasi. Walaupun kecepatannya tergantung dari ukuran partikel.

Metode pemisahan suspensi salah satunya adalah dengan menyaring. Alat kedua yang dapat digunakan untuk pemisahan suspensi adalah sentrifuge. Sentrifuge memanfaatkan putaran kecepatan tinggi dan gaya sentrifugal untuk mendorong endapan ke bawah. Contoh dari suspensi adalah tepung dalam air, pasir dalam air, dan lain-lain.

### 2.6.2 Larutan

Larutan adalah kebalikan dari suspensi. Dalam larutan semua partikel baik solute maupun solven memiliki ukuran sebesar molekul atau ion. Partikel ini menyebar secara merata antara masing-masing dan menghasilkan satu fase homogen. Contoh larutan adalah pencampuran gula dalam air membentuk larutan homogen.

### 2.6.3 Koloid

Koloid adalah campuran yang berada di antara larutan homogen dan suspensi. Di dalam koloid partikel solute lebih besar daripada partikel larutannya tetapi lebih kecil daripada partikel yang tersuspensi dalam suspensi. Karena itu istilah yang digunakan dalam koloid adalah fase terdispersi dan medium pendispersi. Koloid dapat dibuat dengan dua cara metode top-down dan bottom-up. Top-down adalah metode dengan mendispersikan partikel dalam larutan lalu menghancurkan partikel dalam larutan dengan gaya pencampuran yang tinggi. Sedangkan metode bottom-up adalah mengondensasikan molekul terlarut dalam larutan menjadi partikel koloid yang lebih besar dengan presipitasi, kondensasi dan redoks.

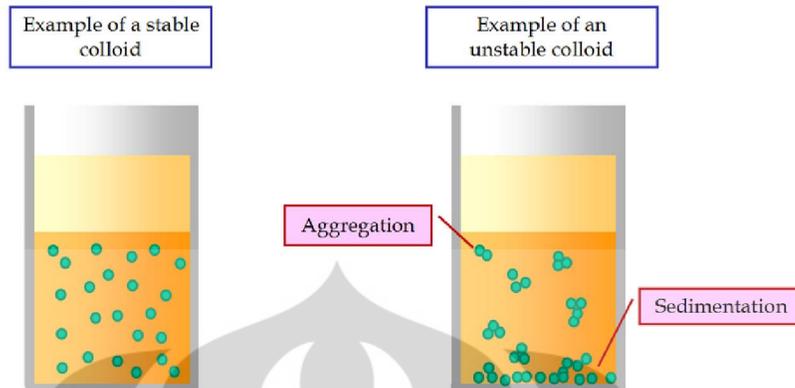
Koloid memiliki ukuran partikel fase terdispersi dalam media pendispersi 1-1000 nm. Terdiri dari kumpulan banyak molekul atau ion. Walaupun partikelnya lebih besar daripada partikel pada larutan asli tetapi masih cukup kecil sehingga dapat terjadi tumbukan yang tetap dengan medium sekitarnya yang menyebabkan partikel tertahan untuk beberapa waktu. Sehingga salah satu sifat koloid adalah cenderung stabil dibawah pengaruh gravitasi bumi. Bahkan terdapat koloid yang stabil selamanya. Seperti juga pada suspensi, jumlah relative dari partikel koloid dalam campuran lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah partikel medium

dispersinya. Karena itu sifat-sifat fisik koloid hanya berbeda sedikit dengan medium pendispersinya.

Partikel-partikel dalam suatu koloid terlalu kecil untuk dilihat dengan mata ataupun mikroskop biasa. Walaupun demikian partikel ini dapat memengaruhi cahaya tampak, ukuran partikelnya cocok untuk menyebabkan cahaya tersebar. Bila konsentrasi koloid besar maka partikel ini akan menyebabkan turbiditas atau kekeruhan koloid terlihat, contohnya susu. Koloid mengalami efek tyndall dimana suatu koloid dapat membelokkan jalannya cahaya apabila koloid ditembakkan cahaya karena partikel solutnya terlalu kecil untuk menyebarkan cahaya.

Koloid terbagi menjadi dua dilihat dari stabilitasnya, koloid stabil dan koloid tidak stabil. Koloid akan stabil jika partikel-partikel nya tidak saling teragregasi atau mengalami tubrukan sehingga melekat bila ditambahkan zat pengemulsi. Sebaliknya jika ingin mendestabilkan koloid ditambahkan zat koagulan yang akan menyebabkan koloid terkoagulasi atau mengumpul memadat menjadi bagian besar sehingga dapat dipisahkan dengan pemisahan.

Koloid tidak stabil adalah koloid yang dapat mengalami sedimentasi akibat adanya gaya yang terjadi antar partikel koloid. Gaya ini contohnya adalah gaya elektrostatis antar partikel yang dapat menyebabkan partikel mengalami agregasi dan membentuk flokulasi. Flokulasi adalah koloid yang tersuspensi dalam larutan namun tidak larut di dalam larutan. Agregasi dari koloid yang tidak stabil mengakibatkan terbentuknya sedimentasi. Sedimentasi dari agregasi koloid ini berlangsung dalam waktu yang lama tidak seperti sedimentasi dari suspensi.



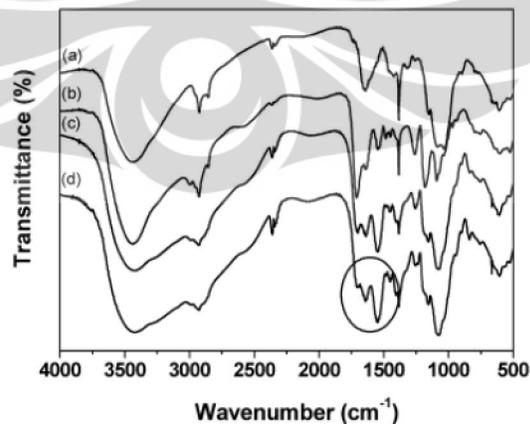
Gambar 2.14 Koloid stabil dan koloid tidak stabil

Sumber: "Ultrasound for characterizing colloids" Dukhin, 2002

## 2.7 Karakterisasi Nanopartikel Kitosan

### 2.7.1 FTIR

FTIR (Fourier Transform Infrared) merupakan metode analisis dengan memanfaatkan spektroskopi sinar infrared yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi kandungan gugus kompleks pada senyawa dengan melihat ikatan-ikatan yang dihasilkan. Pada FTIR radiasi infrared ditembakkan pada sampel. Sebagian dari radiasi infrared diserap oleh sampel dan sebagian lainnya diteruskan. Frekuensi dari suatu vibrasi akan menentukan spectrum yang dihasilkan dengan penggambaran transmittan. Dari spectrum ini lah dilihat ikatan-ikatan apa saja yang berubah maupun yang dihasilkan dari sampel.

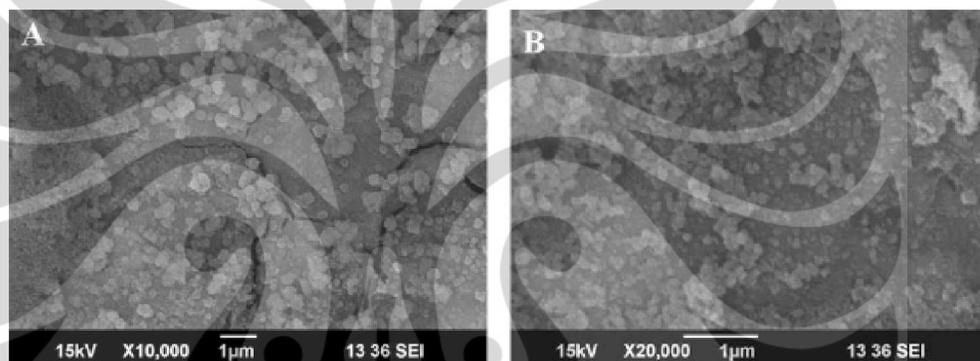


Gambar 2.15 Contoh spectrum FTIR nanopartikel kitosan-PMMA

Sumber: "Preparation of chitosan nanoparticles using methacrylic acid" Moura, 2008

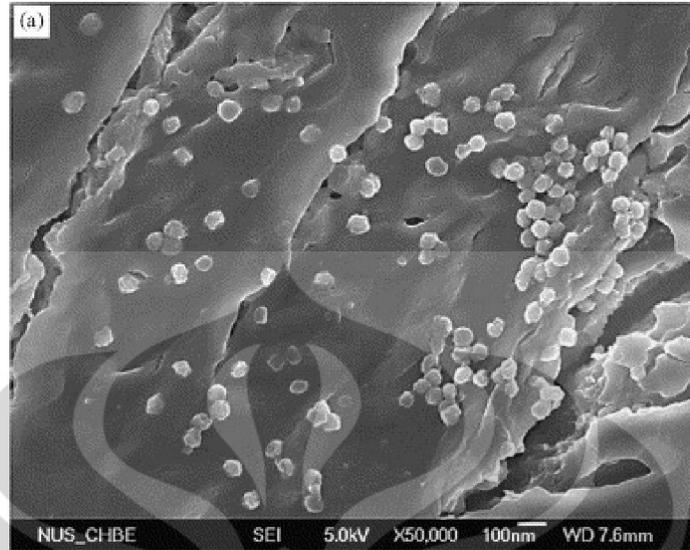
### 2.7.2 SEM

SEM (Scanning Electron Microscopy) adalah analisis untuk penggambaran sampel dengan perbesaran hingga puluhan ribu kali. Dengan analisis SEM dapat melihat ukuran partikel yang tersebar pada sampel. SEM bekerja dengan memanfaatkan elektron sebagai sumber cahaya untuk menembak sampel. Sampel yang ditembak akan menghasilkan penggambaran dengan ukuran hingga ribuan kali lebih besar (Fujita, 2000). Kitosan yang merupakan polielektrolit tidak membutuhkan pelapisan dengan konduktor dalam karakterisasi ini.



Gambar 2.16 Gambar SEM nanopartikel kitosan-PLA dengan perbesaran hingga 20000 kali

Sumber: "Preparation of poly(lactic acid) chitosan nanoparticles for anti-HIV drug" Dev, 2010

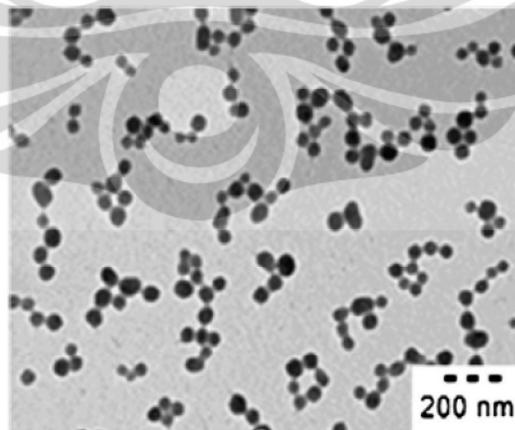


Gambar 2.17 Gambar FE SEM nanopartikel kitosan dengan FE SEM

Sumber: "Antibacterial and mechanical properties of bone cement impregnated with chitosan nanoparticles" Shi et al., 2005

### 2.7.3 TEM

TEM (Transmission Electron Microscopy) adalah teknik mikroskop dimana elektron ditransmisikan melalui specimen ultra tipis, berinteraksi dengan specimen dan dilewatkan. Gambar terbentuk dari interaksi antara transmisi elektron melewati specimen, gambar dibesarkan dan focus pada alat penggambaran. Analisis TEM dapat melihat perbesaran dengan resolusi tinggi diatas 500000 kali. Analisis ini dapat melihat perbesaran hingga kristal atau pun kolom atom suatu molekul.



Gambar 2.18 Contoh gambar hasil TEM nanopartikel kitosan-PMMA

Sumber: "Preparation of chitosan nanoparticles using methacrylic acid" Moura, 2008

## 2.8 Penelitian Terdahulu

Tabel 2.3 Ringkasan Penelitian Terdahulu

Peneliti & Tahun	Judul	Ringkasan Penelitian
Hsu, Don & Chiu (2001)	Free radical degradation of chitosan with potassium persulfate	Mendegradasi kitosan berat molekul tinggi menjadi berat molekul rendah dengan penambahan KPS pada suhu 70 °C selama satu jam. Penelitian ini memaparkan mengenai mekanisme reaksi degradasi kitosan oleh KPS.
Hsu, Don & Chiu (2002)	Synthesis of Chitosan Modified Poly(methyl methacrylate) by Emulsion Polymerization	Polimerisasi kitosan-PMMA dengan penambahan KPS menggunakan metode polimerisasi, orde reaksi degradasi dengan radikal bebas 0.83-.
Hu et al. (2002)	Synthesis and characterization of chitosan-poly(acrylic acid) nanoparticles	Preparasi kitosan nanopartikel-poliasam akrilat dengan mempolimerisasikan asam akrilat pada kitosan sebagai template. Dihasilkan ukuran partikel bervariasi 50 nm – 400 nm.

