

**Nanoenkapsulasi 2- Sitronelil Benzimidazol Menggunakan
Penyalut Gelatin dan Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Oleh:

FETY ANDRIANI

145090200111018



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Nanoenkapsulasi 2-Sitronetil Benzimidazol Menggunakan
Penyalut Gelatin dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri**

Oleh:
FETY ANDRIANI
145090200111018

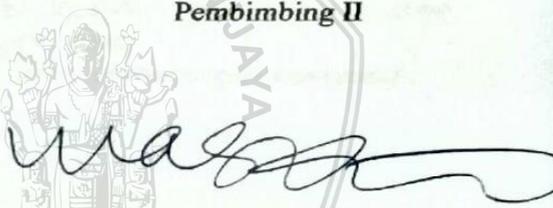
Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada
tanggal **18 JUL 2018**
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Sains dalam bidang kimia

Pembimbing I



Dr. Warsito, MS
NIP.1959071219850310004

Pembimbing II



Masruri, S.Si, M. Si, Ph.D
NIP.1959071219850310004



Mengetahui,
Rektor Universitas Brawijaya
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya



Masruri, S.Si, M. Si, Ph.D
NIP.1959071219850310004



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : FETY ANDRIANI

NIM : 145090200111018

Jurusan : KIMIA

Penulis skripsi berjudul:

**Nanoenkapsulasi 2-Sitronelil Benzimidazol Menggunakan
Penyalut Gelatin dan Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri**

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang tertulis di dalam isi dan daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.
Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, Juli 2018
Yang menyatakan,



(Fety Andriani)
NIM. 145090200111018

Nanoenkapsulasi 2-Sitronelil Benzimidazol Menggunakan Penyalut Gelatin dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri

ABSTRAK

Senyawa 2-sitronelil benzimidazol merupakan senyawa turunan benzimidazol yang bersifat antibakteri. Dalam penelitian ini 2-sitronelil benzimidazol dibuat nanokapsul menggunakan penyalut gelatin-glutaraldehid. Pembuatan nanokapsul dilakukan dengan variasi massa penyalut lalu dihitung % efisiensi nanoenkapsulasi. Produk nanokapsul dengan efisiensi tertinggi yaitu 56,25% pada penggunaan 3 g penyalut gelatin. Produk nanokapsul dikarakterisasi menggunakan Spektrofotometer FT-IR, PSA dan SEM. Pelepasan 2-sitronelil benzimidazol dari nanokapsul pada waktu 15-60 menit cenderung konstan. Produk nanokapsul diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*) dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Zona hambat ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening dengan rentang diameter 4-12 mm. Zona hambat nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol terhadap bakteri digolongkan sedang hingga kuat.

Kata kunci: nanoenkapsulasi, 2-sitronelil benzimidazol, gelatin, profil pelepasan, antibakteri



Nanoencapsulation of 2- Citronellyl Benzimidazole Using Gelatins as Coating and Activity Test As Antibacterial

ABSTRACT

The 2-citronellyl benzimidazole is a compound class of benzimidazole derivatives which has antibacterial activity. This study investigate encapsulation of 2-citronellyl benzimidazole using gelatin-glutaraldehyde. Preparation of nanocapsul done by variation of coating mass then calculated nanoencapsulation efficiency. The result give the highest efficiency in 56.25% by using 3 g of gelatin coating. Nanocapsule product was characterized using FT-IR Spectrophotometer, PSA and SEM. In addition, the release profiles of encapsulated 2-citronellyl benzimidazole is determined based on solvation on methanol solvent. The release of 2-citronellyl benzimidazole at 15-60 min tends to be constant. Nanocapsule product used to determine antibacterial activity against EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*) bacteria and *Staphylococcus aureus* bacteria. The inhibitory zone is indicated by the formation of a clear zone with a 4-12 mm diameter range. The 2-citronellyl benzimidazole nanocapsule inhibition zone of bacteria is classified as moderate to strong.

Keywords: nanoencapsulation, 2-citronellyl benzimidazole, gelatin, release profiles, antibacterial.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul **“Nanoenkapsulasi 2-Sitronelil Benzimidazol Menggunakan Penyalut Gelatin dan Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri”**. Penyusunan skripsi merupakan salah satu syarat kelulusan dan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) dalam bidang kimia di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu sehingga penyusunan skripsi dapat terselesaikan. Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Dr. Warsito, MS. dan Masruri, S.Si.,M.Si.,Ph.D selaku Dosen Pembimbing I dan Pembimbing II yang telah membimbing dan memberikan pengarahan hingga penulisan Skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Akhmad Sabarudin, S.Si.,M.Sc.,Dr.Sc selaku Dosen Penasehat Akademik arahan yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh studi.
3. Moh. Farid Rahman S.Si.,M.Si selaku Dosen Penguji Seminar Proposal dan Seminar Kemajuan dan Lukman Hakim S.Si.,M.Sc.,Dr.Sc selaku Dosen Penguji Ujian Komprehensif yang telah memberikan saran kepada penulis dalam melakukan penelitian dan penulisan Skripsi
4. Masruri, S.Si, M.Si.,Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya serta segenap staf pengajar atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
5. Kedua orang tua tercinta Ibu Nurjanah dan Bapak Abdul Kahir, kakak, adik serta keluarga besar atas doa dan dukungan kepada penulis hingga terselesaikannya Skripsi ini.
6. Rekan-rekan penelitian Yuliatin, Neni dan Kurnia, rekan-rekan bidang minat Organik, rekan-rekan kimia angkatan 2014 yang selalu membantu dan memberikan motivasi kepada penulis.

7. Teman-teman kontrakan yang ikhlas membantu dan mendo'akan penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan baik dari cara penulisan maupun isi tulisannya. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun. Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi penulis ataupun pembaca.

Malang, Juli 2018



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Definisi Nanoenkapsulasi dan Aplikasinya	4
2.2 Metode Pembuatan Nanokapsul	4
2.3 Bioaktivitas 2-Sitronelil Benzimidazol.....	5
2.4 Nanocarrier Gelatin	5
2.5 Karakteristik Penyulut Gelatin.....	6
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri	6
2.7 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Antibakteri	8
BAB III METODE PENELITIAN	10

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.2 Alat Penelitian	10
3.3 Bahan Penelitian.....	10
3.4 Tahapan Penelitian	10
3.4 Prosedur Kerja.....	10
3.5.1 Pembuatan Nanokapsul 2-Sitronelil Benzimidazol dan Penentuan Efisiensi Nanoenkapsulasi.....	11
3.5.1.1 Pembuatan Nanokapsul 2-Sitronelil Benzimidazol.....	11
3.5.1.2 Kurva Standar 2-Sitronelil Benzimidazol	11
3.5.1.3 Analisis Sampel Nanokapsul Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	12
3.5.2 Karakterisasi Produk Nanokapsul	12
3.5.2.1 Karakterisasi Menggunakan FT-IR.....	12
3.5.2.2 Karakterisasi Menggunakan PSA.....	12
3.5.2.3 Karakterisasi Menggunakan SEM.....	12
3.5.3 Penentuan Profil Pelepasan 2-Sitronelil Benzimidazol.....	13
3.5.4 Uji Antibakteri.....	13
3.5.4.1 Pembuatan Inokulum Bakteri.....	13
3.5.4.2 Pembuatan Suspensi Bakteri	13
3.5.4.3 Penentuan Zona Hambat dengan Metode Difusi Sumuran	13
3.5.5 Analisis Data	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15
4.1 Pembuatan Nanokapsul 2-Sitronelil Benzimidazol dan Penentuan Efisiensi Nanoenkapsulasi.....	15
4.2 Karakterisasi Produk Nanokapsul	19
4.2.1 Karakterisasi Menggunakan FT-IR	19
4.2.2 Karakterisasi Menggunakan PSA.....	21



4.2.2 Karakterisasi Menggunakan SEM27

4.3 Penentuan Profil Pelepasan 2-Sitronelil Benzimidazol29

4.4 Uji Antibakteri29

4.4.1 Penentuan Zona Hambat dengan Metode Difusi Sumuran....29

BAB V PENUTUP34

5.1 Kesimpulan.....34

5.2 Saran.....34

DAFTAR PUSTAKA.....35

LAMPIRAN38



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur 2-sitronelil benzimidazol	5
Gambar 4.1	Kromatogram bahan 2-sitronelil benzimidazol.....	15
Gambar 4.2	Produk nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol	17
Gambar 4.3	Kurva standar 2-sitronelil benzimidazol	18
Gambar 4.4	Spektra TF-IR sampel nanokapsul dan nanopartikel gelatin-glutaraldehida	20
Gambar 4.5	Distribusi ukuran diameter partikel nanokapsul C tanpa freeze drying	22
Gambar 4.6	Distribusi ukuran diameter nanopartikel gelatin-glutaraldehida dengan freeze drying	22
Gambar 4.7	Distribusi ukuran diameter partikel nanokapsul C dengan freeze drying	23
Gambar 4.8	Distribusi ukuran diameter nanopartikel gelatin-glutaraldehida tanpa freeze drying	23
Gambar 4.9	Gambar SEM nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol.....	27
Gambar 4.10	Gambar SEM nanopartikel gelatin-glutaraldehida..	27
Gambar 4.11	Profil pelepasan 2-sitronelil benzimidazol.....	29
Gambar 4.12	Zona hambat larutan nanokapsul dengan beberapa waktu pengadukan terhadap bakteri <i>EPEC</i>	30
Gambar 4.13	Zona hambat larutan nanokapsul dengan beberapa waktu pengadukan terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	30
Gambar 4.14	Kurva Zona hambat nanokapsul terhadap bakteri....	32