Lanjutan tabel 2.3

Prashanth & Tharanathan (2004)	Depolymerized products of chitosan as potent inhibitors of tumor-induced angiogenesis	Depolimerisasi kitosan dengan penambahan KPS menghasilkan kitosan berat molekul rendah dan kitooligosakarida.
Bodnar, Hartmann & Borbely (2005)	Preparation and Characterization of Chitosan-Based	Preparasi nanopartikel kitosan dengan <i>cross-linking</i> intramolekular kitosan dengan asam di- dan tri-

Universitas Indonesia

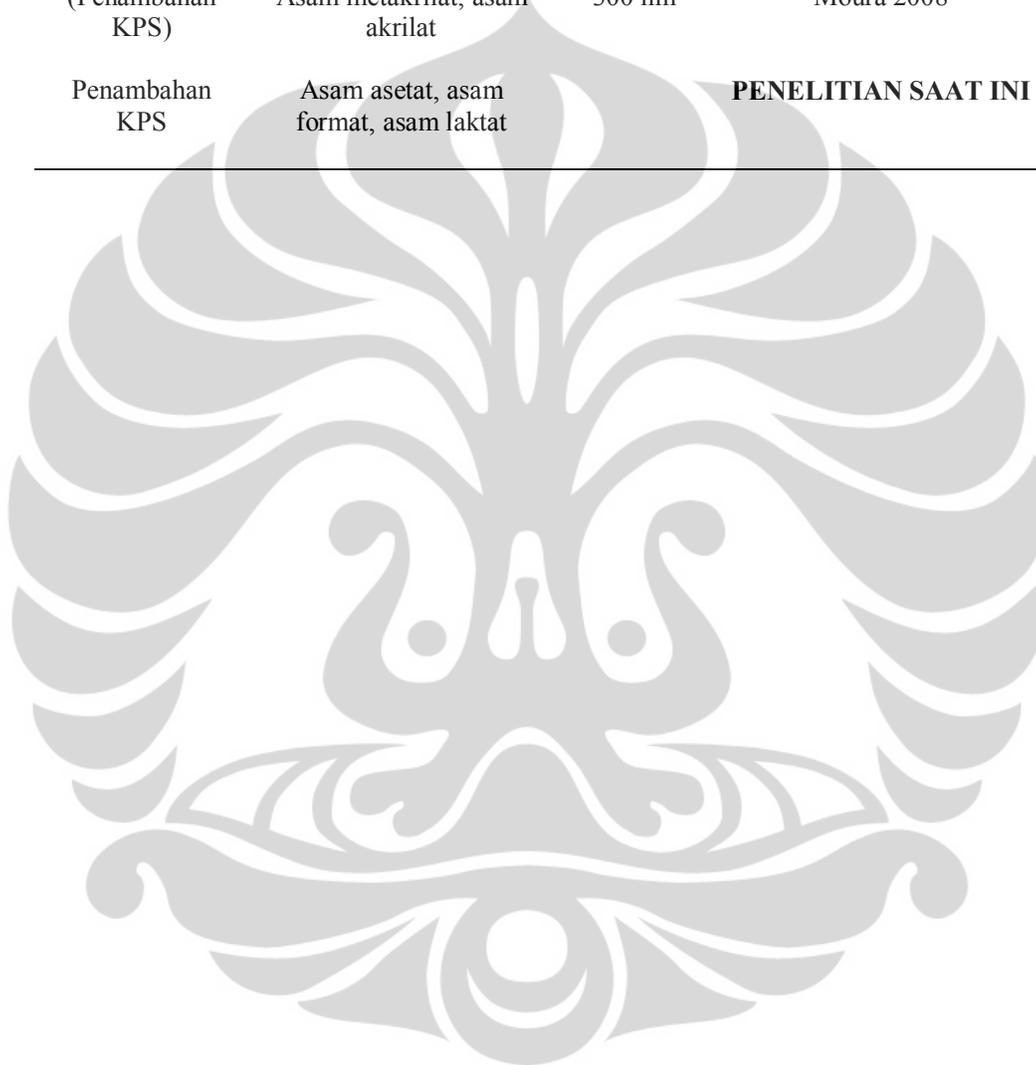
	Nanoparticles	karboksilat sebagai agen <i>cross-linking</i> . Hal ini memungkinkan karena gugus karboksil asam akan berikatan pada gugus amino kitosan satu sama lain sehingga terhubung membentuk nanopartikel.
Moura, Aouada & Mattoso (2008)	Preparation of chitosan nanoparticles using methacrylic acid	Preparasi kitosan nanopartikel-poliiasammetakrilat dengan mempolimerisasikan asam metakrilat pada kitosan sebagai template. Dihasilkan ukuran partikel hingga 170 nm dan partikel ukurannya uniform dari hasil TEM.
Al-Remawi (2012)	Properties of Chitosan Nanoparticles Formed Using Sulfate Anions as Crosslinking Bridges	Preparasi kitosan nanopartikel dengan memvariasikan berat molekul kitosan terlebih dahulu. Berat molekul kitosan dicekikan dengan HCl. Pereaksian ionik <i>cross-linking</i> dengan ion sulfat dilakukan dengan menambahkan sodium sulfat sebagai penyedia ion sulfat. Dihasilkan ukuran partikel bervariasi antara 100 nm – 500 nm.

Tabel 2.4 Pemetaan penelitian

Metode	Pelarut	Hasil	Peneliti dan Tahun
Koaservasi	Asam asetat	300 nm – 400 nm	Kumbar, 2002; Ozbas-Turan, 2002; Hao 2008
Ionik Gelasi	Asam asetat	100 nm - 500 nm	Calvao, 1997; Tokumitsu, 1999; Fishbein, 2000; Qi, 2004

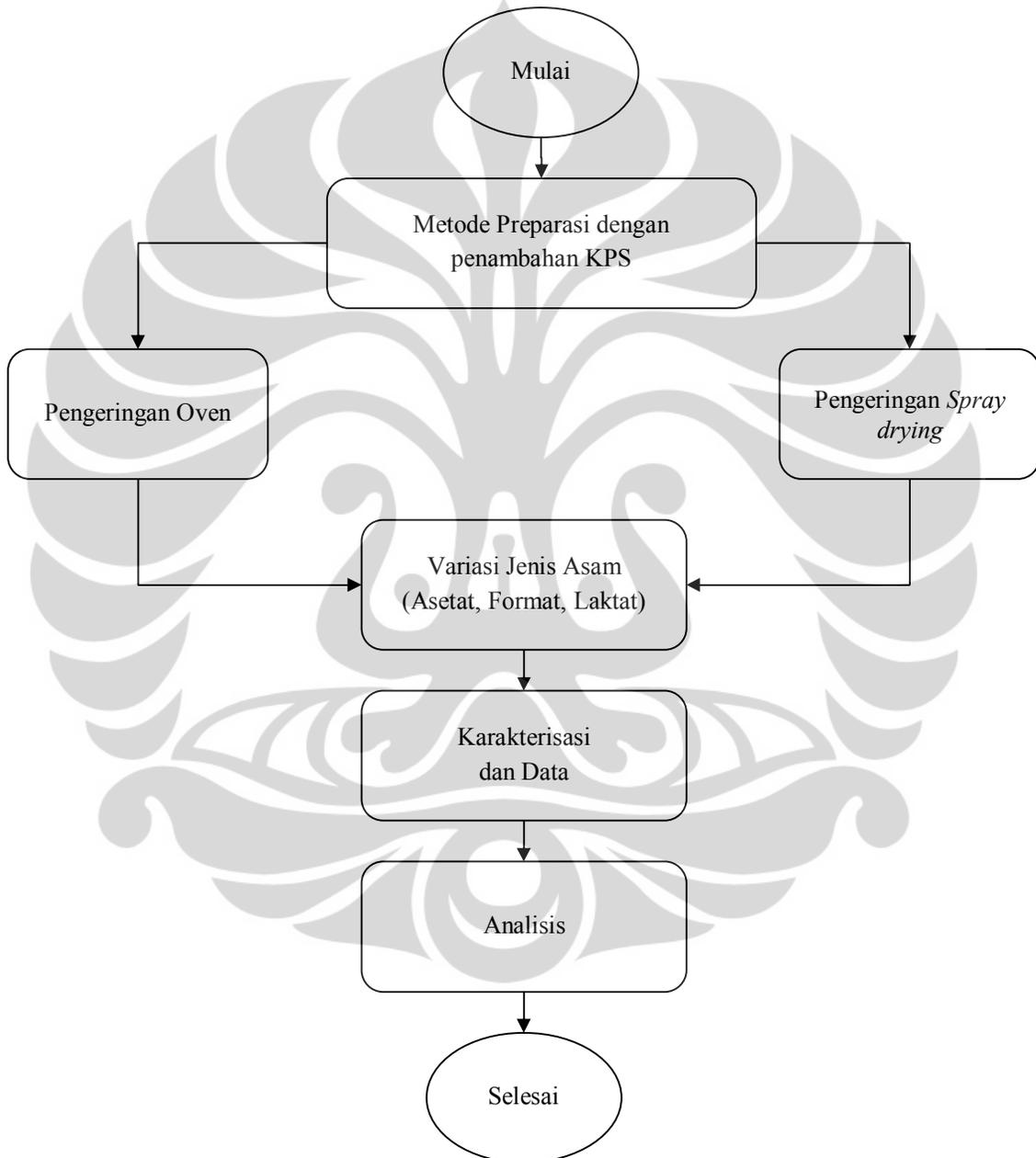
Spray Drying	Asam asetat	1 $\mu\text{m}$ - 3 $\mu\text{m}$	He 2005
Cross-Linking (Asam di & tri karboksilat)	Asam succinic, asam malic, asam tartaric, asam sitrat	60 nm - 270 nm	Bodnar 2005
Polimerisasi (Penambahan KPS)	Asam metilmetakrilat, Asam metakrilat, asam akrilat	60 nm – 300 nm	Hsu 2002, Hu 2002, Moura 2008
Penambahan KPS	Asam asetat, asam format, asam laktat		<b>PENELITIAN SAAT INI</b>

---



### BAB 3 METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

### 3.2 Alat dan Bahan

Alat:

- Beaker glass 250 ml
- Beaker glass 500 ml
- Cawan penguap 300 ml
- Cawan petri
- Constant temperature magnetic stirring
- Desikator
- Gelas ukur 10 ml dan 50 ml
- Kaca arloji
- Magnetic stirrer 3 cm
- Oven
- pH meter
- Pipet kaca dan plastik
- Sentrifuge
- Temperature magnetic stirring
- Termometer
- Timbangan digital
- *Spray Dryer*

Bahan:

- Kitosan Komersil (Cirebon, derajat deasetilasi 85%, BM 200 kDa)
- Asam Asetat (Merck, 98-100%, liquid)
- Asam Format (Merck, 100%, liquid)
- Asam Laktat (Purac, 98.9%, liquid)
- KPS atau  $K_2S_2O_8$  (Merck 100% pro analitis, Mr= 270 gr/mol, serbuk putih)
- NaOH (Merck, 100%, pelet putih)
- Aquades (Dwinika Kimia)
- Aseton (Dwinika Kimia)

### 3.3 Tempat Penelitian

Penelitian seluruhnya dilakukan di Laboratorium Rekayasa Produk dan Kimia Alam (RPKA) Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Karakterisasi sampel hasil penelitian dilakukan di lokasi lain.

### 3.4 Prosedur Penelitian

Preparasi nanopartikel kitosan dengan metode penambahan KPS

1. Menyiapkan aquades 100 ml dalam beaker glass
2. Menambahkan kitosan komersil seberat 3% wt ke dalam aquades
3. Menambahkan larutan asam ke dalam campuran kitosan dengan aquades
4. Mengaduk campuran diatas temperature magnetic stirring
5. Mengondisikan pH sistem campuran kitosan-aquades-asam hingga pH nya 4 sambil pengadukan dengan kecepatan tinggi hingga campuran homogen
6. Memanaskan campuran diatas temperature magnetic stirring hingga suhu 70 °C
7. Menambahkan padatan serbuk KPS ke dalam sistem campuran
8. Menjaga suhu operasi pada rentang 70 °C selama 45 menit pengadukan dengan kecepatan tinggi
9. Setelah 1 jam, sistem campuran dalam beaker glass diangkat dari temperature magnetic stirring dan langsung dimasukkan ke dalam bak berisi air dan es batu dengan suhu 5 °C lalu didiamkan selama satu jam
10. Hasil dari reaksi merupakan suspensi koloid yang kemudian disentrifuge dengan sentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 1 jam
11. Mengeringkan sedimentat dengan oven pada suhu 40 °C selama 3-5 jam
12. Mengerjakan langkah 1 sampai 11 untuk masing-masing variabel bebas secara terpisah
13. Selesai

#### 3.4.2 Variabel Penelitian

Variabel terikat:

1. Massa kitosan: 3% w/v (3 gram)

2. Volume aquades: 100 ml
3. pH sistem campuran: 4
4. Suhu pengadukan: 70 °C
5. Suhu pengeringan: 40 °C
6. Kecepatan sentrifuge: 3000 rpm

Variabel bebas	Asam Asetat	Asam Format	Asam Laktat
Penambahan KPS 0.6 mmol			
Penambahan KPS 1.2 mmol			
Penambahan KPS 1.8 mmol			
Penambahan KPS 2.4 mmol			
Penambahan KPS 3.0 mmol			



Gambar 3. 2 Rancangan alat penelitian dengan *hot plate magnetic stirrer*

#### 3.4.3 Preparasi nanopartikel kitosan dengan metode penambahan KPS dan pengeringan *spray drying*

1. Menyiapkan aquades 100 ml dalam beaker glass
2. Menambahkan kitosan komersil seberat 3% wt ke dalam aquades
3. Menambahkan larutan asam ke dalam campuran kitosan dengan aquades
4. Mengaduk campuran diatas temperature magnetic stirring

5. Mengondisikan pH sistem campuran kitosan-aquades-asam hingga pH nya 4 sambil pengadukan dengan kecepatan tinggi hingga campuran homogen
6. Memanaskan campuran diatas temperature magnetic stirring hingga suhu 70 °C
7. Menambahkan padatan serbuk KPS ke dalam sistem campuran sebanyak 1.8 mmol
8. Menjaga suhu operasi pada rentang 70 °C selama 45 menit pengadukan dengan kecepatan tinggi
9. Setelah 45 menit, sistem campuran dalam beaker glass diangkat dari temperature magnetic stirring dan langsung dimasukkan ke dalam bak berisi air dan es batu dengan suhu 5-10 °C lalu didiamkan selama 20 menit
10. Melakukan *spray drying* terhadap koloid hasil polimerisasi tersebut di Unit *Spray drying* Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila
11. Selesai

#### 3.4.4 Variabel Penelitian

Variabel terikat:

1. Massa Kitosan: 3 % w/v (3 gram)
2. Volume aquades: 100 ml
3. pH sistem campuran: 4
4. Suhu pengadukan: 70 °C
5. Penambahan KPS: 0.4 mmol
6. *Spray drying*: nozzle 3 µm, suhu 180 °C

---

Variabel Bebas:

---

Asam Asetat  
Asam Format  
Asam Laktat

---

Perhitungan Yield

$$Yield = \frac{\text{kitosan setelah pengeringan}}{\text{kitosan awal}} \times 100 \%$$

### 3.6 Karakterisasi

#### 3.6.1 FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

Karakterisasi dilakukan di Laboratorium Departemen Teknik Material dan Metalurgi Universitas Indonesia dengan alat FTIR Shimadze Spectroscopy. Alat FTIR berada pada suhu ruang dan tekanan atmosfer. Sampel kitosan serbuk disiapkan seberat 0.2 gram kemudian dimasukkan ke dalam plat.

#### 3.6.2 FE SEM (*Field Emission Scanning Electron Microscopy*)

Karakterisasi FE SEM dilakukan di Laboratorium Departemen Teknik Material dan Metalurgi Universitas Indonesia dengan alat EDAX FE SEM. Sampel disiapkan dengan menaruh sampel pada carbon tape yang ditempelkan pada plat. Plat kemudian dimasukkan ke dalam alat FE SEM dan ditembakkan dengan electron untuk penggambaran hingga perbesaran diatas 500000 kali.

#### 3.6.3 PSA (*Particle Size Analyzer*)

Karakterisasi dilakukan di laboratorium analisis dengan alat PSA. Sampel dimasukkan ke dalam dispersan berupa aquades pH 7 lalu ditempatkan di dalam kuvet sebanyak 3 ml. Kuvet kemudian ditembakkan sinar tampak sehingga terjadi difraksi. Pengukuran ukuran partikel memanfaatkan prinsip penghamburan cahaya tampak ini.

## **BAB 4**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada bab 4 akan dibahas mengenai karakterisasi dan analisis mengenai hasil preparasi partikel kitosan. Ada 3 karakterisasi utama yang dilakukan yaitu FTIR, FE SEM dan PSA. Karakterisasi FTIR dilakukan pertama untuk melihat perubahan ikatan dan gugus yang ada dari partikel. Dari analisis FTIR dapat diterangkan mekanisme reaksi yang terjadi sehingga partikel tersebut terbentuk. Karakterisasi yang paling fundamental adalah karakterisasi ukuran partikel yang dijalankan dengan FE SEM dan PSA. FE SEM dijalankan pada sampel kering sedangkan PSA dijalankan dengan mendispersikan partikel di dalam aquades.

#### **4.1 Proses Sintesis Nanopartikel kitosan**

Dengan proses depolimerisasi campuran ditambahkan dengan KPS. Setelah penambahan KPS campuran dipanaskan dan dijaga suhunya pada 70 °C selama 45 menit. Selama satu jam ini KPS akan bereaksi dengan larutan kitosan dalam asam. Setelah satu jam warna larutan akan berubah dari agak kuning menjadi kuning yang lebih gelap. Setelah satu jam, sistem campuran di dalam beaker glass diangkat dan dimasukkan ke dalam baskom berisi air es untuk proses pendinginan. Pendinginan dilakukan untuk memberhentikan reaksi KPS terhadap kitosan. Proses pendinginan merupakan perlakuan terpenting dari pereaksian ini. Jika proses pendinginan tidak dilakukan maka KPS akan terus bereaksi dengan kitosan sehingga kitosan akan terdegradasi. Pendinginan memungkinkan pembentukan partikel kitosan dari larutan homogen membentuk suspensi koloid. Setelah itu suspensi disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama satu jam. Hasilnya didapatkan pasta putih. Pasta kemudian dikeringkan dengan oven pengering pada suhu 40 °C selama 3-4 jam. Hasilnya didapatkan partikel kitosan serbuk halus.



Gambar 4.1 Dari kiri ke kanan: sistem pada awal reaksi, sistem pada menit ke 45, sistem setelah pendinginan

#### 4.2 Hasil Pengeringan Oven

Tabel 4.1 Hasil preparasi pada pelarut asam asetat

Massa	Penambahan KPS				
	0.6 mmol	1.2 mmol	1.8 mmol	2.4 mmol	3.0 mmol
Partikel	0.6 mmol	1.2 mmol	1.8 mmol	2.4 mmol	3.0 mmol
Asam Asetat	Tidak ada	Tidak ada	0.24 gram	0.33 gram	0.85 gram
Yield	Tidak ada	Tidak ada	8%	11%	28%

Tabel 4.2 Hasil preparasi pada pelarut asam laktat

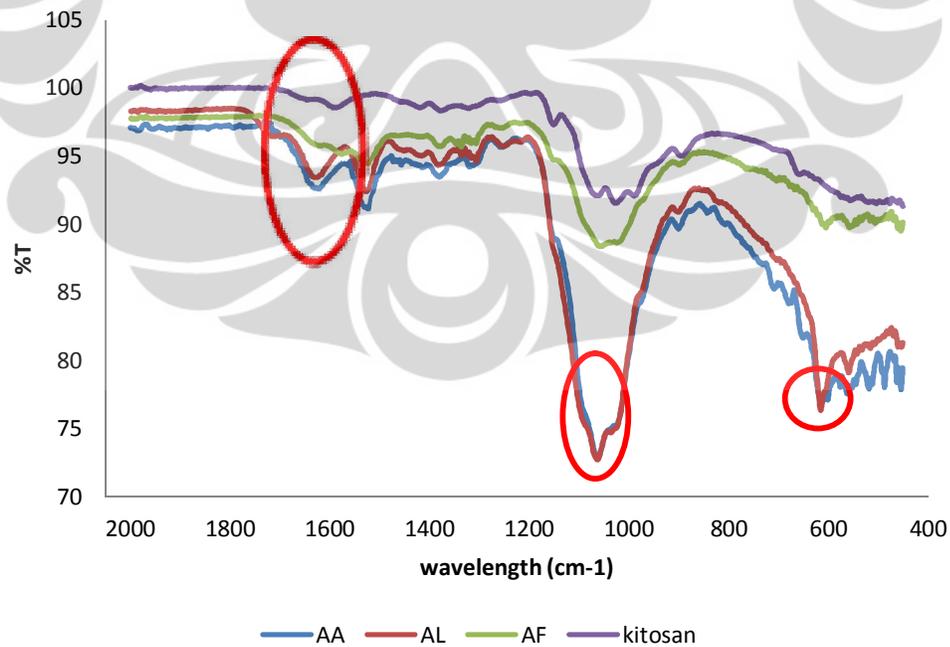
Massa	Penambahan KPS				
	0.6 mmol	1.2 mmol	1.8 mmol	2.4 mmol	3.0 mmol
Partikel	0.6 mmol	1.2 mmol	1.8 mmol	2.4 mmol	3.0 mmol
Asam Laktat	Tidak ada	Tidak ada	0.62 gram	1.04 gram	1.71 gram
Yield	Tidak ada	Tidak ada	21%	35%	57%

Tabel 4.3 Hasil preparasi pada pelarut asam format

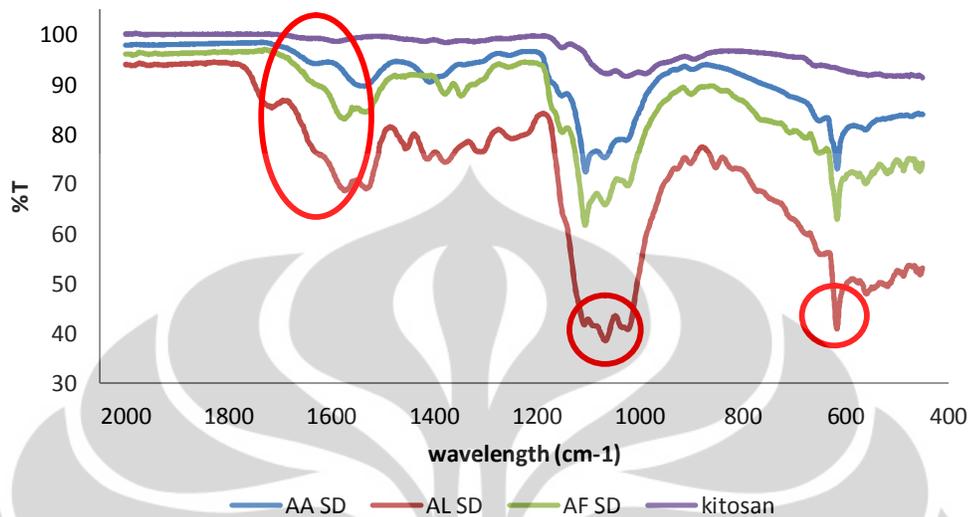
Massa Partikel	Penambahan KPS				
	0.6 mmol	1.2 mmol	1.8 mmol	2.4 mmol	3.0 mmol
Asam Format	Tidak ada	0.9 gram	1.11 gram	1.24 gram	2.07 gram
Yield	Tidak ada	30%	37%	41%	69%

4.2.1 Hasil Pengeringan *Spray drying*Tabel 4.4 Hasil preparasi pada pengeringan dengan *spray drying*

Massa Partikel	Jenis Asam		
	Asam Asetat	Asam Laktat	Asam Format
Penambahan KPS 1.8 mmol	2.26 gram	2.35 gram	2.37 gram
Yield	75%	78%	79%

4.3 Hasil Karakterisasi FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

Gambar 4.2 Grafik FTIR pengeringan oven

Gambar 4.3 Grafik FTIR *spray drying*

Hasil karakterisasi FTIR menunjukkan absorpsi yang lebar diatas 3500 cm-1, berpusat di 3400 cm-1 mengindikasikan tidak adanya ikatan –OH bebas adanya ikatan hidrogen –OH intra- dan intermolekular yang disebabkan oleh hubungan gugus hidroksil –OH dan hidrosimetil –CH<sub>2</sub>OH di kitosan. Ikatan nanopartikel kitosan berbeda dengan kitosan komersil. Pada nanopartikel kitosan absorpsi ikatan amide I dan amide II ditemukan pada 1629 cm-1 dan 1525 cm-1 dibandingkan kitosan pada 1654 cm-1 dan 1596 cm-1. Namun ditemukan pergeseran ikatan amide dari kitosan rantai panjang menjadi rantai pendek.

Hasil FTIR juga menunjukkan peran asam dalam kitosan. Dengan profil FTIR yang menunjukkan absorpsi serupa satu sama lain, hal ini menunjukkan peran asam dalam reaksi preparasi nanopartikel kitosan. Asam tidak berikatan intra- dan intermolecular- seperti pada penelitian Bodnar tahun 2005 dengan asam di- dan tri- karboksilat. Grafik FTIR juga tidak menunjukkan pembentukan polimer baru seperti pada penelitian Moura tahun 2008. Hal ini menunjukkan bahwa kitosan tidak

berpolimerisasi dengan asam. Dapat disimpulkan bahwa asam hanya bertindak sebagai donor proton yang dapat melarutkan kitosan.

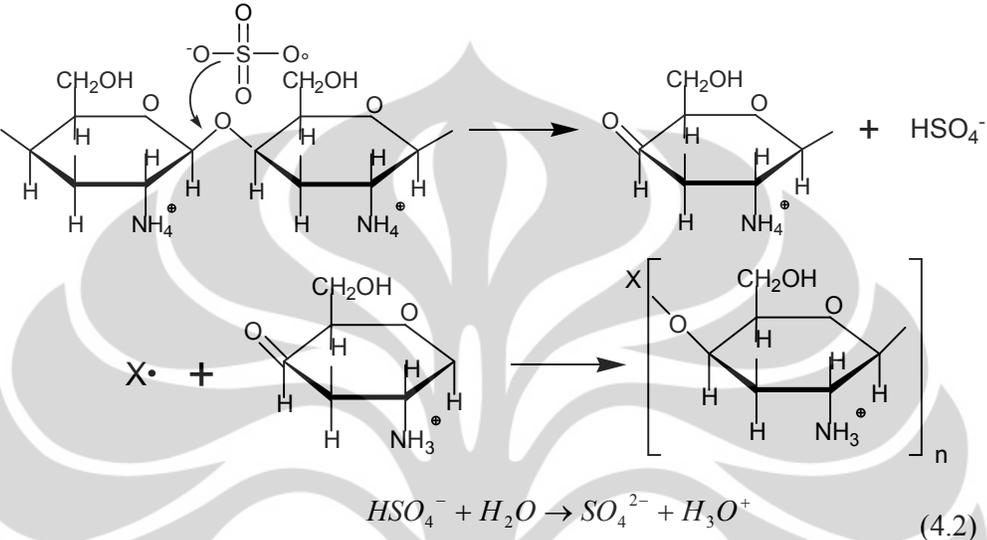
Ion sulfat ditemukan puncak pada 1123  $\text{cm}^{-1}$  dan 615  $\text{cm}^{-1}$  (Periasamy et al., 2009). Kitosan sulfat dapat dilihat dari pengamatan kedua puncak ini. Dari grafik FTIR diatas terlihat puncak sulfat pada nanopartikel kitosan hasil preparasi di semua jenis asam. Gugus amino di kitosan ditandai dengan puncak pada 1590  $\text{cm}^{-1}$ . Namun pada kitosan sulfat ditemukan gugus amino pada 1635  $\text{cm}^{-1}$ , mengalami pergeseran ke panjang gelombang yang lebih panjang. Hal ini mengindikasikan interaksi dengan anion sulfat yang mengakibatkan batasan bengkokan gugus N-H. Telah dilaporkan bahwa pergeseran ikatan N-H ke panjang gelombang lebih tinggi ini diakibatkan ikatan hidrogen. Karena pergeseran ini juga dijelaskan untuk kitosan sulfat, maka hal ini juga menguatkan analisis mengenai ikatan ionik antara gugus amine primer kationik kitosan dengan anion sulfat. Oleh karena itu menunjukkan adanya reaksi *cross-linking* antara ion sulfat dengan ammonium ( $\text{SO}_4^{2-}$  dengan  $\text{NH}_3^+$ ). Ditemukannya ikatan C=O pada serapan 1680-1750 menandakan partikel kitosan yang terbentuk mengandung asam karboksilat. Asam ini mengakibatkan keasaman partikel kitosan yang lebih asam daripada kitosan sebelumnya. pKa kitosan adalah 6.4, pKa nanopartikel kitosan dibawah 6.4.