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Tabulasi hasil analisis KG-SM 2-sitronelil benzimidazol	16
Tabel 4.2	Tabulasi produk nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol	17
Tabel 4.3	Tabulasi data untuk penentuan efisiensi nanoenkapsulasi.....	19
Tabel 4.4	Tabulasi puncak serapan bilangan gelombang produk nanokapsul dengan nanopartikel gelatin-glutaraldehyd	20
Tabel 4.5	Tabulasi perbandingan ukuran nanokapsul dengan nanopartikel gelatin-glutaraldehyda tanpa proses freeze drying	24
Tabel 4.6	Tabulasi perbandingan ukuran nanokapsul dengan nanopartikel gelatin-glutaraldehyda.....	24
Tabel 4.7	Tabulasi perbandingan ukuran partikel dengan proses freeze drying dan tanpa freeze drying	25
Tabel 4.8	Diameter hambatan benzimidazol	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Skema Kerja	38
A.1 Diagram Alir Penelitian	38
A.2 Pembuatan Nanokapsul 2-Sitronelil Benzimidazol dan Penentuan Efisiensi Nanoenkapsulasi	39
A.2.1 Pembuatan Nanokapsul 2-Sitronelil Benzimidazol	39
A.2.2 Kurva Standar 2-Sitronelil Benzimidazol	40
A.2.3 Analisis Sampel Nanokapsul Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	40
A.3 Karakterisasi Produk Nanokapsul	41
A.3.1 Karakterisasi Menggunakan FT-IR	41
A.3.2 Karakterisasi Menggunakan PSA	41
A.4 Penentuan Profil Pelepasan 2-Sitronelil Benzimidazol	42
A.5 Uji Antibakteri	42
A.5.1 Pembuatan Inokulum Bakteri	42
A.5.2 Pembuatan Suspensi Bakteri	43
A.5.3 Penentuan Zona Hambat dengan Metode Difusi Sumuran	43
Lampiran B. Perhitungan	44
B.1 Perhitungan Pembuatan Larutan 2-Sitronelil Benzimidazol Untuk Kurva Standar	44
B.2 Perhitungan Efisiensi Nanoenkapsulasi	45
B.3 Perhitungan Jumlah Bakteri	46
B.4 Perhitungan konsentrasi Nanokapsul 2-Sitronelil Benzimidazol Untuk Zona Hambat	47
B.5 Perhitungan Zona Hambat Nanokapsul 2-Sitronelil Benzimidazol	47
Lampiran C. Efisiensi Nanoenkapsulasi	47
Lampiran D. Profil Pelepasan 2-Sitronelil Benzimidazol	48
Lampiran E. Data Hasil KG-SM	49



E.1	<i>Total Ionic Chromatogram (TIC) 2-Sitronelil Benzimidazol</i>	49
E.2	Spektra Massa 2-Sitronelil Benzimidazol	49
Lampiran F.	Data Hasil Spektrofotometer FT-IR.....	50
F.1	Spektra Nanokapsul C	50
F.2	Spektra Nanopartikel Gelatin-Glutaraldehida	50
Lampiran G.	Data Hasil PSA	51
G.1	Distribusi Ukuran Partikel Nanokapsul C Ulangan 2 Tanpa <i>Freeze Drying</i>	51
G.2	Distribusi Ukuran Nanokapsul C Ulangan 3 Tanpa <i>Freeze Drying</i>	51
G.3	Distribusi Ukuran Partikel Gelatin-Glutaraldehid Ulangan 2 Tanpa <i>Freeze Drying</i>	52
G.4	Distribusi Ukuran Partikel Gelatin-Glutaraldehid Ulangan 3 tanpa <i>Freeze Drying</i>	52
G.5	Uji T Terhadap Ukuran Partikel Tanpa Freeze Drying.....	53
Lampiran H.	Data Hasil Spektrofotometer UV-Vis	53
H.1	Panjang Gelombang Maksimum 2-Sitronelil Benzimidazol	53
Lampiran I.	Dokumentasi Kegiatan.....	54



DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
$^{\circ}\text{C}$	derajat Celsius
mL	mililiter
g	gram
μg	mikrogram
μL	mikroliter
TIC	<i>total ionic chromatogram</i>
SI	<i>similarity index</i>
m/z	massa per rasio muatan
V	volume
%	persen
λ_{maks}	panjang gelombang maksimum
mm	millimeter
CFU	jumlah koloni bakteri
PSA	Particle Size Analyzer
μm	mikrometer
nm	nanometer
rpm	putaran per menit
ppm	<i>parts per million</i>
Σ	jumlah total
SEM	Scanning Electron Microscope



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enkapsulasi adalah suatu metode untuk melindungi bahan aktif atau bahan inti yang berfase padat, cair maupun gas. Bahan aktif yang memiliki sifat rentan terhadap lingkungan dalam proses enkapsulasi akan dilapisi dengan bahan lain yang tidak bereaksi dengan bahan aktif. Bahan inti dalam enkapsulasi juga dikenal dengan istilah *core* sedangkan penyalutnya disebut sebagai *carrier*. Berdasarkan ukuran partikel yang dihasilkan enkapsulasi dibedakan menjadi makrokapsul, mikrokapsul dan nanokapsul. Makrokapsulasi adalah enkapsulasi dengan ukuran partikel $>5.000 \mu\text{m}$, mikrokapsulasi apabila partikel berukuran $1 - 500 \mu\text{m}$ dan nanokapsulasi apabila partikel berukuran $1-100 \text{ nm}$ [1].

Enkapsulasi bertujuan untuk mempertahankan kondisi bahan bahan aktif ketika disimpan, sehingga pada saat dibutuhkan bahan aktif dilepaskan kembali dari penyalut tanpa mengalami kerusakan. Prinsip dasar enkapsulasi berasal dari sel, yaitu permeabilitas selektif membran sel memberikan perlindungan terhadap inti sel dari kondisi lingkungan yang berubah-ubah. Enkapsulasi yang berkembang saat ini menggunakan prinsip yang sama untuk melindungi bahan aktif dari kondisi lingkungan yang tidak mendukung [2]. Banyaknya kelebihan dari proses enkapsulasi, menyebabkan enkapsulasi sangat diminati oleh industri makanan maupun industri farmasi. Salah satu pemanfaatan enkapsulasi dalam industri farmasi yaitu pembuatan nanokapsul zat antibakteri atau antimikroba. Nanoenkapsulasi zat antibakteri merupakan pendekatan yang efisien untuk menambah stabilitas fisik dan bioaktivitas zat antibakteri [3].

Benzimidazol merupakan salah satu senyawa bioaktif yang telah dimanfaatkan sebagai antibakteri. Benzimidazol dan senyawa turunannya telah banyak dimanfaatkan tidak hanya sebagai obat antibakteri atau antimikroba tetapi juga telah dikembangkan sebagai antikanker, antihelmintik, antijamur, antituberkular, antialergen, antioksidan, antitumor, dan antiurease [4]. Beberapa senyawa turunan benzimidazol mampu menghambat aktivitas bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* [5]. Broderick dkk [6] telah melakukan

enkapsulasi senyawa 5,6-dimetil-2-aminobenzimidazole (DMABI) yang merupakan turunan benzimidazol. DMABI dibuat sebagai agen antibiofilm untuk melawan *Pseudomonas aeruginosa*. DMABI dienkapsulasi di dalam lapisan tipis polimer yang bersifat biokompatibel.

Salah satu polimer yang bersifat biokompatibel sebagai *nanocarrier* adalah gelatin. Gelatin merupakan biomakromolekul yang sering digunakan sebagai carrier dalam penyajian obat atau vaksin di bidang farmaseutikal. Penggunaan gelatin sangat digemari karena biodegradabel, biokompatibel, non-antigenisitas, murah dan mudah didapatkan. Dibandingkan dengan carrier koloidal lainnya, nanopartikel gelatin lebih stabil ketika berada didalam cairan biologis. *Nanocarrier* gelatin dapat membantu *control release* dan *sustainable release* dari bahan obat agar sesuai dengan yang diinginkan [7].

Berdasarkan informasi yang didapat dari berbagai literatur seperti yang telah dijelaskan diatas maka penulis ingin melakukan pembuatan nanoenkapsulasi senyawa turunan benzimidazol yaitu 2-sitronelil benzimidazol menggunakan gelatin sebagai penyalut. Gelatin dipilih sebagai penyalut dalam penelitian ini karena sudah banyak penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa gelatin efektif digunakan sebagai *nanocarrier*. Penelitian ini diharapkan mampu meningkatkan aktivitas senyawa 2-sitronelil benzimidazol sebagai antibakteri setelah dilakukan proses enkapsulasi.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah yang ditetapkan berdasarkan latar belakang tersebut diatas adalah :

1. Bagaimana pembuatan nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol dan efisiensi nanoenkapsulasi menggunakan penyalut gelatin
2. Bagaimana karakteristik nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol
3. Bagaimana profil pelepasan 2-sitronelil benzimidazol dari nanokapsul
4. Bagaimana aktivitas antibakteri dari nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah diperlukan agar pembahasan penelitian ini tidak menyimpang dari apa yang telah dirumuskan. Batasan-batasan dalam penelitian ini adalah:

1. Obat yang dienkapsulasi adalah 2-sitronelil benzimidazol sedangkan bahan penyalutnya adalah gelatin
2. Variasi massa gelatin adalah 2,0 g; 2,5 g dan 3,0 g
3. Nanokapsul yang diperoleh dikarakterisasi menggunakan FT-IR, PSA dan SEM
4. Nanokapsul benzimidazol di uji aktivitas antibakterinya menggunakan bakteri *E. coli*, dan *Staphylococcus aureus*.

1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pembuatan nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol dan efisiensi nanoenkapsulasi menggunakan penyalut gelatin
2. Mengetahui karakteristik nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol
3. Mengetahui profil pelepasan 2-sitronelil benzimidazol dari nanokapsul
4. Mengetahui aktivitas antibakteri dari nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diinginkan dari penelitian ini adalah dapat dijadikan sumber rujukan mengenai formula yang efisien untuk membuat nanokapsul benzimidazol menggunakan penyalut gelatin

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi Nanoenkapsulasi dan Aplikasinya

Enkapsulasi adalah proses menjebak bahan aktif didalam material penyalut. Bahan aktif dalam enkapsulasi disebut *core* sedangkan bahan penyalutnya disebut *carrier*. Metode enkapsulasi dibedakan berdasarkan ukuran partikel yang dihasilkan. Makrokapsulasi adalah enkapsulasi dengan ukuran partikel $>5.000 \mu\text{m}$, mikrokapsulasi apabila partikel berukuran 1 - 500 μm dan nanokapsulasi apabila partikel berukuran 1-100 nm [1]

Nanoenkapsulasi dilakukan untuk mengkapsulat/ membungkus zat bioaktif dalam dimensi nanopartikel untuk membentuk formulasi yang stabil. Teknik nanoenkapsulasi dilakukan untuk menghasilkan obat terenkapsulasi sehingga obat terlindung dari proses oksidasi atau reaksi kimia lain yang tidak diinginkan, degradasi oleh mikroba dan meningkatkan bioaktivitasnya [2].

2.2 Metode Pembuatan Nanokapsul

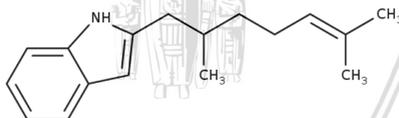
Belakangan ini nanopartikel semakin dikenal dalam mengenkapsulasi dan menjadi target penyajian obat dan bahan makanan. Beberapa teknik sudah berhasil digunakan untuk membuat nanopartikel maupun mikropartikel seperti desolvasi, emulsifikasi, presipitasi, gelasi menggunakan perlakuan suhu, *nanospray-drying*, nab-teknologi dan *self-assembly* [3].