Tabel 4.5 Ikatan-ikatan pada FTIR

Ikatan	Literatur	Nanopartikel kitosan
S-O	615	610
S-O	1123	1100
N-H	1590	1635
C-O-C	1150	1150
Amide I	1629	1654
Amide II	1525	1596
C=O	1680-1750	1680

4.4 Mekanisme Reaksi

4.4.1 Reaksi Depolimerisasi



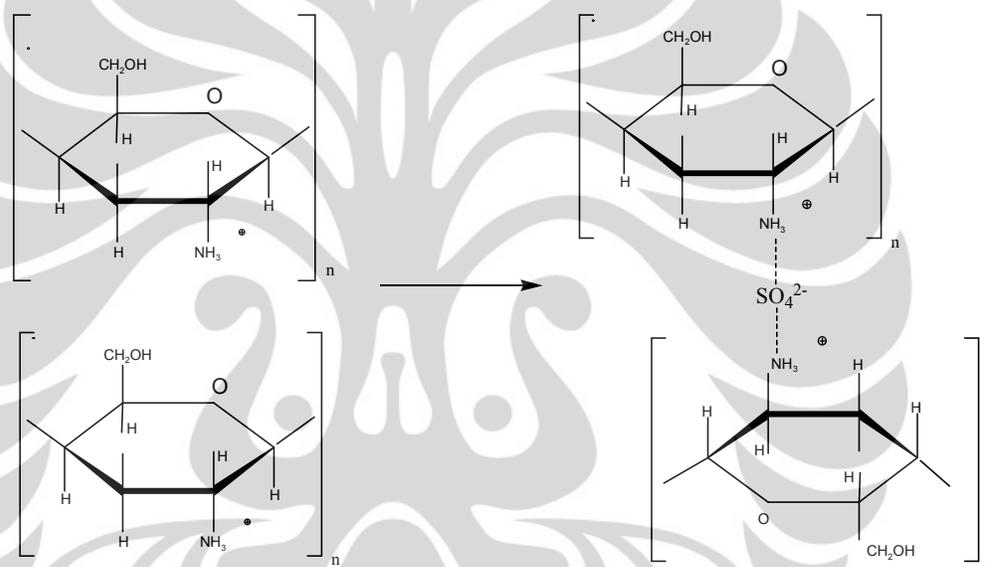
Gambar 4.4 Mekanisme depolimerisasi kitosan oleh ion persulfate

Ion persulfate dalam campuran akan terdisosiasi secara termal menjadi ion sulfat radikal. Ion radikal ini akan menyerang ikatan C-O-C pada kitosan rantai panjang. Ion radikal akan mentransfer radikal ke karbon C dengan menyerap gugus H dari ikatannya. Keberadaan dari ion radikal pada karbon C mengakibatkan ikatan C-O-C antar monomer kitosan terputus dan radikal  $SO_4^{\bullet -}$  terbentuk menjadi ion bisulfat  $HSO_4^-$ . Penyerapan gugus H mengakibatkan ikatan C-O-C terputus membentuk 2 ikatan oligomer yang satu dengan ion radikal pada satu ujungnya dan oligomer yang satu lagi dengan gugus karbonil pada ujungnya. Pendeaktivasian ion radikal akan berlangsung apabila ion radikal bebas atau pun oligomer radikal bertabrakan dengan gugus karbonil dari oligomer kitosan yang sebelumnya terputus. Tabrakan ini membentuk polimer baru dengan rantai molekul yang lebih pendek.

Depolimerisasi berlangsung selama pemanasan berlangsung secara acak. Depolimerisasi pada pengamatan reaksi ditandai dengan

menurunnya viskositas campuran dari campuran awal hingga pada menit ke 10. Depolimerisasi dipengaruhi oleh penambahan KPS sebagai inisiator disosiasi termal. Penurunan viskositas dapat dijadikan acuan terjadinya depolimerisasi dari persamaan Mark-Houwink  $\eta = KM_v^{0.89}$ . Viskositas larutan berbanding lurus dengan berat molekul larutannya. Dari pengamatan didapatkan larutan kitosan yang kental pada awal reaksi menjadi encer dari menit ke 10. Hal ini sesuai dengan penelitian Hsu pada 2001 dimana degradasi dimulai pada menit ke 10 reaksi.

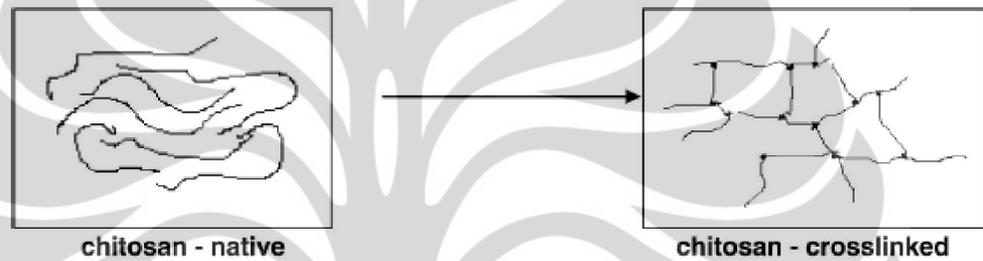
#### 4.4.2 Reaksi *Cross-linking* dengan Ion Sulfate



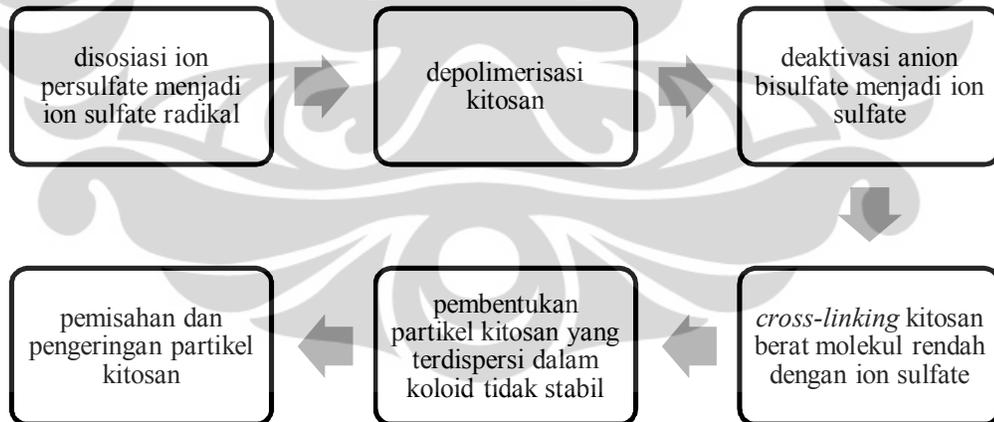
Gambar 4.5 Mekanisme reaksi *cross-linking* kitosan berat molekul rendah dengan ion sulfat

Reaksi ionik *cross-linking* berperan dalam pembentukan partikel kitosan dari larutan menjadi partikel karena gugus amino pada kitosan berikatan silang dengan gugus amino kitosan lain yang terhubung oleh ion sulfat  $\text{SO}_4^{2-}$ . Pengikatan ini disebut jembatan sulfat. Ikatan saling silang dapat terjadi karena prosedur pendinginan secara tiba-tiba yang dilakukan pada preparasi. Pendinginan mengakibatkan pembentukan ion sulfat dari hasil deaktivasi ion radikal sulfat.

Kitosan yang telah terdepolimerisasi memiliki rantai molekul lebih pendek dibandingkan kitosan komersil. Pembentukan nanopartikel dengan metode *bottom-up* ini menghasilkan nanopartikel yang lebih kecil dibandingkan kitosan berat molekul tinggi. Partikel yang terbentuk dari susunan polimer kitosan berat molekul rendah akan menghasilkan partikel lebih kecil ketika direaksikan dengan ion sulfat pada ionik *cross-linking*. Formasi pembentukan kitosan nanopartikel diamati secara sederhana dengan peningkatan turbiditas koloid setelah reaksi *cross-linking* dengan ion sulfat.



Gambar 4.6 Skema pembentukan rantai lurus larutan kitosan menjadi partikel kitosan *cross-linked* ion sulfat



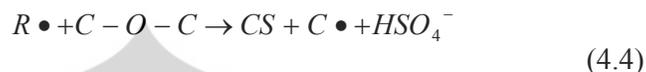
Gambar 4.7 Skema sederhana preparasi nanopartikel kitosan nanopartikel dengan penambahan KPS

#### 4.5 Analisis Hasil dan Reaksi

Inisiasi:



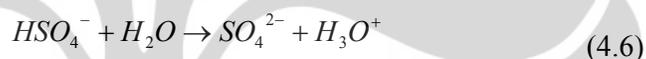
Degradasi:



Inhibisi atau terminasi:



Pembentukan ion sulfat:



Keterangan:

I: inisiator

R•: ion radikal  $SO_4^-$

C•: oligomer kitosan terdegradasi radikal

CS: kitosan

C-O-C: rantai penghubung ikatan antar monomer kitosan pada gugus C ujung

Pada pelarutan kitosan dengan asam asetat, penambahan KPS menghasilkan koloid pada penambahan KPS 1.8 mmol pada 3 gram kitosan. Pada penambahan KPS 1.2 mmol dan 0.6 mmol larutan tetap jernih tidak membentuk turbiditas setelah pendinginan. Turbiditas larutan dijadikan acuan ada atau tidaknya partikel yang terdispersi di dalam larutan (Hu, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa KPS yang bereaksi dengan kitosan tidak cukup untuk mendegradasi kitosan dan penyediaan ion sulfat. Meningkatnya penambahan KPS mengakibatkan lebih banyak nanopartikel kitosan yang dihasilkan karena penambahan KPS membuat kitosan dapat didegradasi dan ion sulfat yang terbentuk lebih banyak. Hal ini berlangsung menyerupai reaksi berantai. Pembentukan ion sulfat bertambah seiring terdegradasinya kitosan karena ion

bisulfate terbentuk dari hasil penyerangan radikal bebas  $\text{SO}_4^-$  ke ikatan C-O-C pada kitosan. Namun penambahan KPS yang berlebihan juga mengakibatkan campuran membentuk presipitat, presipitat mengindikasikan partikel berukuran besar karena partikel mengalami agregasi dari suspensi yang tidak stabil. Hal ini erat kaitannya dengan teori koloid stabil dan koloid tidak stabil. Koloid yang tidak stabil mengakibatkan partikel mengalami agregasi dan flokulasi.

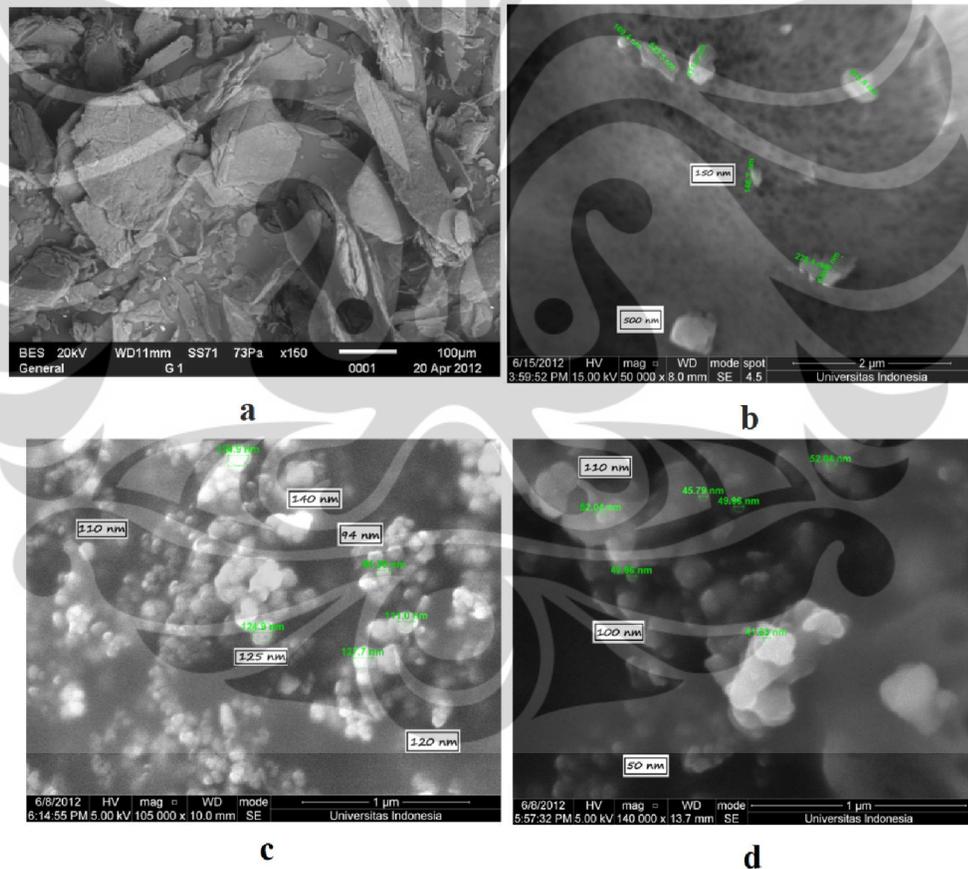
Dari hasil reaksi nanopartikel kitosan dengan metode pengeringan oven didapatkan bahwa asam format menghasilkan konversi yang lebih tinggi dibandingkan dengan asam laktat dan asam asetat. Sebagai acuan diambil pengamatan pada penambahan KPS pada 3.0 mmol, asam format menghasilkan yield hingga 69%, asam laktat 57%, asam asetat 28%. Perbedaan ini dapat dihubungkan dengan kemampuan kitosan terprotonasi dalam larutan. Kuat asam memegang peran penting. pKa dari asam format sebesar 3.77 lebih tinggi dibandingkan dengan asam laktat 3.86 dan asam asetat 4.79. Asam laktat memiliki ikatan hidrogen intramolekular yang lemah antara gugus karboksil dan hidroksil nya yang mengakibatkan kekuatan protonasi asam laktat lebih tinggi sepuluh kali lipat dibandingkan asam asetat. Dengan pH sistem campuran yang sama yakni pH 4, maka penambahan asam asetat sebanyak 87.5 mmol, asam laktat 35.7 mmol dan asam format 26 mmol. Hal ini membuktikan bahwa semakin sedikit asam yang ditambahkan semakin tinggi konversi nanopartikel kitosan, namun pH campuran harus tetap dipertahankan pada pH 4 karena sesuai dengan penelitian Hsu pada 2001 reaksi dapat berlangsung optimal pada pH sistem 4.

Dari pengeringan hasil *spray drying* dihasilkan konversi pada asam asetat 75%, asam laktat 78% dan asam format 79%. Pemisahan dengan *spray drying* menghasilkan konversi yang tidak jauh berbeda pada setiap asam, hal ini terjadi karena pemisahan koloid berlangsung sempurna dengan menguapkan pelarut pada suhu 170 °C dengan udara panas. *Spray drying* dilakukan karena konversi dari pengeringan oven yang dianggap sangat sedikit. Kitosan yang dikeringkan dengan *spray drying* sebelumnya ditambahkan 1.8 mmol KPS ke dalam 3% berat kitosan dalam larutan asam. Sedangkan pada pengeringan

oven dengan penambahan KPS 1.8 mmol didapatkan konversi sebesar 8% pada asam asetat, 21% pada asam laktat dan 37% pada asam format. Konversi ini sangat jauh berbeda dibandingkan dengan pengeringan *spray drying*. Oleh karena itu lah *spray drying* dilakukan. Namun ukuran konversi tidak mempengaruhi ukuran partikel kitosan. *Spray drying* dilakukan dengan atomisasi koloid melewati nozzle berukuran 3  $\mu\text{m}$ . Ukuran partikel dari masing-masing asam pada setiap pengeringan akan dikarakterisasi dengan FE SEM dan PSA.

#### 4.6 Hasil Karakterisasi FE SEM (*Field Emission Scanning Electron Microscopy*)

##### 4.6.1 Pengeringan Oven



Gambar 4.8 Hasil FE SEM nasdnopartikel kitosan dengan pengeringan oven a) kitosan komersil b) asam asetat c) asam laktat d) asam format

Dari hasil FE SEM dapat dilihat ukuran yang dihasilkan oleh masing-masing asam. Pada asam asetat dihasilkan ukuran partikel kitosan yang besar bervariasi antara 150 nm – 500 nm. Pada asam laktat dihasilkan ukuran partikel bervariasi antara 94 nm – 140 nm. Morfologi partikel kitosan yang dihasilkan bulat-bulat bertumpuk. Pada asam format ukuran partikel bervariasi antara 50 nm – 110 nm.

Morfologi partikel kitosan yang terbentuk terlihat berbeda dari kitosan awal. Kitosan awal memiliki gambaran lembaran-lembaran besar sedangkan nanopartikel kitosan yang dihasilkan berbentuk bulat.

Tabel 4.6 Distribusi ukuran partikel kitosan pada pengeringan oven dengan karakterisasi FE SEM

Variasi asam	Ukuran partikel
Asam asetat	150 nm – 500 nm
Asam laktat	94 nm – 140 nm
Asam format	50 nm – 110 nm

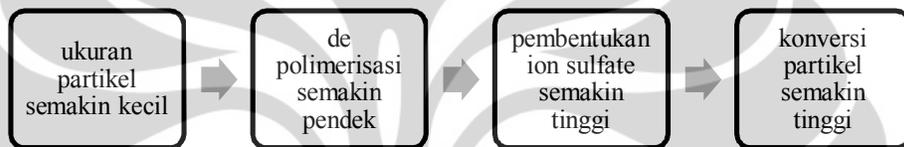
Dari perbandingan ukuran partikel, preparasi menggunakan asam asetat tidak sebaik pada asam laktat dan asam format. Pada penelitian Al-Remawi tahun 2012 memaparkan mengenai perbedaan ukuran partikel yang dihasilkan dari kitosan dengan perbedaan berat molekul. Semakin rendah berat molekul kitosan semakin kecil ukuran partikelnya.

Oleh karena itu dapat diambil keterkaitan dari penelitian sebelumnya dengan hasil FE SEM dari penelitian ini. Depolimerisasi pada asam asetat tidak berjalan sebaik pada asam laktat dan asam format. Dapat disimpulkan bahwa preparasi menggunakan asam format menghasilkan rantai molekul kitosan dengan berat molekul lebih rendah dibandingkan dengan asam laktat dan asam asetat.

Dapat dilihat kembali mengenai konversi partikel yang dihasilkan di subbab sebelumnya. Preparasi menggunakan asam format menghasilkan konversi paling tinggi hingga 37% dibandingkan pada asam laktat 21% dan pada asam asetat 8% pada penambahan KPS 1.8 mmol. Hal ini

menandakan konversi berbanding terbalik dengan penurunan ukuran partikel. Semakin tinggi konversi semakin kecil ukuran partikelnya.

Pada asam asetat ditambahkan 87.5 mmol asam asetat, sedangkan pada asam laktat sebanyak 35.7 mmol dan asam format 26 mmol. Karena peran asam dalam preparasi nanopartikel kitosan adalah sama yakni sebagai donor proton gugus amino maka dapat disimpulkan bahwa semakin banyak konsentrasi asam yang ditambahkan semakin besar ukuran partikel yang dihasilkan karena depolimerisasi kitosan semakin menghasilkan kitosan dengan berat molekul lebih tinggi.



Gambar 4.9 Skema sederhana hubungan konversi dan ukuran partikel

#### 4.6.2 Pengeringan *Spray drying*

Pada pengeringan dengan *spray drying* dihasilkan partikel kitosan yang besar pada masing-masing asam. *Spray drying* dilakukan dengan mengatomisasikan koloid melewati nozzle berukuran 3 mikron di dalam ruang dengan udara panas sehingga partikel padatan segera terbentuk dan pelarut air segera menguap akibat udara panas. Karena atomisasi ini ukuran partikel kitosan dari pengeringan *spray drying* dipengaruhi oleh ukuran nozzle atomisasi yang digunakan. Partikel yang terbentuk dari pengeringan dipisahkan dengan cyclone dan dikumpulkan di wadah dibawahnya.

Partikel yang terbentuk dari *spray drying* memiliki bentuk yang berkerut seperti pada hasil FE SEM diatas. Hal ini dikarenakan adanya evaporasi pelarut yang sangat cepat dan pembentukan kulit luaran selama tahapan awal pengeringan. Setelah kulit luaran ini terbentuk, pelarut yang terperangkap di dalam droplet terevaporasi menghasilkan kerutan pada morfologi partikel.

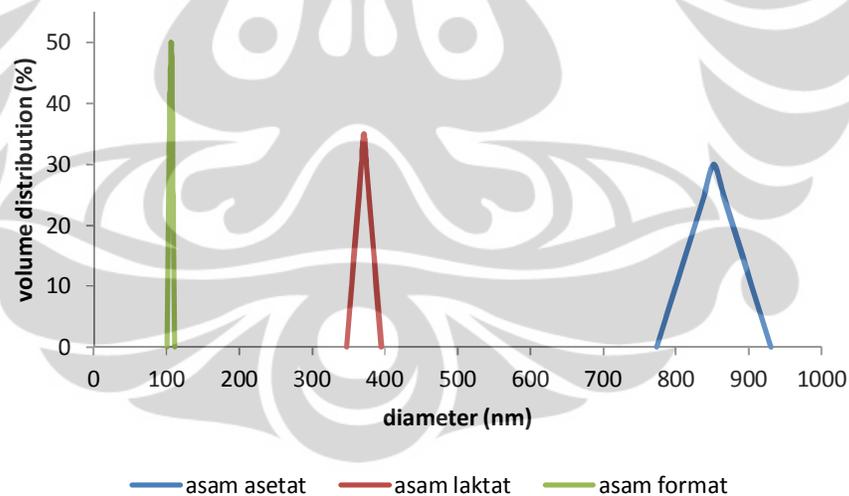


Ukuran nozzle dari alat *spray drying* memberikan pengaruh yang signifikan pada pembentukan partikel. Namun hasil ini sudah lebih baik dari penelitian He pada tahun 1999 menghasilkan ukuran partikel kitosan dari *spray drying* yang di *cross-linking* dengan TPP dengan kitosan berat molekul tinggi 664 kDa sebesar 1  $\mu\text{m}$ . Hal ini membuktikan pengaruh metode preparasi pada ukuran partikel. Dengan penambahan KPS menghasilkan kitosan dengan berat molekul rendah akibat adanya reaksi polimerisasi dan ionik *cross-linking* menghasilkan partikel terdispersi dalam suspensi yang lebih kecil dibandingkan dengan metode sebelumnya.

#### 4.7 Karakterisasi PSA

PSA dilakukan untuk mengetahui ukuran partikel kitosan dengan metode menembakkan cahaya ke sampel yang didispersikan dalam media air. Hasil PSA dapat dilihat di gambar 4.11 dan 4.12. Dari gambar dapat dilihat kecenderungan persebaran partikel kitosan pada masing-masing asam dari pengeringan oven dan *spray drying*.

Pengeringan Oven



Gambar 4.11 Grafik perbandingan karakterisasi PSA preparasi nanopartikel kitosan pengeringan oven

Pada pengeringan oven dari didapatkan persebaran partikel kitosan pada asam asetat 780 nm – 940 nm, pada asam laktat 350 nm – 400 nm dan

pada asam format 100 nm – 110 nm. Hasil PSA ini mengindikasikan ukuran dan keseragaman partikel. Ukuran paling baik diraih pada asam format dengan penyebaran partikel yang sempit, homogenitas partikel sangat baik. Asam laktat memiliki penyebaran yang lebih baik dibandingkan dengan asam asetat.

Tabel 4.8 Distribusi ukuran partikel kitosan pada pengeringan oven dengan karakterisasi PSA

Variasi asam	Ukuran partikel
Asam asetat	780 nm – 940 nm
Asam laktat	350 nm – 400 nm
Asam format	100 nm – 110 nm

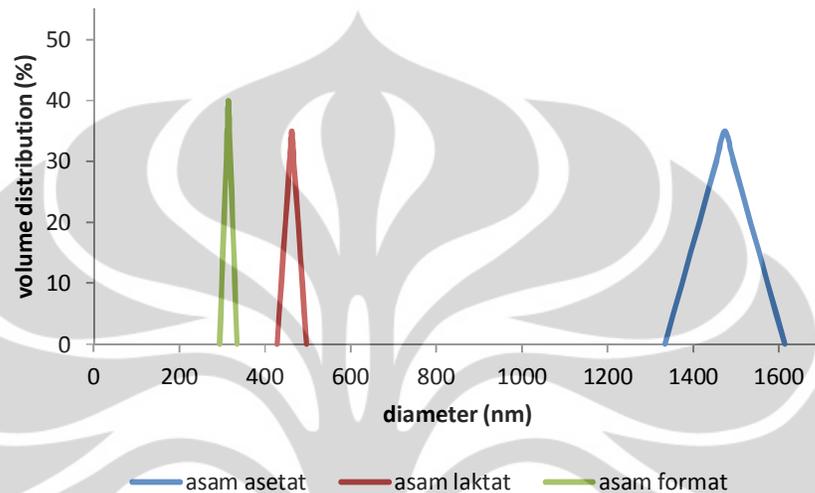
Hasil ini dapat dikaitkan dengan penelitian Fan pada 2012 dimana Fan berhasil mempersempit distribusi penyebaran ukuran partikel dengan menurunkan konsentrasi pelarut asam asetat dan menurunkan suhu sekitar pada saat reaksi cross-linking. Pada penelitian ini penambahan konsentrasi asam format paling sedikit dibandingkan dengan asam laktat dan asam asetat.

Penambahan 87.5 mmol pada asam asetat, sedangkan pada asam laktat sebanyak 35.7 mmol dan asam format 26 mmol. Suhu sekitar reaksi cross-linking juga diturunkan akibat penghentian reaksi dengan memasukkan sistem ke dalam wadah es untuk reaksi cross-linking dengan asam sulfat. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa penurunan penambahan konsentrasi asam dan penurunan suhu reaksi cross-linking menyebabkan penyempitan penyebaran ukuran partikel.

Pada sistem polidispersi, nanopartikel yang lebih besar cenderung memiliki kemampuan kapasitas loading obat lebih baik sedangkan nanopartikel yang lebih kecil memiliki kemampuan efisiensi lebih tinggi dalam penghantaran obat melalui jaringan atau sel (Prabha, 2002). Kontradiksi ini menandakan walaupun loading obat baik namun efisiensi penghantarannya tidak baik. Penyebaran ukuran partikel yang sempit lebih

diutamakan untuk meningkatkan utilisasi efisiensi obat khususnya untuk aplikasi yang sangat dipengaruhi oleh ukuran partikel seperti penghantaran gen atau penghantaran obat via rute mukosa (Zhang, 2004).

#### 4.1.2 Pengeringan *Spray Drying*



Gambar 4.12 Grafik perbandingan karakterisasi PSA preparasi nanopartikel kitosan pengeringan *spray drying*

Sedangkan dari hasil pengeringan *spray drying* PSA partikel pada asam format berukuran 300 nm - 330 nm, pada asam laktat 420 nm - 490 nm, dan pada asam asetat 1350 nm - 1610 nm. Profil ukuran dan penyebaran partikel serupa seperti pada pengeringan oven dimana pada asam format memiliki ukuran dan penyebaran partikel lebih baik dibandingkan dengan asam laktat dan asam asetat.

Tabel 4.9 Distribusi ukuran partikel kitosan pada pengeringan spray drying dengan PSA

Variasi asam	Ukuran partikel
Asam asetat	1350 nm – 1610 nm
Asam laktat	420 nm – 490 nm
Asam format	300 nm – 330 nm

Satu hal yang dapat dilihat perbedaannya dari hasil karakterisasi FE SEM dan PSA adalah ukuran partikel pada PSA lebih besar. Hal ini terjadi akibat adanya agregasi dan *swelling* dari partikel kitosan. Karakterisasi PSA dilakukan dengan mendispersikan partikel di dalam aquades dengan pH 7. Namun karakterisasi PSA memiliki kelebihan dengan dapat melihat jumlah sampel lebih banyak dan dapat melihat kecenderungan keseragaman partikel hasil preparasi.