Ada banyak metode yang digunakan untuk menghasilkan nanopartikel gelatin yang melindungi senyawa bioaktif. Metode-metode tersebut mempunyai kelebihan dan ada kekurangan. Metode emulsi air-minyak membutuhkan surfaktan dalam jumlah yang banyak untuk menghasilkan nanopartikel gelatin. Hal itu menyebabkan proses setelahnya menjadi rumit. Metode koaservasi merupakan proses pemisahan fasa yang diikuti dengan tahapan *cross-linking*. Nanokapsul yang diperoleh dari metode koaservasi ukurannya tidak rata dan efisiensi bioaktif yang terenkapsulasi tidak memuaskan. Metode yang digemari adalah metode desolvasi dan presipitasi karena mempunyai banyak kelebihan [8].

2.3 Bioaktivitas 2 – Sitronelil Benzimidazol

Benzimidazol adalah senyawa heterosiklik yang sudah digunakan secara meluas dalam industri farmakimia. Benzimidazol adalah senyawa turunan imidazol yang juga dikenal dengan nama lain sebagai 1,3-benzodiazol. Benzimidazol memiliki struktur yang mirip dengan purin. Benzimidazol merupakan senyawa bioaktif yang berguna sebagai antikanker, antihelmintik, antimikroba, antijamur, antituberkular, antialergen, antioksidan, antitumor, antiurease, dan penghambat lipase [4]. Senyawa turunan benzimidazol juga mempunyai bioaktivitas yang mirip dengan benzimidazol. Beberapa senyawa turunan benzimidazol mampu menghambat aktivitas bakteri *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *C. albicans*, *A. niger* and *A. flavus* [5].

Senyawa 2 - sitronelil benzimidazol merupakan senyawa turunan benzimidazol dengan substitusi pada posisi orto menggunakan sitronelil. Senyawa ini potensial digunakan sebagai antibakteri dan antijamur. Senyawa 2 – sitronelil benzimidazol efisien digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* (bakteri gram negatif) dan *S. aureus* (bakteri gram positif). Senyawa ini potensial digunakan sebagai obat untuk berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri baik bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Berikut struktur molekul 2-sitronelil benzimidazol [9].



Gambar 2.1 Struktur 2-sitronelil benzimidazol

2.4 Nanocarrier Gelatin

Gelatin adalah polimer alam non-toksik yang mempunyai struktur unik dengan sejumlah besar manfaat. Gelatin sering digunakan sebagai carrier dalam penyajian obat atau vaksin di bidang farmaseutikal. Penggunaan gelatin sangat digemari karena biodegradabel, biokompatibel, non-antigenisitas, murah dan mudah didapatkan. Dibandingkan dengan carrier koloidal lainnya, nanopartikel gelatin lebih stabil ketika berada didalam cairan biologis. Penggunaan *nanocarrier* gelatin membantu dalam *control*

release dan *sustainable release* bahan obat yang terjebak sesuai dengan yang diinginkan [6].

Nanopartikel gelatin yang dibuat melalui beberapa metode ditemukan masih berukuran besar dan memiliki indeks polidispersitas tinggi (IPD) karena heterogenitas dalam berat molekul polimer gelatin. Metode pembuatan nanopartikel gelatin yang lebih mudah yaitu melalui *two-step desolvation* atau dua tahap desolvasi. Metode ini telah dikembangkan untuk produksi nanopartikel gelatin dengan mengurangi kesalahan yang terjadi saat produksi [10].

2.5 Karakteristik Penyalut Gelatin

Proses nanoenkapsulasi bahan obat menggunakan penyalut gelatin dan glutaraldehida sebagai *crosslinker* menunjukkan bahwa jumlah glutaraldehida yang digunakan berpengaruh terhadap ukuran dan morfologi nanopartikel gelatin. Namun umumnya nanopartikel yang dihasilkan berbentuk bulat dengan distribusi ukuran yang merata serta memiliki pori-pori yang besar. Pori-pori tersebut dalam proses enkapsulasi akan terisi oleh bahan aktif. Pada proses nanoenkapsulasi protein menggunakan penyalut gelatin diperoleh ukuran partikel 180 ± 10 nm untuk nanopartikel ter-hidrasi sedangkan nanopartikel gelatin yang sudah dikeringkan memiliki ukuran sekitar 2,82 nm [8].

2.6 Uji Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Mikroorganisme dapat menyebabkan bahaya karena kemampuan menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta merusak bahan pangan. Antibakteri termasuk ke dalam antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri hanya dapat digunakan jika mempunyai sifat toksik selektif. Artinya dapat membunuh bakteri yang menyebabkan penyakit tapi tidak beracun bagi penderitanya. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, menghambat sintesis asam nukleat dan protein [17].

Aktivitas senyawa antibakteri dipengaruhi oleh pH, suhu, stabilitas senyawa antibakteri, jumlah bakteri dan aktivitas metabolisme bakteri. Berdasarkan aktivitasnya zat antibakteri dibedakan menjadi dua jenis yaitu bakteriostatik dan bakteriosidal. Bakteriostatik adalah zat antibakteri yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak mematikan. Bakteriosidal adalah zat antibakteri yang memiliki aktivitas membunuh bakteri [18].

Pengujian mikrobiologi memanfaatkan mikroorganisme sebagai indikator pengujian. Mikroorganisme yang digunakan sebagai penentu konsentrasi komponen zat kimia untuk mendiagnosa penyakit tertentu serta untuk menentukan potensi mutagenik dan karsinogenik suatu bahan obat. Kegunaan uji antibakteri adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Berikut ini berbagai macam metode uji antimikroba [19]:

1. Metode Difusi

- a. Metode *disc diffusion*, untuk menentukan aktivitas zat antibakteri. Zat antibakteri diletakan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Zat antibakteri akan berdifusi pada media agar. Zona bening yang terbentuk adalah zona hambatan zat antibakteri terhadap mikroorganisme.
- b. Metode *E-test* digunakan untuk menentukan MIC (minimum inhibitor concentration), yaitu konsentrasi minimal zat antibakteri untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan trip plastik yang mengandung zat antibakteri dari kadar terendah hingga kadar tertinggi dan diletakan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar zat antibakteri yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.
- c. Metode *Ditch-plate technique*, pada metode ini sampel uji berupa zat antibakteri diletakan pada parit yang digunakan dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan bakteri uji digoreskan ke arah parit yang berisi zat antibakteri.
- d. Metode *Cup-plate technique*, metode ini serupa dengan *disc diffusion* dimana dibuat sumur pada media agar yang telah

- ditanami mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi zat antimikroba yang akan diuji.
- e. Metode *Gradient plate technique*, pada metode ini konsentrasi zat antibakteri pada media agar secara teoritis bervariasi dari nol hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrien kedua dituangkan di atasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Bakteri uji digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan. Perlu diperhatikan bahwa hasil perbandingan yang didapat dari lingkungan padat dan cair, faktor dilusi zat antibakteri dapat mempengaruhi keseluruhan hasil pada media padat.
2. Metode Dilusi
 - Metode dilusi dibagi menjadi dua macam yaitu dilusi cair dan dilusi padat.
 - a. Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur MIC atau konsentrasi hambat minimum. Cara yang dilakukan adalah dengan memberi seri pengenceran zat antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji. Larutan uji zat antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM.
 - b. Metode dilusi padat serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungan metode ini adalah suatu konsentrasi zat antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa bakteri uji.

2.8 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Antibakteri

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas zat antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Berikut ini adalah beberapa hal yang mempengaruhi aktivitas zat antibakteri [19]:

1. Konsentrasi zat antimikroba: semakin tinggi konsentrasi zat antibakteri semakin tinggi aktivitas hambatnya.

2. Jumlah mikroorganisme: semakin banyak jumlah mikroorganisme yang ada maka semakin lama waktu untuk membunuh bakteri.
3. Suhu: kenaikan suhu dapat meningkatkan daya hambat bakteri karena reaksi kimia yang dapat merusak mikroorganisme dapat dipercepat dengan meningkatnya suhu.
4. Spesies mikroorganisme: setiap spesies mikroorganisme menunjukkan ketahanan yang berbeda-beda terhadap zat antibakteri.
5. Keasaman (pH): mikroorganisme yang hidup pada pH asam dan suhu rendah akan lebih mudah dirusak dibandingkan dengan mikroorganisme yang hidup pada pH basa.



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian mulai dilaksanakan Maret hingga Juni 2018 di laboratorium Kimia Organik, laboratorium Instrumen Kimia Jurusan Kimia, laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya dan Institut Atsiri Universitas Brawijaya.

3.2 Alat Penelitian

Adapun peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas kimia ukuran 100 mL dan 250 mL, gelas arloji, gelas ukur 10 mL, pipet tetes, corong gelas, tabung reaksi, erlenmeyer 250 mL, batang pengaduk kaca, batang pengaduk besi, botol sampel, botol vial, klem, statif, *hot plate*, *magnetic stirrer*, aluminium foil, seperangkat alat sentrifugasi, *freeze dryer*, kertas label, kertas coklat, cawan petri, karet gelang, *coke bore*, *microcup*, *bluetip*, jarum ose, *spreader*, *haemocytometer*, mikropipet, penggaris, spidol, Homogenizer IKA T25, neraca analitik Ohaus, *freeze dryer*, PSA CILAS 1090 Liquid, PSA Malvern Zetasizer Nanoparticle, SEM TM 3000 Tabletop Microscope Hitachi, Spektrofotometer UV-Vis, Spektrofotometer FT-IR dan Mikroskop Olympus CX21.

3.3 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah 2-sitronelal benzimidazol yang diperoleh dari Institut Atsiri, gelatin, aseton teknis yang sudah redistilasi, asam asetat (pH = 2,5), glutaraldehida 25%, metanol *pro analysis*, alkohol 70%, aquades, nutrien agar, nutrien broth, bakteri *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), dan *S. aureus*.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol dan penentuan efisiensi nanoenkapsulasi
2. Karakterisasi produk nanokapsul
 - a. FT-IR
 - b. PSA

- c. SEM
3. Penentuan profil pelepasan senyawa 2-sitronelil benzimidazol dari nanokapsul
4. Uji antibakteri nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol
5. Analisis Data

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Pembuatan Nanokapsul 2-Sitronelil Benzimidazol dan Penentuan Efisiensi Nanoenkapsulasi

3.5.1.1 Pembuatan Nanokapsul 2-Sitronelil Benzimidazol

Langkah pertama yang dilakukan yaitu gelatin dengan variasi massa 2,0 g sebagai sampel A; 2,5 g sebagai sampel B; 3,0 g sebagai sampel C masing-masing dilarutkan dalam 25 mL aquades dalam keadaan panas. Sebanyak 25 mL aseton ditambahkan ke dalam larutan gelatin lalu diaduk menggunakan homogenizer dengan kecepatan putaran 9.500 rpm selama 20 menit. Ditambahkan 25 mL asam asetat lalu dihomogenisasi selama 10 menit. Ditambahkan 5 mg 2-sitronelil benzimidazol kemudian ditambahkan 50 mL aseton perlahan-lahan ke dalam campuran sambil di aduk menggunakan homogenizer selama 10 menit. Kemudian glutaraldehida (25%) sebanyak 200 μ L ditambahkan ke dalam larutan lalu dihomogenisasi selama 30 menit. Padatan gelatin dipisahkan dari larutan melalui sentrifugasi pada 8000 rpm selama 10 menit. Nanokapsul dikeringkan menggunakan *freeze dryer* selama 48 jam.