Agregasi dapat terjadi seiring dengan meningkatnya nilai pH karena gugus positif  $\text{NH}_3^+$  dari kitosan terikat dengan gugus  $\text{OH}^-$  menarik  $\text{H}^+$  berlebih dari  $\text{NH}_3^+$  membentuk  $\text{NH}_2$ . Kehilangan muatan partikel mengakibatkan antar partikel bertumbukan mengalami agregasi. Sedangkan *swelling* terjadi akibat adanya tolakan elektrostatis antar gugus ion yang memiliki muatan. Meningkatnya pH membuat kelarutan kitosan menurun sehingga ukuran partikel meningkat. *Swelling* menyebabkan ukuran partikel membesar akibat penyerapan air. Fenomena *swelling* dan agregasi juga mengindikasikan bahwa nanopartikel kitosan sensitif terhadap pH.

Kesensitifan terhadap pH ini membuat kitosan dapat dikontrol muatan permukaannya. Pengontrolan muatan permukaan ini akan berguna untuk aplikasi dalam penghantaran obat ke dalam saluran cerna yang memiliki perbedaan pH. Pada pH antara 4 – 7.4, nanopartikel kitosan akan bermuatan positif sedangkan diatas pH 9 partikel kitosan akan kehilangan muatannya akibat hilangnya ion  $\text{H}^+$  berlebih pada  $\text{NH}_3^+$  yang diikat oleh  $\text{OH}^-$ . Kesensitifan pH partikel kitosan dapat dimanfaatkan untuk penghantaran obat di rongga lambung yang suasananya asam sehingga ukuran partikel tetap terjaga tidak mengalami agregasi.

Dari PSA dapat disimpulkan bahwa preparasi kitosan dengan asam format lebih baik dibandingkan dengan asam laktat dan asam asetat. Hasil ini menopang karakterisasi dari FE SEM dimana ukuran partikel dari asam format juga paling baik. Preparasi nanopartikel kitosan dengan metode penambahan KPS menggunakan asam format sebagai pelarut kitosan memberikan kesempatan lebih untuk memodifikasi ukuran partikel kitosan

menjadi lebih kecil dan seragam. Preparasi pada asam laktat juga tergolong baik dari hasil karakterisasi FE SEM dan PSA. Namun preparasi menggunakan asam asetat tidak menghasilkan nanopartikel kitosan dimana pada umumnya partikel kitosan yang masuk ke dalam golongan nanopartikel berukuran dibawah 400 nm.



## BAB 5

### KESIMPULAN

#### 5.1 Kesimpulan

1. Preparasi nanopartikel kitosan dengan penambahan KPS berhasil dilakukan pada asam asetat, asam laktat dan asam format dengan terjadinya reaksi depolimerisasi dan ionik *cross-linking* dengan ion sulfat secara satu tahap tanpa penambahan surfaktan dan agen presipitasi. Asam monokarboksilat sederhana bertindak sebagai donor proton gugus amino kitosan tidak membentuk kopolimer dengan kitosan.
2. Mekanisme reaksi berjalan dengan kitosan berat molekul tinggi terlebih dahulu mengalami depolimerisasi menjadi kitosan berat molekul rendah. Penghentian reaksi secara paksa mengakibatkan terbentuknya anion sulfat hasil samping dari reaksi depolimerisasi. Anion sulfat akan berikatan secara ionik intramolekular dengan gugus  $\text{NH}^{3+}$  antara monomer kitosan membentuk nanopartikel.
3. Dengan karakterisasi FE SEM pada pengeringan oven dihasilkan ukuran partikel 150 nm – 500 nm pada asam asetat, 94 nm – 140 nm pada asam laktat dan 50 nm – 110 nm pada asam format. Pada pengeringan spray drying dihasilkan ukuran partikel 230 nm – 870 nm pada asam asetat, 150 nm – 300 nm pada asam laktat dan 130 nm – 250 nm pada asam format.
4. Dengan karakterisasi PSA pada pengeringan oven dihasilkan ukuran partikel 780 nm – 940 nm pada asam asetat, 350 nm – 400 nm pada asam laktat dan 100 nm – 110 nm pada asam format. Pada pengeringan spray drying dihasilkan ukuran partikel 1350 nm – 1610 nm pada asam asetat, 420 nm – 490 nm pada asam laktat dan 300 nm – 330 nm pada asam format.
5. Ukuran partikel yang dihasilkan dari karakterisasi FE SEM dan PSA berbeda akibat adanya pengaruh pH pada partikel kitosan dimana pada pH 7 partikel mengalami agregasi dan *swelling*. Kedua fenomena ini

berhubungan dengan muatan permukaan partikel pada media dispersannya.

6. Preparasi nanopartikel kitosan dengan penambahan KPS dipengaruhi oleh konsentrasi penambahan asam pelarut. Semakin sedikit asam yang ditambahkan ukuran partikel semakin kecil dan distribusi ukuran partikel semakin sempit.
7. Pelarutan kitosan dengan asam format menghasilkan nanopartikel kitosan yang paling baik dibandingkan dengan asam laktat dan asam asetat dari segi konversi, ukuran dan distribusi ukuran partikel.

#### 5.2 Saran

1. Variasi preparasi nanopartikel kitosan dengan penambahan KPS dapat ditambahkan dengan variabel bebas jumlah mol asam yang ditambahkan dan waktu pereaksian.
2. Pada penelitian selanjutnya dapat difokuskan pada pelarut asam format dengan pemvariasian kondisi operasi preparasi maupun variabel lainnya.
3. Karakterisasi HPLC untuk mengetahui berat molekul larutan setiap pereaksian karena perhitungan menggunakan viskositas intrinsik tidak tepat dilakukan akibat perbedaan jenis asam dan jumlah asam sehingga nilai konstanta pelarut sukar ditentukan.
4. Karakterisasi TEM dapat ditambahkan untuk melihat ukuran kitosan secara lebih tinggi perbesarannya.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abel, S. J., Stangle, G. C. (1993). *Sedimentation in flocculating colloidal suspensions*. Department of Materials Science and Engineering, Iowa.
- Agnihotri, S. A., Mallikarjuna, N. N., & Aminabhavi, T. M. (2004). Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. *Journal of Controlled Release* 100(1): 5-28.
- Al-Remawi, M. M. A., (2012). Properties of Chitosan Nanoparticles Formed Using Sulfate Anions as Crosslinking Bridges. *American Journal of Applied Sciences* 9 (7): 1091-1100.
- Banerjee, T., Mitra, S. (2002). Preparation, characterization and biodistribution of ultrafine chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 243(1-2): 93-105.
- Bodnar, M., Hartmann, J. F., Borbely, J. (2005). Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanoparticles. *Biomacromolecules* 2005(6) 2521-2527
- Brady, J. E. 1998. *Kimia Universitas Asas & Struktur*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Chattopadhyay, D. P., Inamdar, M. S. (2010). Aqueous Behaviour of Chitosan. *International Journal of Polymer Science* 1155(10): 345-352.
- Dash, M., Chiellini, F. (2011). Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science* 36(8): 981-1014.
- Dev, A., Binulal, N. S. (2010). Preparation of poly(lactic acid)/chitosan nanoparticles for anti-HIV drug delivery applications. *Carbohydrate Polymers* 80(3): 833-838.
- El-Hefian, E. A., Yahaya, A. H., Misran, M. (2009). Characterisation of chitosan solubilised in aqueous formic and acetic acids. *Maejo Int. J. Sci. Technol* 3(03): 415-425.
- Fan, W., Yan, W. (2012). Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 90(0): 21-27.

- Gaumet, M., & Vargas, A. (2008). Nanoparticles for drug delivery: The need for precision in reporting particle size parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 69(1): 1-9.
- Harish Prashanth, K. V., & Tharanathan, S. L. (2005). Depolymerized products of chitosan as potent inhibitors of tumor-induced angiogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1722(1): 22-29.
- Harish Prashanth, K. V., & Tharanathan, R. N. (2006). Crosslinked chitosan—preparation and characterization. *Carbohydrate Research* 341(1): 169-173.
- Hsu, S. C., & Don, T. M. (2002). Free radical degradation of chitosan with potassium persulfate. *Polymer Degradation and Stability* 75(1): 73-83.
- Hu, Y., & Jiang, X. (2002). Synthesis and characterization of chitosan–poly(acrylic acid) nanoparticles. *Biomaterials* 23(15): 3193-3201.
- Jafarinejad, S., & Gilani, K. (2012). Development of chitosan-based nanoparticles for pulmonary delivery of itraconazole as dry powder formulation. *Powder Technology* 222(0): 65-70.
- Kamelia, S. (2009). *Pengaruh Derajat Deasetilasi Nano Kitosan Untuk Menyerap Ion  $Zn^{2+}$  Dari Limbah Cair Industri Karet*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Moura, M. R., & Aouada, F. A. (2008). Preparation of chitosan nanoparticles using methacrylic acid. *Journal of Colloid and Interface Science* 321(2): 477-483.
- Prabha, S., Zhou, W. Z., Panyam, J., Labhasetwar, V. (2002). Size-dependency of nanoparticle-mediated gene transfection: studies with fractionated nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 244: 105–115.
- Qi, L., & Xu, Z. (2004). Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Research* 339(16): 2693-2700.
- Rachmanida, D. (2011). *Karakteristik Nano Kitosan Cangkang Udang *Vannamei* (*Litopenaeus Vannamei*) Dengan Metode Gelasi Ionik*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ravi Kumar, M. N. V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers* 46(1): 1-27.

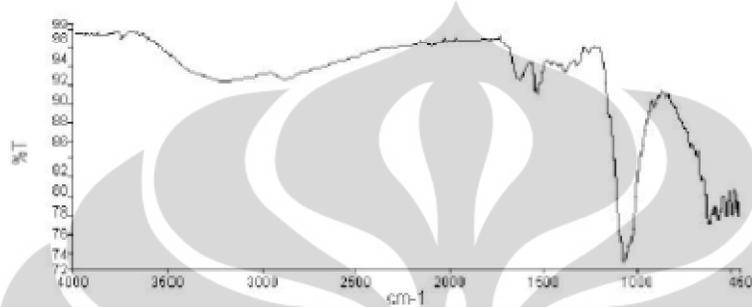
- Ravi Kumar, M.N.V., Muzzarelli, R.A.A., Muzzarelli, C., Sashiwa, H., Domb, A.J. (2004). Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chemical Reviews* 104 6017–6084.
- Sinha, V. R., & Singla, A. K. (2004). Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. *International Journal of Pharmaceutics* 274(1–2): 1-33.
- Siregar, Mukhlis. (2009). *Pengaruh Berat Molekul Kitosan Nanopartikel Untuk Menurunkan Kadar Logam Besi (Fe) Dan Zat Warna Pada Limbah Industri Tekstil Jeans*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Zhang, H., Oh, M., Allen, C., Kumacheva, E. (2004). Monodisperse chitosan nanoparticles for mucosal drug delivery. *Biomacromolecules* 5: 2461–2468.



## LAMPIRAN

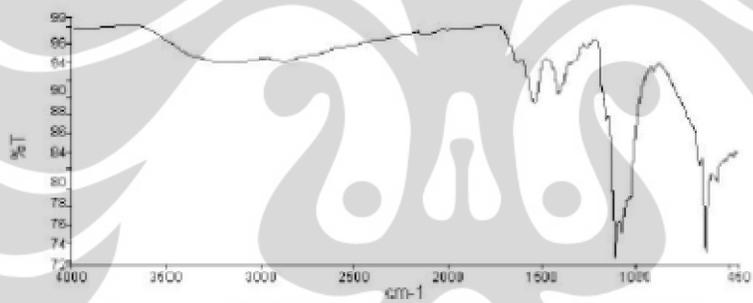
### Lampiran A. Hasil Karakterisasi FTIR

Sample Details  
Instrument  
Spectrum Graph



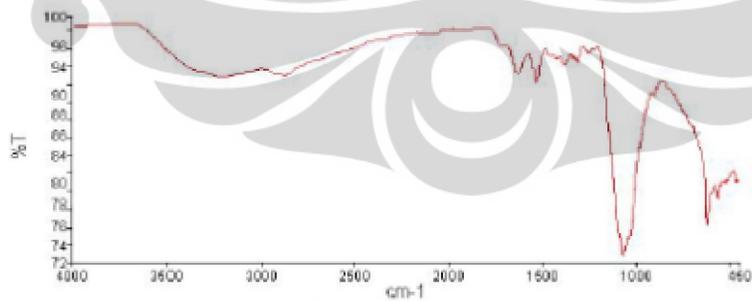
Name	Description
YH3	Sample 018 By Adm In Labor Date: Thursday, May 31 2012

Spectrum Graph



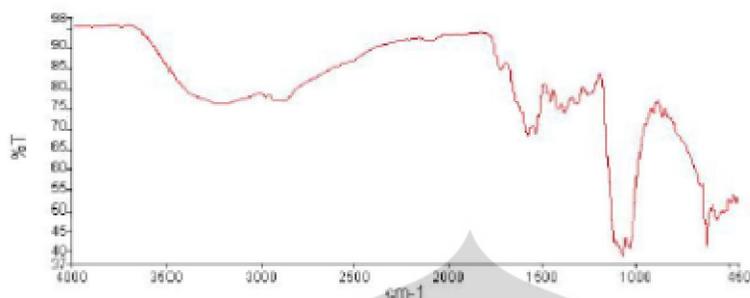
Name	Description
YH4	Sample 024 By Adm In Labor Date: Friday, June 01 2012