3.5.1.2 Kurva Standar 2-Sitronelil Benzimidazol

Ditimbang 2-sitronelil benzimidazol sebanyak 0,2 mg lalu dilarutkan ke dalam campran 1 mL aseton dan metanol 9 mL. Dibuat larutan stok dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 ppm. Kuvet pertama di isi dengan metanol sebagai blanko dan kuvet kedua diisi dengan larutan 2-sitronelil benzimidazol 4 ppm. Larutan 2-sitronelil benzimidazol 4 ppm dianalisis panjang gelombang maksimumnya. Dianalisis seluruh larutan 2-sitronelil benzimidazol menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1601 pada panjang gelombang maksimum. Dibuat kurva baku untuk penentuan efisiensi nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol.

3.5.1.3 Analisis Sampel Nanokapsul 2-Sitronelil Benzimidazol Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Diambil sebanyak 1 mL filtrat hasil sentrifugasi dari masing-masing sampel dan ditambahkan 2 mL metanol kedalam masing-masing sampel. Campuran dimasukan ke dalam kuvet dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1601 series. Hasil analisis ditampilkan berupa data absorbansi. Dihitung konsentrasi 2-sitronelil benzimidazol yang tidak terenkapsulasi dari data absorbansi tersebut menggunakan persamaan dari kurva baku.

3.5.2 Karakterisasi Produk Nanokapsul

3.5.2.1 Karakterisasi Menggunakan FT-IR

Produk nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol diambil sebanyak 1 mg kemudian ditambahkan padatan KBr sebanyak 200 mg. Campuran tumbuk hingga halus menggunakan mortar. Campuran halus di press menggunakan pompa hidrolis lalu dianalisis menggunakan FT-IR Shimadzu 8400S. Spektrum FT-IR discan pada rentang panjang gelombang 400-4000 cm^{-1} .

3.5.2.2 Karakterisasi Menggunakan PSA

Ditimbang sampel nanokapsul C dan nanopartikel gelatin masing-masing sebanyak 250 mg. Lalu masing-masing ditambahkan ke dalam 10 mL aquades. Sampel dilarutkan hingga tidak membentuk gumpalan padatan lagi. Kemudian ditambahkan aquades hingga 100 mL. Sampel dianalisis menggunakan PSA CILAS 1090 Liquid. Sebanyak 5 mL sampel nanokapsul yang belum dilakukan *freeze drying* dilarutkan dalam aseton lalu dianalisis menggunakan PSA Malvern Zetasizer Nanoparticle di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

3.5.2.2 Karakterisasi Menggunakan SEM

Sampel diletakan pada tatakan sampel lalu diratakan menggunakan plat besi. Analisis dilakukan menggunakan SEM TM 3000 Tabletop Microscope Hitachi.

3.5.3 Penentuan Profil Pelepasan 2-Sitronelil Benzimidazol

Nanokapsul C diambil sebanyak 133 mg lalu dimasukkan ke dalam 10 mL campuran aseton dan metanol (1:9). Campuran diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 700 rpm. Pada saat pengadukan 15, 30, 45 dan 60 menit larutan dicuplik dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1601 series.

3.5.4 Uji Antibakteri Nanokapsul Benzimidazol

3.5.4.1 Pembuatan Inokulum Bakteri

Sebanyak 5 mL media agar nutrisi yang sudah disterilkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Media agar nutrisi dibiarkan memadat dalam posisi kemiringan 30° hingga 45° . Kultur bakteri *EPEC* diambil menggunakan jarum ose yang sudah disterilkan lalu digoreskan pada media agar nutrisi dengan posisi zig-zag. Tabung reaksi tersebut dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C . Perlakuan yang sama juga dilakukan pada kultur bakteri *S. aureus*.

3.5.4.2 Pembuatan Suspensi Bakteri

Nutrient broth yang sudah disterilkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Diambil bakteri *EPEC* dari media agar nutrisi sebanyak 1 jarum ose dan dimasukkan ke dalam media *nutrient broth*. *Nutrient broth* yang sudah berisi bakteri diinkubasi selama 24 jam. Dihitung jumlah bakteri dalam suspensi dibawah mikroskop menggunakan *haemocytometer* hingga diperoleh jumlah koloni 10^5 - 10^8 CFU/mL [11]. Perlakuan yang sama dilakukan pada bakteri *S. aureus*.

3.5.4.3 Penentuan Zona Hambat dengan Metode Difusi Sumuran

Sebanyak 133 mg nanokapsul C dilarutkan ke dalam 10 mL campuran aseton dan metanol (1:9). Larutan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 10,5 jam. Pada waktu pengadukan ke 3,5 jam, 7 jam dan terakhir 10,5 jam diambil sebanyak 2 mL. Setiap pengambilan 2 mL diikuti dengan penambahan kembali 2 mL metanol ke dalam larutan nanokapsul. Disediakan cawan petri yang sudah steril. Sebanyak 15 mL media nutrisi agar yang sudah steril dituangkan kedalam cawan petri dan ditunggu hingga memadat. Sebanyak 100 μL suspensi bakteri *EPEC* ditambahkan di atas nutrisi

agar menggunakan mikropipet lalu diratakan menggunakan *spreader*. Dibuat 5 lubang sumuran menggunakan *coke bore* dengan diameter dan kedalaman sekitar 5 mm. Lubang sumuran diisi sebanyak 100 μL larutan nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol hasil pengadukan 3,5 jam, 7 jam dan 10,5 jam serta metanol sebagai kontrol positif (+) dan aquades sebagai kontrol negatif(-). Cawan petri lalu diinkubasi pada suhu 37 °C. Dilakukan pengamatan setelah 18 jam inkubasi. Diukur zona bening yang terbentuk menggunakan penggaris sebagai luas zona hambat. Penentuan zona hambat 2-sitronelil benzimidazol terhadap bakteri *S. aureus* juga dilakukan dengan prosedur yang sama.

3.5.5 Analisis Data

3.5.5.1 Penentuan Efisiensi Nanoenkapsulasi

Hasil pengukuran larutan standar diperoleh data absorbansi yang kemudian diolah menggunakan Microsoft Excel sehingga diperoleh persamaan kurva baku. Dari pengukuran tiga jenis filtrat nanokapsul diperoleh data absorbansi. Konsentrasi 2-sitronelil benzimidazol yang tidak terkapsul dari filtrat tersebut dapat dihitung menggunakan data absorbansi dan kurva baku.

Penentuan efisiensi nanoenkapsulasi 2-sitronelil benzimidazol menggunakan penyalut gelatin dapat dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\% E = \frac{M_e}{M_a} \times 100 \% \quad (5)$$

%E adalah efisiensi nanoenkapsulasi benzimidazol, M_e adalah konsentrasi terenkapsulasi dan M_a adalah konsentrasi awal.

3.5.5.3 Penentuan Zona Hambat

Data yang diperoleh pada saat uji zona hambat adalah diameter zona bening dan diameter lubang. Data tersebut digunakan untuk penentuan zona hambat menggunakan persamaan berikut [15] :

$$\text{Zona hambat} = \text{diameter zona bening} - \text{diameter lubang} \quad (8)$$

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Nanokapsul 2-Sitronelil Benzimidazol dan Penentuan Efisiensi Nanoenkapsulasi

Bahan 2-sitronelil benzimidazol yang digunakan dalam percobaan ini di dapat dari Institut Atsiri Universitas Brawijaya. **Gambar 4.1** berikut ini merupakan hasil analisis KG-SM senyawa 2sitronelil benzimidazol tersebut [20]:



Gambar 4.1 Kromatogram bahan 2-sitronelil benzimidazol

Hasil analisis senyawa 2-sitronelil benzimidazol ditunjukkan dalam **Gambar 4.1** di atas sedangkan spektrum massa ditunjukkan dalam **Lampiran E.2** Berdasarkan kromatogram tersebut maka diperoleh informasi bahwa ada satu puncak dengan waktu retensi 15,34 menit. Data tersebut menunjukkan bahwa terdapat 1 komponen dengan $m/z = 242$. Tabulasi data identifikasi KG-SM ditunjukkan dalam **Tabel 4.1** berikut ini:

Tabel 4.1 Tabulasi hasil analisis KG-SM 2-sitronelil benzimidazol

Puncak	Waktu Retensi (menit)	Pola Fragmentasi (m/z)
1	15,34	242.2, 227.1, 199.1, 173.1, 159, 145.1 (base peak), 130, 104.1, 77.1, 55.1

Berdasarkan data KG-MS ini maka dapat dipastikan bahwa kemurnian senyawa 2-sitronelil benzimidazol sangat tinggi karena hanya terdapat satu peak saja pada kromatogram. Oleh karena itu maka 2-sitronelil benzimidazol yang diperoleh dari Institut Atsiri Universitas Brawijaya layak digunakan dalam pembuatan nanokapsul.

Nanoenkapsulasi 2-sitronelil benzimidazol menggunakan penyalut gelatin dan glutaraldehida. Digunakannya gelatin sebagai penyalut karena gelatin merupakan biopolimer yang sering digunakan sebagai carrier dalam penyajian obat atau vaksin di bidang farmaseutikal. Penggunaan gelatin sangat digemari karena sifatnya biodegradabel, biokompatibel, non-antigenisitas, murah dan mudah didapatkan. Dibandingkan dengan carrier koloidal lainnya, nanopartikel gelatin-glutaraldehida lebih stabil ketika berada didalam cairan biologis. *Nanocarrier* gelatin dapat membantu *control release* dan *sustainable release* dari bahan obat agar sesuai dengan yang diinginkan [7]. Digunakan pula glutaraldehida dalam penelitian ini sebagai *linker*. Gelatin mempunyai gugus amina yang dapat bereaksi dengan gugus karbonil glutaraldehida membentuk ikatan silang atau *cross linking*. Reaksi antara gugus amina dari gelatin dan gugus karbonil dari glutaraldehida menghasilkan zat berwarna kuning menunjukkan adanya gugus imin (C=N) [23]. Produk nanokapsul dari reaksi *cross linking* gelatin-glutaraldehida dalam penelitian ini juga berwarna kuning. Produk nanokapsul yang diperoleh berwarna kuning pucat hingga kuning kecoklatan. Semakin banyak gelatin yang digunakan maka produk yang diperoleh semakin berwarna kuning kecoklatan. Sampel A dan produk gelatin-glutaraldehid yang diperoleh tidak ada perbedaan warna yang signifikan. Kedua produk tersebut berwarna kuning pucat dengan penggunaan gelatin sebanyak 2 g. Sampel B dan sampel C memiliki warna yang tidak jauh berbeda. Namun jika diperhatikan dengan seksama maka sampel C terlihat lebih kecoklatan dibandingkan dengan sampel B.

Berikut ditampilkan produk nanokapsul dan nanopartikel gelatin-glutaraldehid pada **Gambar 4.2**.



Gambar 4.2 Produk nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol

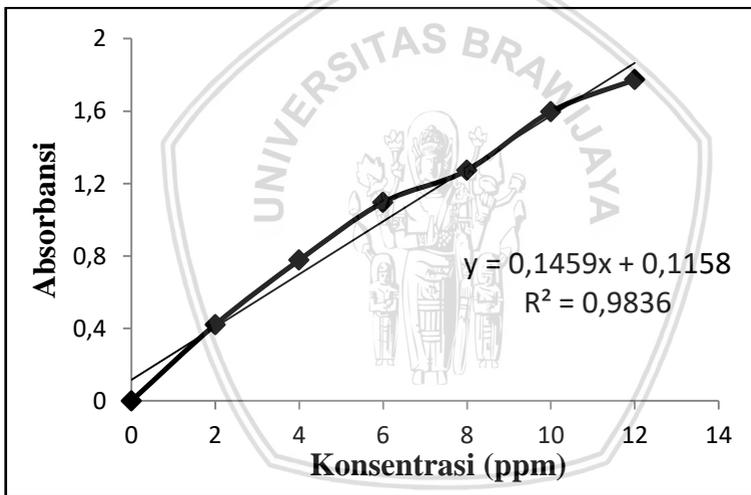
Berikut perbandingan massa produk hasil nanoenkapsulasi 2-sitronelil benzimidazol menggunakan ketiga massa penyalut yang berbeda disajikan dalam **Tabel 4.2**.

Tabel 4.2 Tabulasi produk nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol

Sampel	Massa Penyalut (g)	Massa Nanokapsul (g)
A	2	1,04
B	2,5	1,21
C	3	1,88

Berdasarkan **Tabel 4.2** dapat diketahui bahwa produk nanokapsul dengan massa paling besar dihasilkan dari pembuatan nanokapsul menggunakan 3 g penyalut gelatin. Semakin banyak jumlah penyalut maka semakin banyak produk nanokapsul yang diperoleh. Hal ini terjadi karena parameter yang berbeda dalam pembuatan nanokapsul ini yang berbeda hanyalah massa penyalut. Sedangkan pelarut, *linker*, bahan aktif dan lama pengadukan dalam pembuatan 3 jenis nanokapsul tidak ada perbedaan.

Penentuan efisiensi nanoenkapsulasi dilakukan untuk mengetahui tingkat keberhasilan proses nanoenkapsulasi 2-sitronelil benzimidazol menggunakan penyalut gelatin. Pada penentuan efisiensi nanoenkapsulasi dapat diketahui jumlah 2-sitronelil benzimidazol yang telah terenkapsulasi didalam nanopartikel gelatin-glutaraldehid. Penentuan efisiensi dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Senyawa 2-sitronelil benzimidazol diukur λ_{maks} sehingga diperoleh sebesar 274.4 nm. Angka ini dapat dipertanggungjawabkan karena menurut Steck dkk [16] λ_{maks} senyawa 2-sitronelil benzimidazol adalah 274 nm. Harga λ_{maks} digunakan untuk mengukur absorbansi larutan standar maupun sampel. Berikut kurva standar 2-sitronelil benzimidazol yang ditampilkan dalam **Gambar 4.3**.



Gambar 4.3 Kurva standar 2-sitronelil benzimidazol

Diperoleh dari kurva standar 2-sitronelil benzimidazol berupa persamaan garis $y = 0,1459x + 0,1158$ dan regresi linear (R^2) sebesar 0,9836. Setelah dibuat kurva standar 2-sitronelil benzimidazol, ketiga filtrat sisa pembuatan nanokapsul diukur absorbansi dan dihitung konsentrasinya. Data konsentrasi tersebut digunakan untuk menghitung efisiensi nanoenkapsulasi. **Tabel 4.3** menampilkan data pengukuran sampel untuk penentuan efisiensi nanoenkapsulasi.

Tabel 4.3 Tabulasi data untuk penentuan efisiensi nanoenkapsulasi

Sampel	Konsentrasi Filtrat (ppm)	Efisiensi (%)
A	29,631	55,55
B	30,264	54,60
C	29,166	56,25

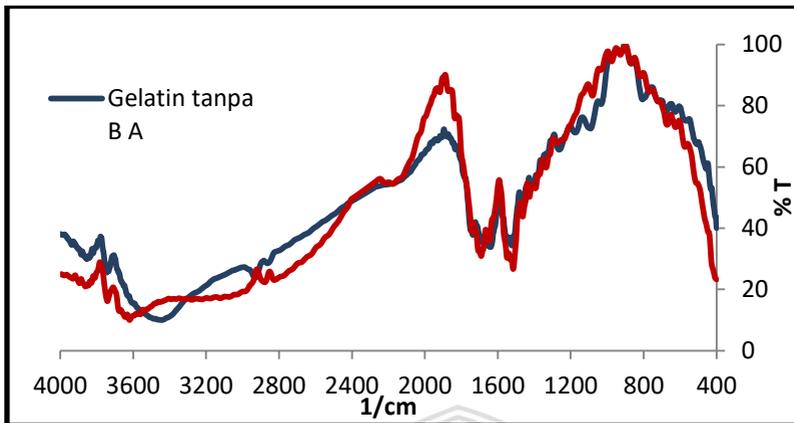
Berdasarkan **Tabel 4.3** diperoleh informasi bahwa konsentrasi 2-sitronelil benzimidazol yang tersisa di dalam filtrat sampel A, B dan C berturut-turut adalah 29,631 ppm, 30,264 ppm dan 29,166 ppm. Konsentrasi filtrat yang paling besar terukur dari sampel B sedangkan konsentrasi filtrat terendah terukur dari sampel C. Data tersebut menunjukkan bahwa jumlah 2-sitronelil benzimidazol di dalam filtrat sampel B > sampel A > sampel C. Oleh karena itu efisiensi nanoenkapsulasi sampel C lebih besar dibandingkan efisiensi nanoenkapsulasi dari sampel A dan sampel B. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa efisiensi nanoenkapsulasi 2-sitronelil benzimidazol dari sampel A, B dan C berturut-turut adalah 55,55%, 54,60% dan 56,25%. Sampel C dengan efisiensi terbesar akan digunakan untuk karakterisasi, penentuan profil pelepasan dan uji antibakteri.

4.2 Karakterisasi Produk Nanokapsul

4.2.1 Karakterisasi Menggunakan FT-IR

Produk nanokapsul yang diperoleh dianalisis menggunakan FT-IR untuk membuktikan keberadaan 2-sitronelil benzimidazol dalam nanokapsul. Identifikasi dilakukan pada daerah serapan bilangan gelombang $400-4000\text{ cm}^{-1}$. Hasil spektra masing-masing produk nanokapsul dengan nanopartikel gelatin-glutaraldehida ditampilkan pada **Lampiran F.1** dan **Lampiran F.2**.

Berikut hasil analisis gugus fungsi dari spektra FT-IR produk nanokapsul dengan nanopartikel gelatin-glutaraldehida yang ditampilkan dalam **Gambar 4.4**.



Gambar 4.4 Spektre FT-IR sampel nanokapsul dan nanopartikel gelatin-glutaraldehyda

Tabel 4.4 Tabulasi puncak serapan bilangan gelombang produk nanokapsul dan nanopartikel gelatin-glutaraldehyda

Bilangan Gelombang(cm^{-1})	Bilangan Gelombang (cm^{-1})		Gugus Fungsi
	Nanopartikel Gelatin-Glutaraldehyda	Produk Nanokapsul	
1550-1650	1638.21	1645.93	C=N
2800-3000	2862.93	2826.28	C-H (sp^3)
3000-3100	-	3036.51	C-H (sp^2)
1430-1500	-	1462.70	C=C (aromatis)
1230-1020	1090.47	1080.83	C-N

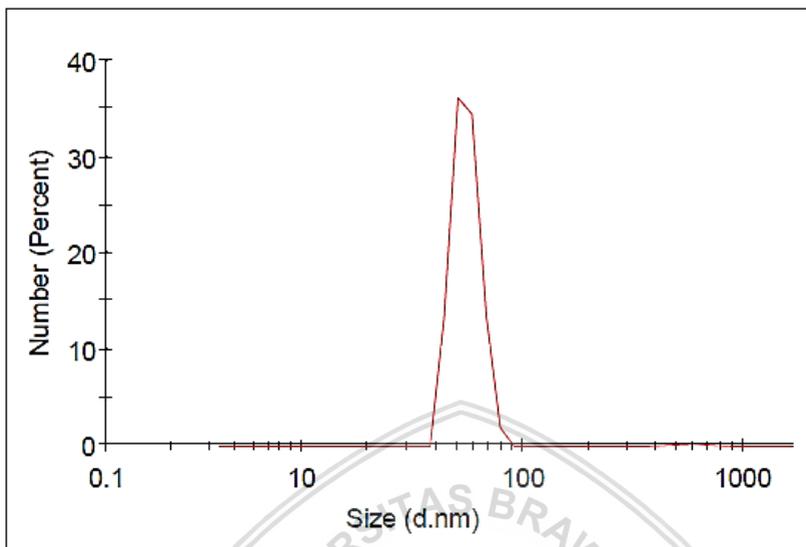
Berdasarkan **Tabel 4.4** dapat dilihat bahwa ada perbedaan dari daerah serapan. Serapan yang muncul dari sampel nanopartikel gelatin-glutaraldehyda yaitu pada bilangan gelombang 1638.21 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C=N, bilangan gelombang 2862.93 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C-H (sp^3), bilangan gelombang 1090.47 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C-N. Serapan yang muncul dari sampel nanokapsul yaitu pada bilangan gelombang 1645.93 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C=N, bilangan gelombang 2826.28 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C-H (sp^2), bilangan gelombang 1462.70 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus



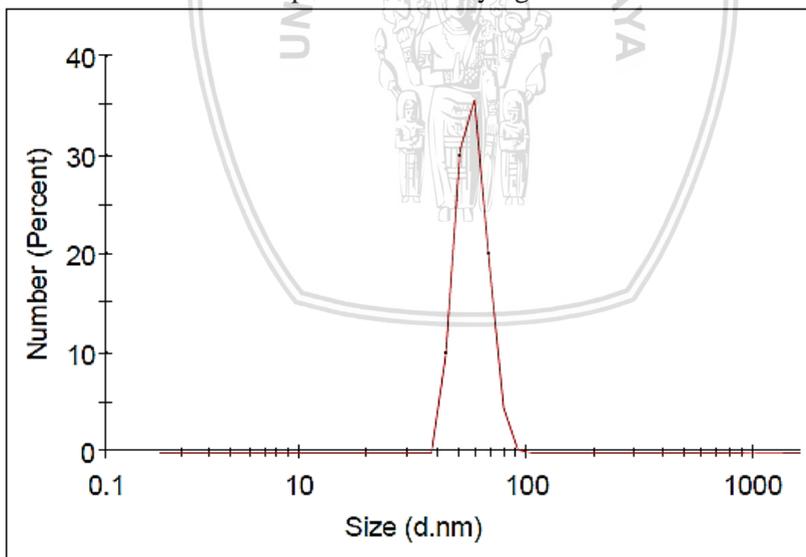
C-C (aromatis), bilangan gelombang 3036.51 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C-H (sp^3) bilangan gelombang 1090.47 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C-N. Spektra produk nanokapsul menunjukkan keberadaan gugus C-H (sp^2) dan C-C (aromatis) sedangkan pada nanopartikel gelatin-glutaraldehida tidak terdapat kedua gugus tersebut. Gugus C-H (sp^2) dan C-C (aromatis) adalah gugus yang terdapat di dalam senyawa senyawa 2-sitronelil benzimidazol namun tidak terdapat di dalam hasil *cross linking* gelatin-glutaraldehida. Berdasarkan perbedaan spektra tersebut dapat diketahui bahwa di dalam produk nanokapsul terdapat 2-sitronelil benzimidazol.