Spectrum Graph

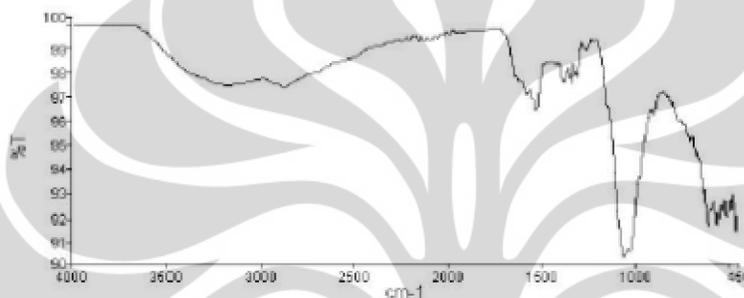


Name	Description
YH7	Sample 025 By Adm In Labor Date: Friday, June 01 2012

Spectrum Graph

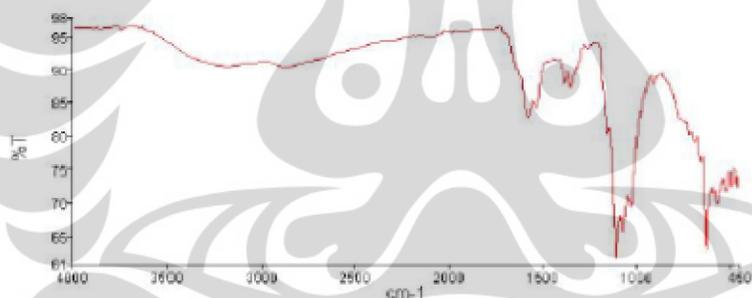


Name	Description
YH8	Sample 019 By Admin Istikom Date: Thursday, May 31 2012



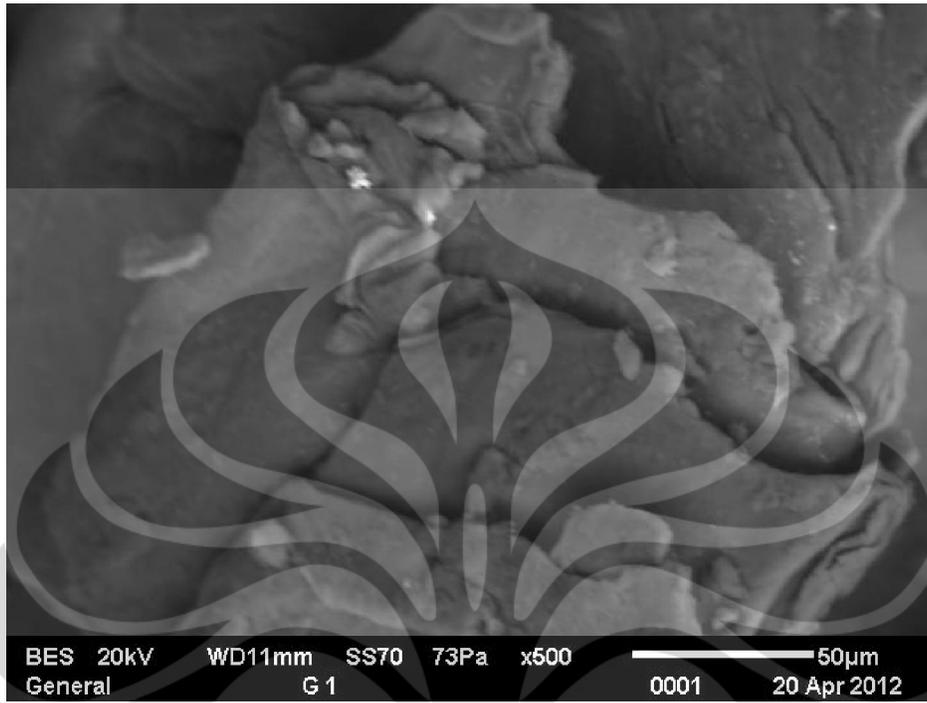
Name	Description
YH-12	Sample 026 By Admin Istikom Date: Friday, June 01 2012

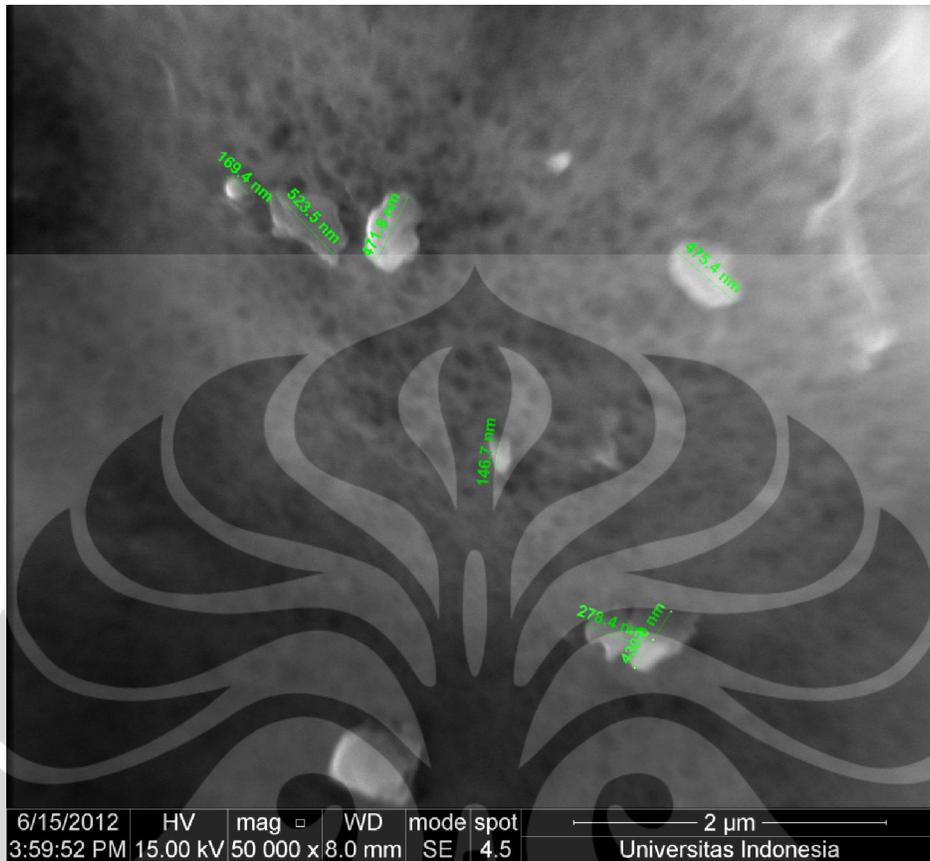
Spectrum Graph

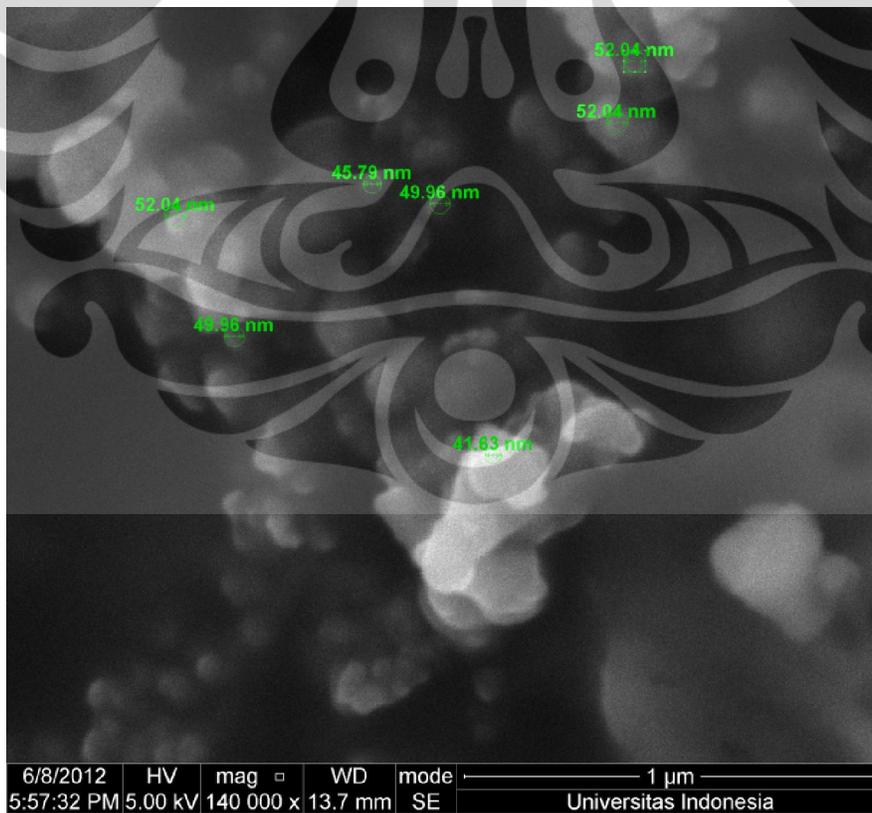
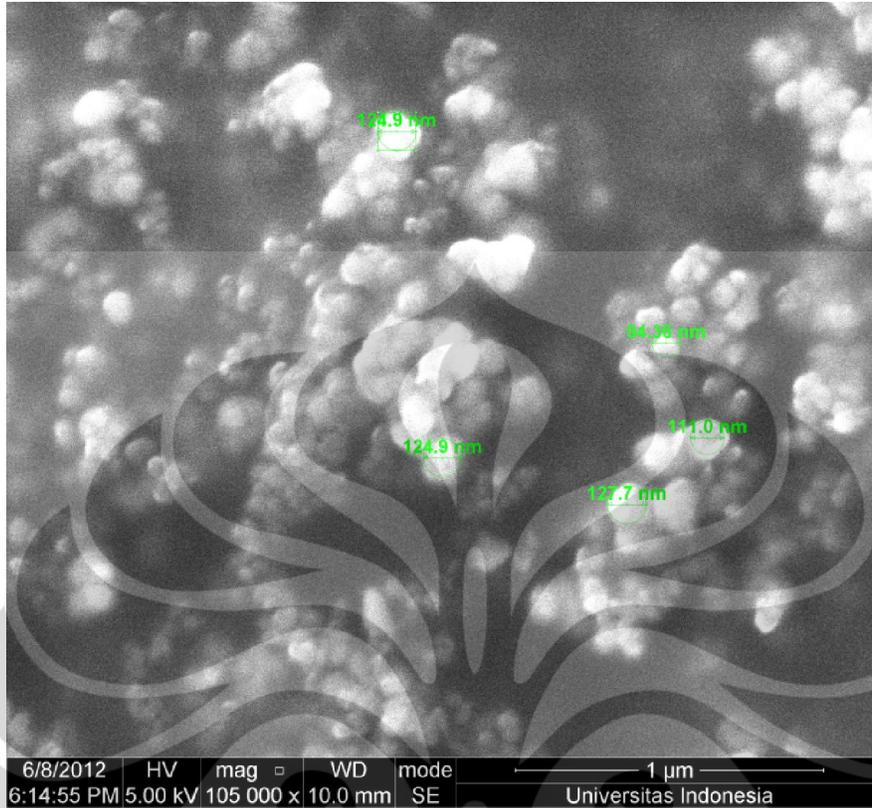


Name	Description
HY-13	Sample 017 By Admin Istikom Date: Thursday, May 31 2012

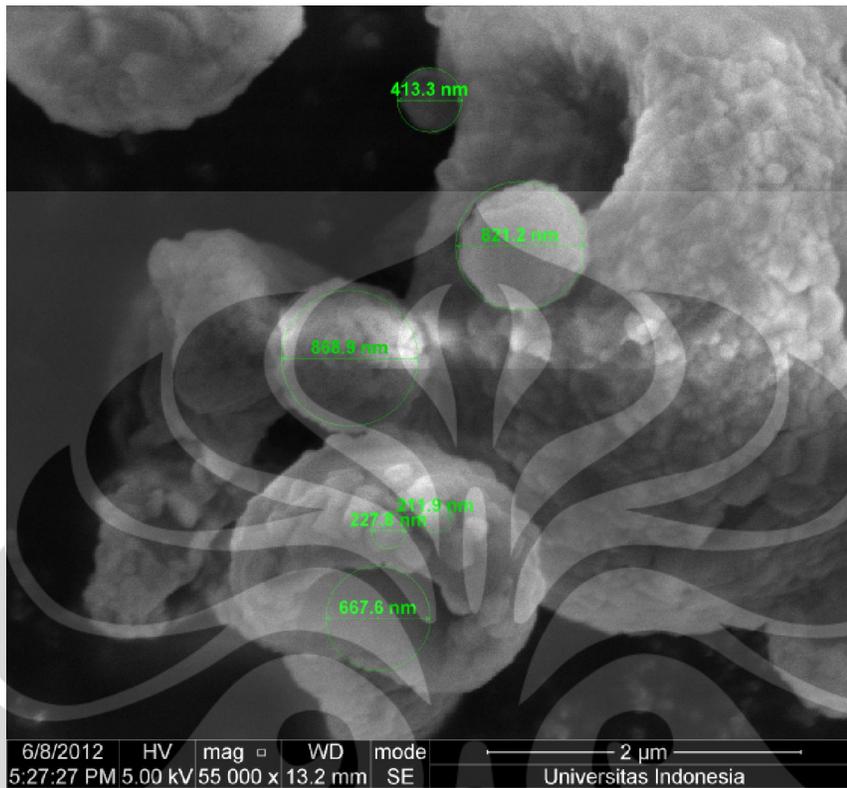
Compare Result

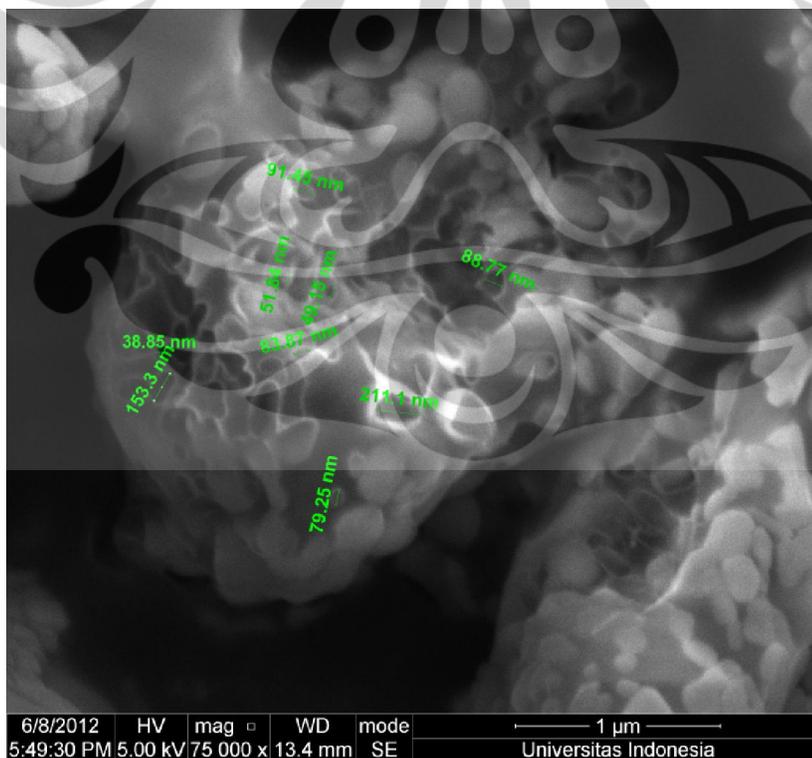
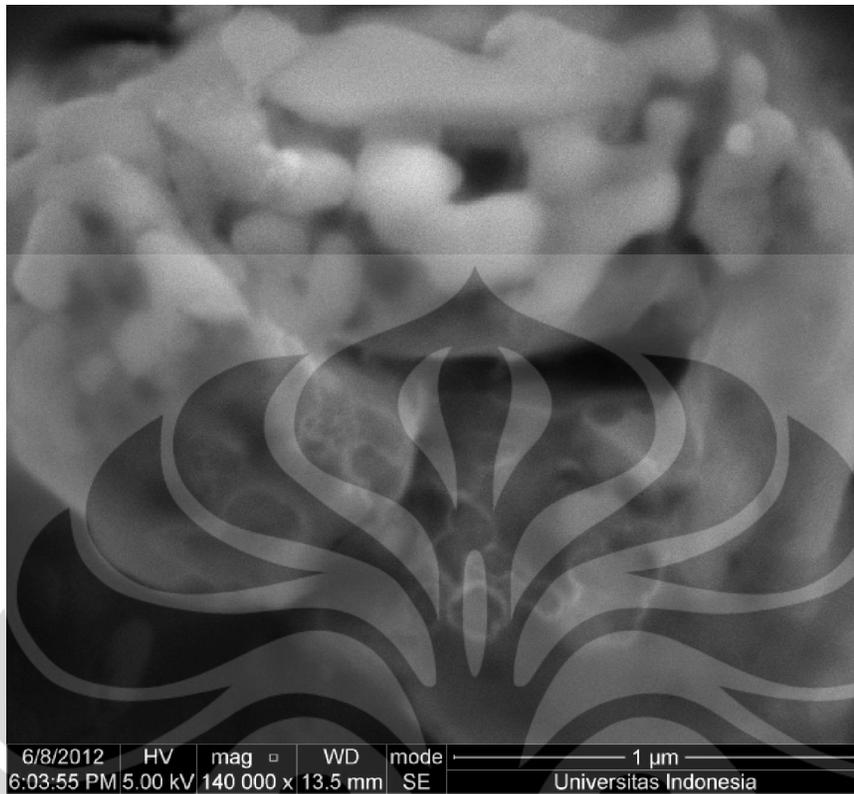
**Lampiran B. Hasil Karakterisasi FE SEM**





Universitas Indonesia



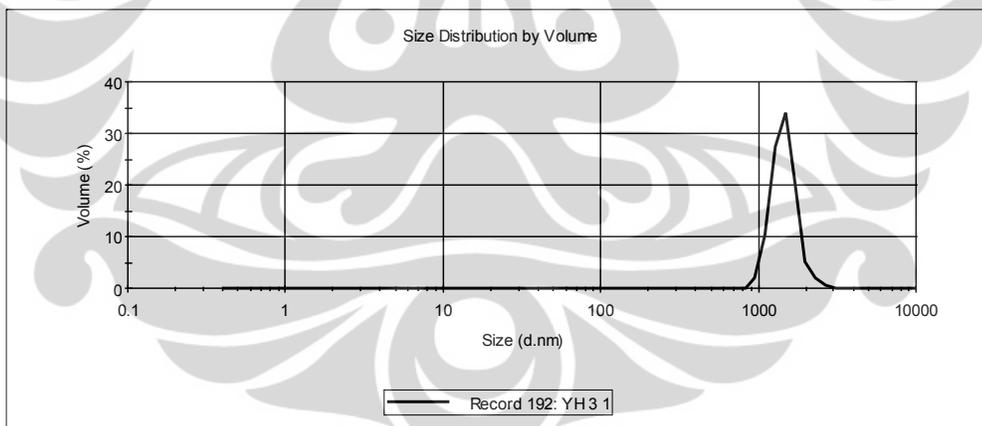


Universitas Indonesia

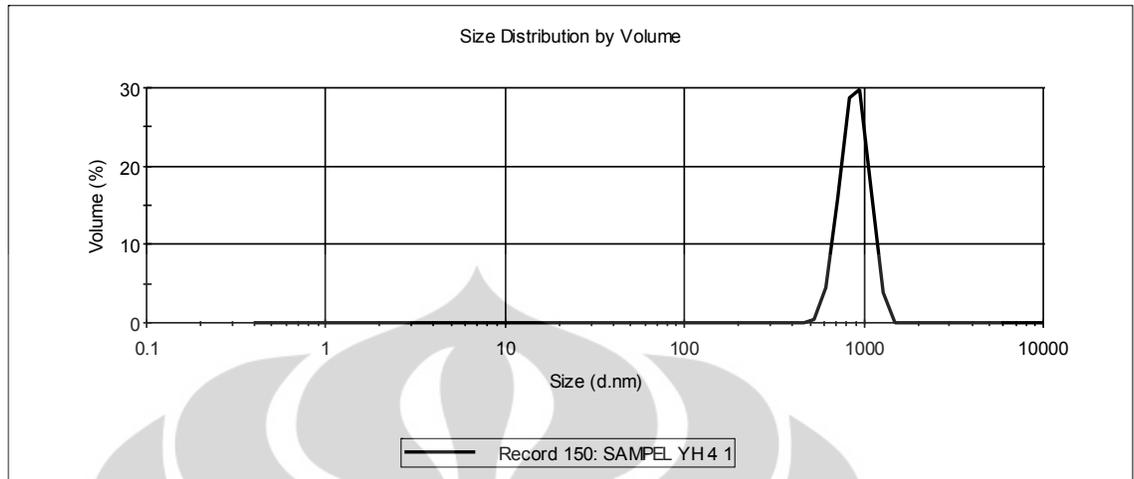
### Lampiran C. Hasil Preparasi



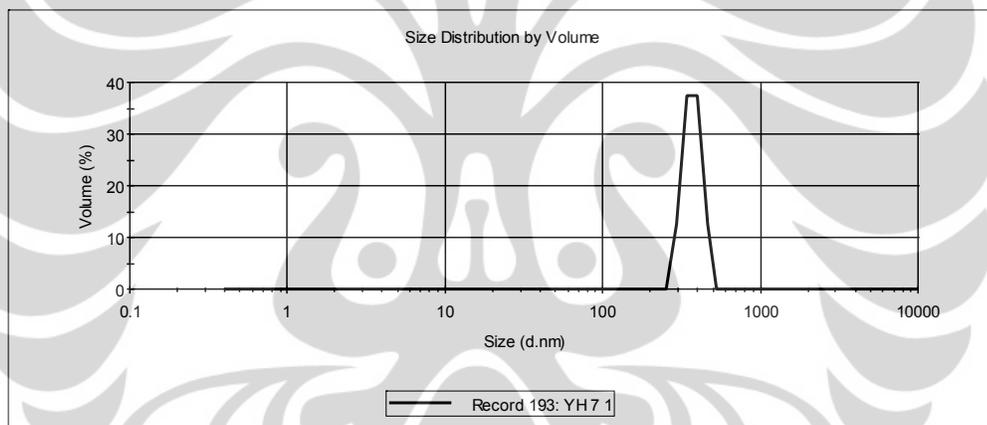
### Lampiran D. Hasil Karakterisasi PSA



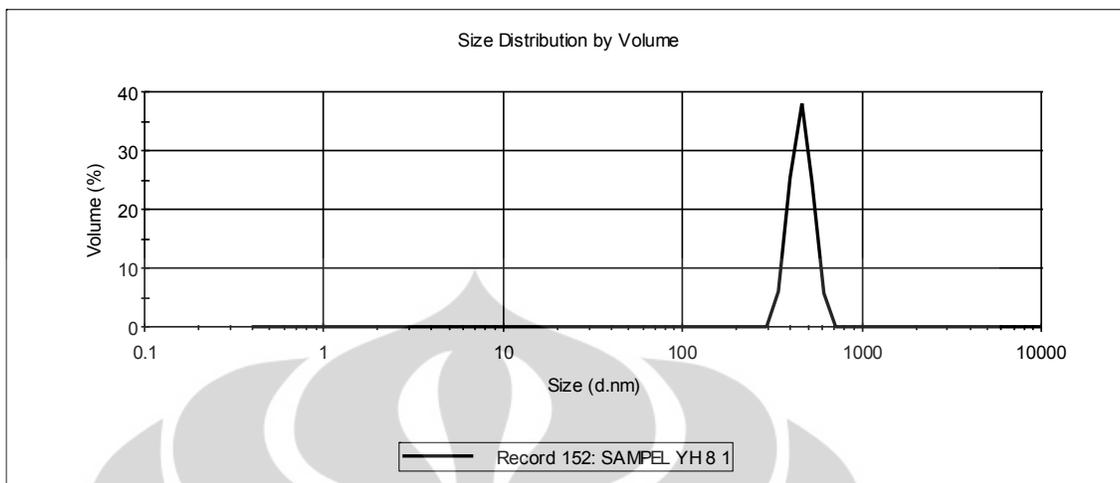
peak	Size (nm)	% Intensity	width	Size (nm)	% vol	width
1	1664	100	357.9	1474	100	279.5



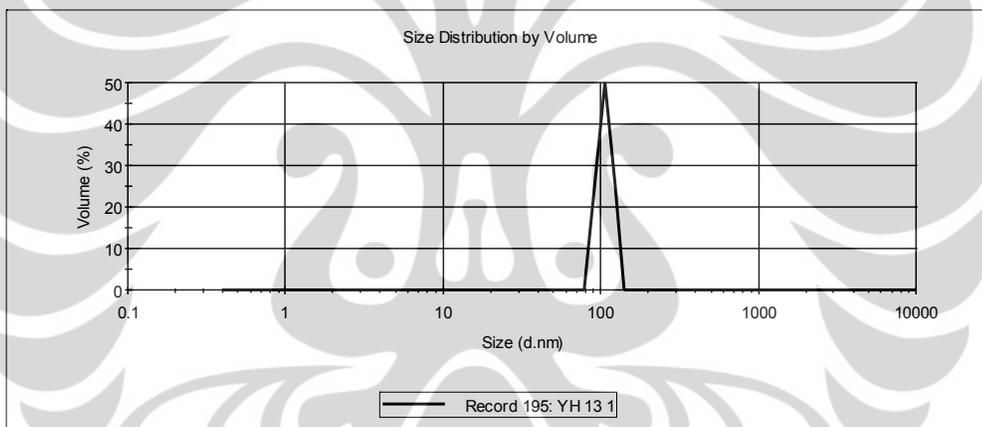
peak	Size (nm)	% Intensity	width	Size (nm)	% vol	width
1	851.8	100	125.1	900.6	100	158.6



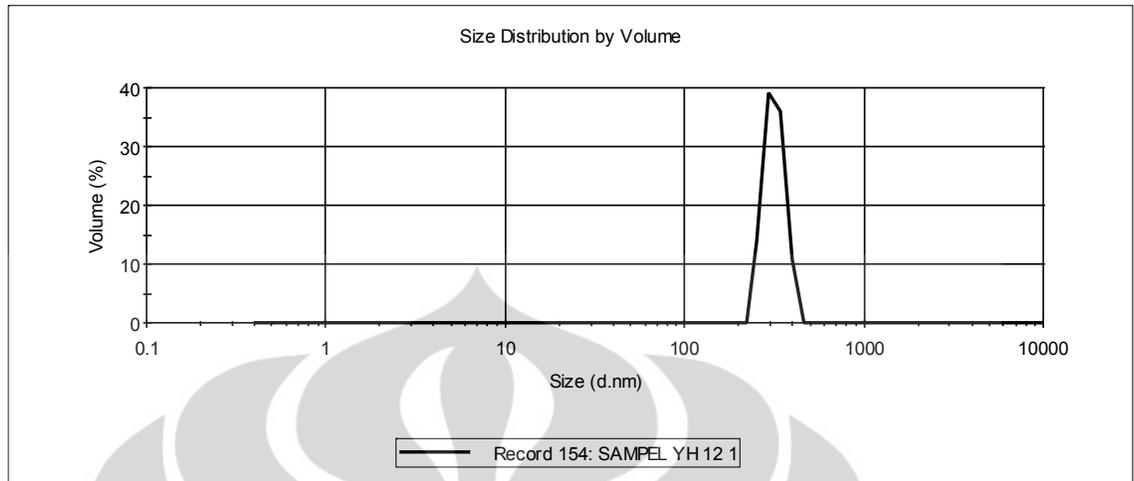
peak	Size (nm)	% Intensity	width	Size (nm)	% vol	width
1	367.9	100	27.05	371.2	100	47.23



peak	Size (nm)	% Intensity	width	Size (nm)	% vol	width
1	456.4	100	46.12	462.7	100	67.21



peak	Size (nm)	% Intensity	width	Size (nm)	% vol	width
1	105.7	100	$1.349 \times 10^{-6}$	106.3	100	11.02



peak	Size (nm)	% Intensity	width	Size (nm)	% vol	width
1	314.6	100	22.98	317.4	100	40.40