4.4.2 Karakterisasi Menggunakan PSA

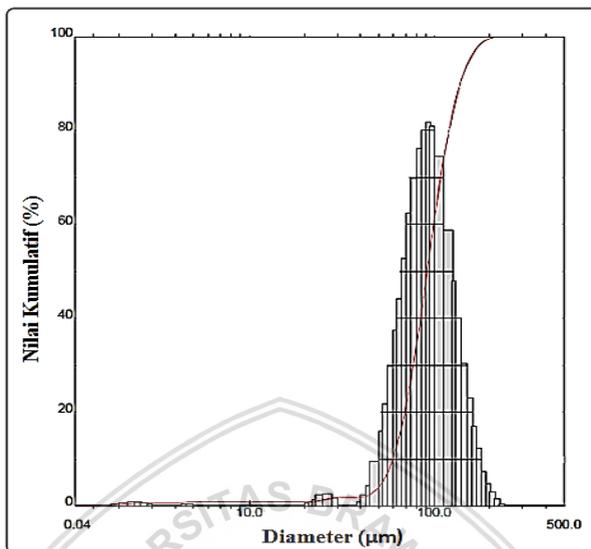
Penentuan ukuran partikel produk nanokapsul dan nanopartikel gelatin-glutaraldehida dilakukan dalam dua kondisi yang berbeda. Pertama, jenis sampel yang digunakan adalah sampel dengan perlakuan freeze drying dan sampel tanpa perlakuan freeze drying. Kedua, jenis alat PSA yang digunakan juga berbeda. Sampel tanpa perlakuan freeze drying diuji menggunakan PSA Malvern Zetasizer Nanoparticle yang berada di Laboratorium Fisika Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya sedangkan sampel dengan perlakuan freeze drying diuji menggunakan PSA CILAS 1090 Liquid yang berada di laboratorium Kimia Fisika FMIPA UB. Hasil uji PSA terhadap nanokapsul dan nanopartikel gelatin-glutaraldehida tanpa dilakukan freeze drying disajikan dalam **Gambar 4.5** dan **Gambar 4.6**. Sedangkan hasil uji PSA terhadap nanokapsul dan nanopartikel gelatin yang dilakukan freeze drying ditampilkan pada **Gambar 4.7** sampai **Gambar 4.8**.



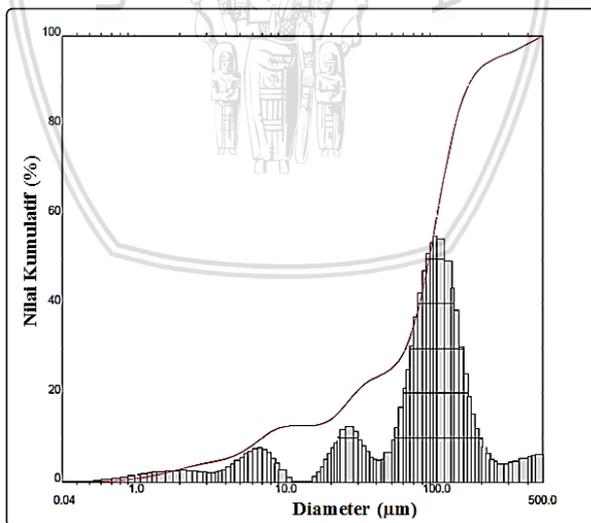
Gambar 4.5 Distribusi ukuran diameter partikel nanokapsul C tanpa proses freeze drying



Gambar 4.6 Distribusi ukuran diameter nanopartikel gelatin-glutaraldehyda tanpa proses freeze drying



Gambar 4.7 Distribusi ukuran diameter nanokapsul dengan proses freeze drying



Gambar 4.8 Distribusi ukuran diameter nanopartikel gelatin-glutaraldehida dengan proses freeze drying

Tabulasi perbandingan data ukuran sampel nanokapsul C tanpa proses freeze drying dan nanopartikel gelatin-glutaraldehida tanpa proses freeze drying disajikan dalam **Tabel 4.5**

Tabel 4.5 Tabulasi perbandingan ukuran nanokapsul dengan nanopartikel gelatin-glutaraldehida tanpa proses freeze drying

Sampel	Ulangan	Diameter	StD	% Kelimpahan
Nanokapsul C	1	55,51 nm	7,894	99,2
	2	74,83 nm	10,81	99,0
	3	78,30 nm	12,84	99,3
Nanopartikel Gelatin-Glutaraldehida	1	51,02 nm	5,293	100
	2	57,63 nm	8,842	99,9
	3	64,95 nm	9,556	99,6

Tabulasi perbandingan data ukuran sampel nanokapsul C yang difreeze drying dan nanopartikel gelatin-glutaraldehida yang difreeze drying disajikan dalam **Tabel 4.6**

Tabel 4.6 Tabulasi perbandingan ukuran nanokapsul dengan nanopartikel gelatin-glutaraldehida

Sampel	Diameter	Nilai Kumulatif
Nanokapsul C	7.020 nm	10 %
	88.950 mm	50 %
	169.460 nm	90 %
Nanopartikel Gelatin-Glutaraldehida	59.730 nm	10 %
	91.610 nm	50 %
	138.480 nm	90 %

Jika dibuat perbandingan ukuran partikel zat tanpa proses freeze drying dengan perlakuan freeze drying pada nanokapsul C dan nanopartikel gelatin maka diperoleh hasil seperti pada **Tabel 4.7**. Ukuran nanopartikel gelatin-glutaraldehida menggunakan diameter pada 90%.



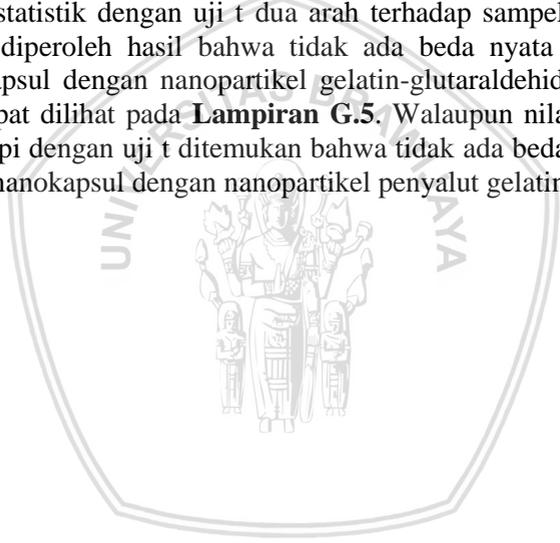
Tabel 4.7 Tabulasi perbandingan ukuran partikel dengan proses freeze drying dan tanpa freeze drying

Sampel	Mean Diameter	
	Tanpa Freeze Drying	Dengan Freeze Drying
Nanokapsul C	69,24 nm	169.460 nm
Nanopartikel Gelatin-Glutaraldehida	57,86 nm	138.480 nm

Berdasarkan **Tabel 4.7** maka dapat diketahui bahwa ukuran partikel nanokapsul C dan ukuran nanopartikel gelatin-glutaraldehida dengan freeze drying berturut-turut adalah 169.460 nm dan 138.480 nm. Ukuran partikel nanokapsul C dan nanopartikel gelatin-glutaraldehida tanpa freeze drying berturut-turut adalah 69,24 nm dan 57,86 nm. Menurut Azeredo [21] suatu partikel digolongkan ke dalam nanopartikel jika ukurannya tidak lebih besar dari 100 nm. Menurut IUPAC nanopartikel merupakan partikel yang berukuran 1-100 nm. Berdasarkan hasil pengukuran tersebut maka ukuran partikel dengan proses freeze drying dikategorikan dalam semi nanopartikel karena ukurannya masih di atas 500 nm sedangkan ukuran partikel tanpa proses freeze drying tergolong nanopartikel. Menurut Seyfoddin dan Al-Kassas [22] *freeze drying* membantu menjaga stabilitas formulasi partikel, namun dalam beberapa kasus dapat mempengaruhi kualitas produk akhir. Ukuran partikel dapat meningkat secara signifikan setelah proses *freeze drying*. Terjadi penurunan nilai zeta potensial setelah proses *freeze drying*. Zeta potensial merupakan parameter muatan listrik antara partikel koloid. Semakin tinggi nilai zeta potensial maka semakin kecil interaksi antar partikel sebaliknya semakin rendah nilai zeta potensial maka semakin besar interaksi antar partikel yang menyebabkan terjadinya koagulasi. Perubahan ukuran partikel setelah proses *freeze drying* disebabkan oleh agregasi partikel. Agregasi partikel yang berujung pada terjadinya koagulasi menyebabkan ukuran partikel menjadi lebih besar. Faktor lain yang dapat menyebabkan adanya perbedaan ukuran partikel adalah alat yang digunakan berbeda. Pengukuran diameter partikel yang menghasilkan ukuran antara 138.000-169.000 nm menggunakan PSA mikropartikel dengan rentang pengukuran

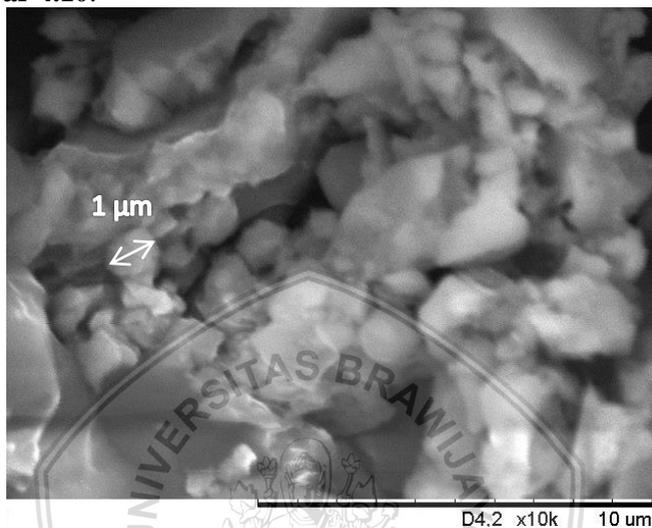
diameter 40 nm-500.000 nm. Sedangkan pengukuran diameter partikel yang menghasilkan ukuran partikel 57-69 nm dilakukan menggunakan PSA nanopartikel dengan rentang pengukuran 0,1-10.000 nm. Penyebab lain yang menyebabkan ukuran partikel menjadi lebih besar pada pengujian PSA sampel dengan proses freeze drying adalah penggunaan pelarut air. Sedangkan pada pengujian PSA sampel tanpa proses freeze drying menggunakan pelarut metanol. Penggunaan pelarut air mengakibatkan terjadinya *swelling* atau pengembangan partikel sehingga ukuran partikel menjadi lebih besar [8]. Akumulasi dari ketiga faktor tersebut menyebabkan perbedaan ukuran partikel yang sangat jauh pada sampel dengan freeze drying dengan sampel tanpa freeze drying.

Hasil uji statistik dengan uji t dua arah terhadap sampel tanpa freeze drying diperoleh hasil bahwa tidak ada beda nyata antara ukuran nanokapsul dengan nanopartikel gelatin-glutaraldehyd. Data uji statistik dapat dilihat pada **Lampiran G.5**. Walaupun nilai rata-rata berbeda tapi dengan uji t ditemukan bahwa tidak ada beda nyata antara ukuran nanokapsul dengan nanopartikel penyalut gelatin.

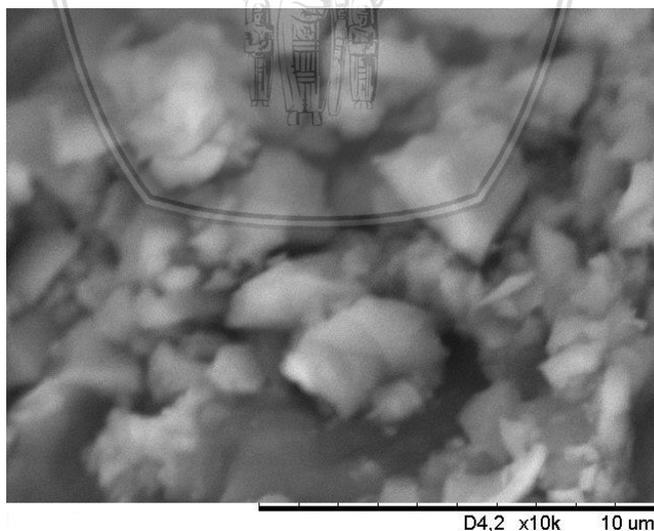


4.4.2 Karakterisasi Menggunakan SEM

Hasil karakterisasi menggunakan SEM sampel nanokapsul C dan nanopartikel gelatin ditampilkan pada **Gambar 4.9** dan **Gambar 4.10**.



Gambar 4.9 Gambar SEM dari nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol



Gambar 4.10 Gambar SEM dari nanopartikel gelatin-glutaraldehida

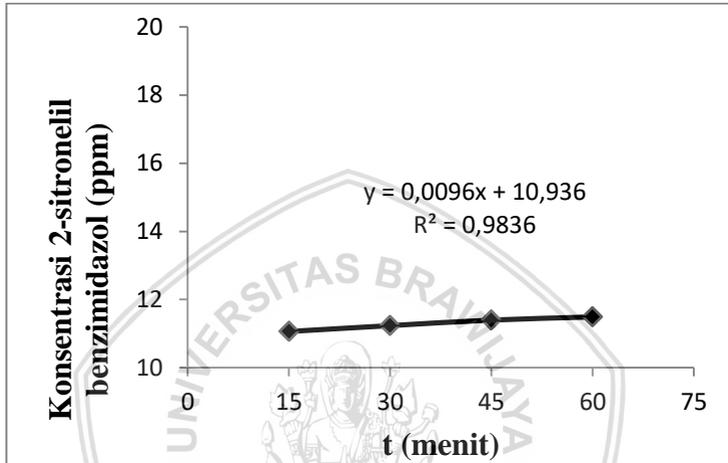
Karakterisasi menggunakan SEM dilakukan untuk mengetahui distribusi bentuk morfologi dan ukuran partikel sampel nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol dan nanopartikel gelatin-glutaraldehid. Hasil karakterisasi berupa **Gambar 4.9** dan **Gambar 4.10** diambil pada perbesaran 10.000 kali. Berdasarkan gambar tersebut dapat diketahui bahwa distribusi bentuk morfologi dan ukuran partikel baik nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol maupun nanopartikel gelatin-glutaraldehid masih belum merata. **Gambar 4.9** menunjukkan bahwa ada sebagian partikel nanokapsul yang berbentuk bulat dengan kisaran ukuran 1 μm . Ukuran ini belum mewakili ukuran rata-rata dari keseluruhan partikel. Ada perbedaan yang masih cukup jauh antara ukuran partikel dilihat dari hasil SEM dengan hasil uji PSA nanokapsul dengan proses freeze drying. Perbedaan ini dicurigai akibat penggunaan pelarut air pada preparasi sampel untuk uji PSA. Menurut Akhter dkk [8] ukuran larutan nanopartikel gelatin adalah 180 ± 10 nm sedangkan ukuran nanopartikel gelatin kering adalah 2,82 nm.

Pada **Gambar 4.10** dapat diketahui bahwa nanopartikel gelatin-glutaraldehid bentuknya tidak beraturan dengan distribusi ukuran partikel heterogen sehingga sulit menentukan partikel. Menurut Akhter dkk [8], bagian pori-pori dalam nanopartikel gelatin terisi oleh bahan aktif yang terenkapsulasi secara homogen menyebabkan nanokapsul berbentuk bulat dengan distribusi ukuran partikel yang merata. Distribusi bentuk dan ukuran yang tidak merata diperkirakan terjadi akibat proses *freeze drying* yang dilakukan. Seyfoddin dan Al-Kassas [22] *freeze drying* dapat menyebabkan koagulasi yang menyebabkan perubahan pada ukuran maupun bentuk partikel menjadi gumpalan lebih besar. Dari hasil pengukuran PSA baik sampel nanokapsul maupun nanopartikel gelatin menunjukkan adanya keseragaman ukuran partikel. Hal tersebut ditandai dengan ditemukan adanya satu peak saja dengan % kelimpahan mendekati 100%. Hal ini membuktikan bahwa proses freeze drying sangat

berpengaruh terhadap hasil karakterisasi nanokapsul maupun nanopartikel gelatin-glutaraldehida.

4.3 Penentuan Profil Pelepasan 2-Sitronelil Benzimidazol

Berikut adalah profil pelepasan 2-sitronelil benzimidazol dari nanokapsul.



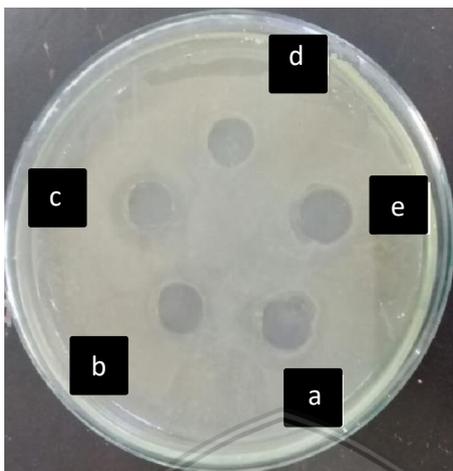
Gambar 4.11 Profil pelepasan 2-sitronelil benzimidazol

Berdasarkan **Gambar 4.11** dilihat bahwa garis yang terbentuk cukup linear dengan nilai atas regresi linear (R^2) sebesar 0,9836. Pada gambar tersebut menampilkan garis yang landai menunjukkan bahwa perubahan konsentrasi 2-sitronelil yang dilepaskan dari waktu pengadukan 15 menit hingga 60 menit tidak terlalu signifikan. Perubahan konsentrasi yang terjadi setiap pengadukan 15 menit adalah sekitar 0,1 hingga 0,2 ppm.

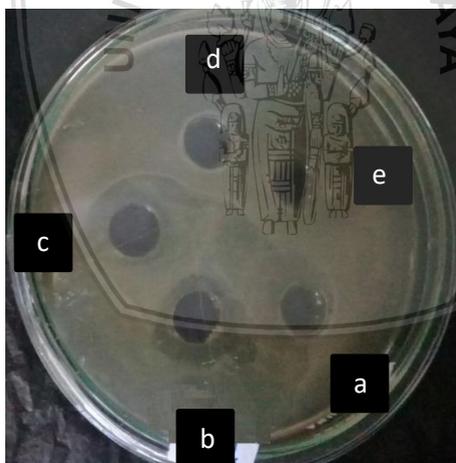
4.4 Uji Antibakteri

4.4.1 Penentuan Zona Hambat dengan Metode Difusi Sumuran

Penentuan zona hambat dilakukan menggunakan metode difusi sumuran. Zona bening merupakan zona hambat bakteri oleh 2-sitronelil benzimidazol. Zona bening yang terbentuk diukur menggunakan mistar. Hasil pengamatan zona hambat setelah inkubasi 18 jam disajikan dalam **Gambar 4.12** dan **Gambar 4.13**.



Gambar 4.12 Zona hambat larutan nanokapsul hasil pengadukan 3,5 jam (a), 7 jam (b), 10,5 jam (c), aquades (d) dan metanol (e) terhadap bakteri *EPEC*.



Gambar 4.13 Zona hambat larutan nanokapsul hasil pengadukan 3,5 jam (a), 7 jam (b), 10,5 jam (c), aquades (d) dan metanol (e) terhadap bakteri *S. aureus*.

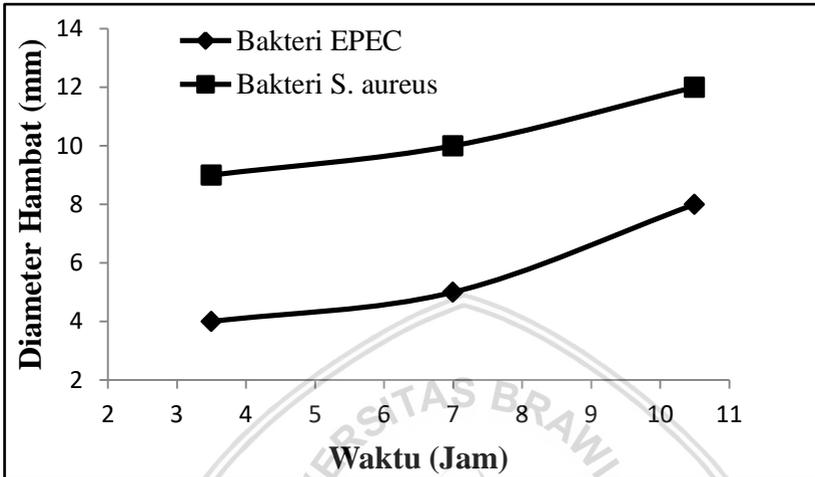
Berdasarkan hasil pengamatan bahwa ketiga larutan nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol memiliki aktivitas antibakteri karena

ditemukan zona bening disekitar sumur media. Pada sumuran aquades tidak ditemukan area bening sedangkan pada sumuran metanol ditemukan area bening dengan diameter yang lebih kecil dibandingkan dengan ketiga larutan nanokapsul. Tidak ditemukannya area bening pada sumuran aquades disebabkan oleh aquades bertindak sebagai kontrol negatif yang tidak memiliki kemampuan menghambat bakteri. Diameter zona bening pada daerah sekitar sumuran metanol yang lebih kecil dibandingkan larutan nanokapsul menunjukkan bahwa aktivitas menghambat bakteri larutan nanokapsul lebih besar dibandingkan dengan metanol. Ketiga larutan nanokapsul diperoleh dari tiga variasi waktu pengadukan larutan nanokapsul menggunakan *magnetic stirrer*. Lama pengadukan yang dilakukan adalah 3,5 jam, 7 jam dan 10,5 jam dengan konsentrasi larutan nanokapsul awal (belum dipelepasan) adalah 20 ppm. Dari ketiga larutan tersebut diperoleh data diameter hambat seperti yang ditunjukkan dalam **Tabel 4.8**.

Tabel 4.8 Diameter hambat 2-sitronelil benzimidazol

Biakan Bakteri	Jumlah Sel Bakteri (CFU/mL)	Lama Pengadukan (jam)	Diameter Hambat (mm)
Bakteri EPEC	$7,8 \times 10^7$	3,5	4
		7,0	5
		10,5	8
Bakteri <i>S. aureus</i>	$8,4 \times 10^7$	3,5	9
		7,0	10
		10,5	12

Berdasarkan **Tabel 4.8** dibuat grafik seperti **Gambar 4.14** berikut ini:

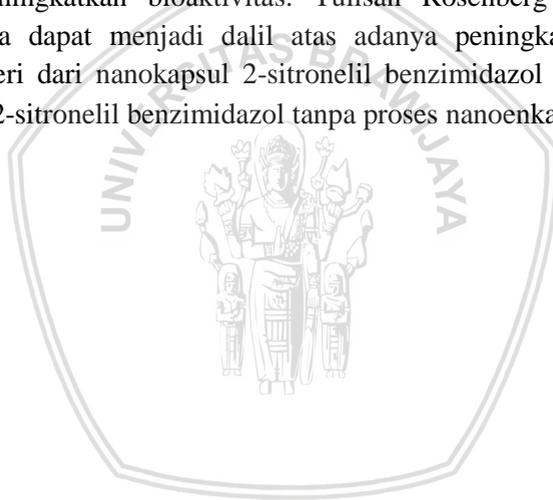


Gambar 4.14 Kurva Zona hambat nanokapsul terhadap bakteri

Berdasarkan **Tabel 4.8** dan **Gambar 4.14** menunjukkan bahwa semakin lama waktu pengadukan larutan nanokapsul maka diameter hambat yang terukur semakin luas. Larutan dengan lama pengadukan 10,5 jam menunjukkan daya hambat paling besar diantara dua larutan uji lainnya. Hal ini logis terjadi karena semakin lama pengadukan maka semakin banyak 2-sitronelil yang ter-pelepasan dari nanokapsul. Larutan nanokapsul menunjukkan daya hambat bakteri paling besar pada bakteri *S. aureus* kemudian EPEC.

Menurut Davis dan Stout [13] kriteria daya hambat kriteria zona hambat dapat digolongkan menjadi sangat kuat, kuat, sedang dan lemah. Dikategorikan sangat kuat jika zona hambat >20 mm, kuat jika zona hambat 10-20 mm, sedang jika zona hambat 5-10 mm dan lemah jika <5 mm. Berdasarkan **Tabel 4.8** maka zona hambat terhadap bakteri EPEC dapat digolongkan sedang sedangkan zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* digolongkan kuat. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Azhar [20] larutan 2-sitronelil

benzimidazol 300 ppm dapat menghasilkan zona hambat sebesar 14,3 mm terhadap bakteri EPEC dan 15,7 mm terhadap bakteri *S. aureus*. Jika hasil penelitian ini dibandingkan dengan penelitian Azhar [20] maka dapat dikatakan bahwa zona hambat dalam penelitian ini cukup besar karena konsentrasi awal yang digunakan hanya 20 ppm yang belum dipelepasan. Sedangkan pada larutan hasil pengadukan yang digunakan konsentrasinya akan lebih kecil lagi karena 20 ppm tersebut tidak tepelepasan seluruhnya. Menurut Rosenberg [2] nanoenkapsulasi menyebabkan zat terenkapsulasi membentuk formulasi yang stabil, terlindungi dari oksidasi atau reaksi kimia lainnya yang tidak diinginkan, degradasi oleh mikroba dan meningkatkan bioaktivitas. Tulisan Rosenberg [2] tersebut sekiranya dapat menjadi dalil atas adanya peningkatan aktivitas antibakteri dari nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol dibandingkan dengan 2-sitronelil benzimidazol tanpa proses nanoenkapsulasi.



BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Efisiensi nanoenkapsulasi yang diperoleh adalah 55,55% untuk sampel A, 54,60% untuk sampel B dan 56,25% untuk sampel C.
2. Ukuran nanokapsul 2-sitronelil benzimidazol adalah 69,24 nm sedangkan ukuran nanopartikel gelatin-glutaraldehida adalah 57,86 nm. Distribusi ukuran dan bentuk partikel nanokapsul maupun nanopartikel gelatin-glutaraldehida kering belum merata.
3. Profil pelepasan 2-sitronelil benzimidazol cukup lambat dengan perubahan konsentrasi setelah 15 menit sekitar 0,1 ppm hingga 0,2 ppm
4. Semakin lama waktu pelepasan menunjukkan semakin meningkat luas zona hambat. Zona hambat nanokapsul paling besar terhadap bakteri *S. aureus* dengan rentang zona hambat 9-12 mm.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya dicari alternatif lain untuk pengeringan nanokapsul yang tidak menyebabkan koagulasi dan pemilihan alat pengukuran yang sesuai.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ficai, D. & Grumezescu, A. M. (2017). *Nanostructures for Novel Therapy: Synthesis, Characterization and Applications*. Bukhara: Elsevier
- [2] Rosenberg, M., & Sheu, T. Y. (1996). Microencapsulation of Volatiles by Spray-Drying in Whey Protein-Based Wall Systems. *Int Dairy Journal*, 6(3), 273–284.
- [3] Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M., Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT - Food Science and Technology*, 44(9), 1908–1914.
- [4] Mentşe, E., Yılmaz, F., Emirik, M., Ülker, S., & Kahveci, B. (2018). Synthesis, molecular docking and biological evaluation of some benzimidazole derivatives as potent pancreatic lipase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 76(4), 478–486.
- [5] Ansari, K. F., & Lal, C. (2009). Synthesis and evaluation of some new benzimidazole derivatives as potential antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(5), 2294–2299.
- [6] Broderick, A. H., Breitbach, A. S., Frei, R., Blackwell, H. E., & Lynn, D. M. (2013). Surface-Mediated Release of a Small-Molecule Modulator of Bacterial Biofilm Formation: A Non-Bactericidal Approach to Inhibiting Biofilm Formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Advanced healthcare materials*, 2(7), 993–1000.
- [7] Sahoo, N., Sahoo, R. K., Biswas, N., Guha, A., & Kuotsu, K. (2015). Recent advancement of gelatin nanoparticles in drug and vaccine delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, 81(7), 317–331.
- [8] Akhter, K. F., Zhu, J., & Zhang, J. (2000). Nanoencapsulation of Protein Drug for Controlled Release. *Journal of Physical Chemistry & Biophysics*, 11(1), 1-5
- [9] Kankeaw, U. (2015). The Study of Antibacterial Activity of Benzimidazole Derivative Synthesized from Citronellal. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 5(5), 280–287.
- [10] Coester, C. J., Langer, K., Briesen, H.V., Kreuter, J. (2000). Gelatin nanoparticles by two step desolvation – a new

- preparation method, surface modifications and cell uptake. *J Microencapsul*, 17(2), 187-193.
- [11] Baishya, H. (2017). Application of Mathematical Models in Drug Release Kinetics of Carbidopa and Levodopa ER Tablets. *Journal of Developing Drugs*, 6(2), 1–8.
- [12] Risti, F. E. A. (2016). Pengaruh Aktivitas Antibakteri Minyak Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC*) Terhadap Penghambatan *Salmonella typhimurim*, (Skripsi), Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia.
- [13] Davis, W. W., & Stout, T. R. (2013). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay I. Factors Influencing Variability and Error. *Applied Microbiology*, 22(7), 993–1000.
- [14] Jafari, S. M. (2017). *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries*. Gorgan: Academic Press.
- [15] Siepmann, J & Siepmann, F. (2008). Mathematical Modeling of Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 364(2), 328-343.
- [16] Steck, E. A., Nachod, F. C., Ewing, G. W., Gorman, N. H. (1948). Adsorption spectra of heterocyclic compounds. *J. Am. Chem. Soc*, 70(3), 3406-3410
- [17] Rostinawati, T. (2009). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L.*) Terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar, Universitas Padjajaran, Bandung, Indonesia.
- [18] Brooks, G. F., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2001). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- [19] Pelczar, M & Chan. (1986). *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI-Press
- [20] Azhar, A. Z. (2018). Studi perbandingan metode refluks dan menggunakan bantuan microwave dalam derivatisasi sitronelal menjadi benzimidazol dan uji aktivitasnya sebagai antibakteri, (Skripsi), Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia.

- [21] Azeredo, H. M. C. D. (2009). Nanocomposites for Food Packaging Applications. *Food Research International*, 42(9), 1240-1253
- [22] Seyfoddin, A., & Al-Kassas, R. (2013). Development of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for improving ocular delivery of acyclovir. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 39(4), 508–519.
- [23] Chaochai, T., Imai, Y., Furuike, T., & Tamura, H. (2016). Preparation and Properties of Gelatin Fibers Fabricated by Dry Spinning. *Fibers*, 4(4), 1-11.

