

POTENSI METODE *TWO-STEP DESOLVATION* DALAM SINTESIS NANOPARTIKEL GELATIN SENYAWA ANTIOKSIDAN

Laksmi Putri Adi Indriana¹, Nella Theresia Feliani²

Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Industri Pangan, Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung Sumedang KM.21, Hegarmanah, Jatinangor, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat 45363 Indonesia

Email: Laksmi17001@mail.unpad.ac.id

Abstrak

Senyawa antioksidan memiliki karakteristik yang kurang stabil jika diaplikasikan pada suatu produk pangan. Kemajuan teknologi dalam bidang ilmu pengetahuan menjadi salah satu pemicu dalam pesatnya aplikasi berbasis nanopartikel khususnya pada bidang pangan dan kesehatan. Teknik desolvasi menjadi salah satu teknik sintesis nanopartikel berbasis protein yang dapat menghasilkan nanopartikel yang memiliki karakteristik fisikokimia yang baik khususnya pada senyawa bioaktif yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Metode *two-step desolvation* merupakan metode yang termasuk ke dalam teknik *bottom-up* yang memiliki keunggulan yaitu, lebih ekonomis, tidak beracun, cenderung meningkatkan indeks polidispersitas, dan memerangkap senyawa sehingga cenderung dapat lebih stabil. Penggunaan *cross-linking agent*, *desolvating agent*, dan gelatin mempengaruhi efisiensi sintesis nanopartikel gelatin. Review ini bertujuan untuk memberikan informasi mengenai potensi metode *two-step desolvation* dalam meningkatkan stabilitas nanopartikel gelatin berbasis senyawa antioksidan.

Abstract

Antioxidant compounds have characteristics that are less stable when applied to a food product. Technological advances in the field of science have become one of the triggers for the rapid application of nanoparticles, especially in the fields of food and health. The desolvation technique is one of the protein-based nanoparticle synthesis techniques that can produce nanoparticles that have good physicochemical characteristics, especially in bioactive compounds that have the ability as antioxidants. The two-step desolvation method is a method that belongs to the bottom-up technique which has advantages, namely, it is more economical, non-toxic, tends to increase the polydispersity index, and traps compounds so that they tend to be more stable. The use of cross-linking agent, desolvating agent, and gelatin affects the efficiency of the synthesis of gelatin nanoparticles. This review aims to provide information on the potential of two-step desolvation in increasing antioxidant compound-based gelatin nanoparticles.

Keywords: *Antioxidant, entrapment efficiency, gelatine, nanoparticles, two-step desolvation.*

1. Pendahuluan

Pesatnya aplikasi berbasis teknologi nano merupakan cerminan semakin pesatnya ilmu pengetahuan dan teknologi khususnya pada bidang pangan dan kesehatan. Senyawa antioksidan yang kurang stabil jika diaplikasikan pada obat-obatan dan makanan memerlukan metode yang dapat membuat senyawa antioksidan lebih stabil salah satunya dengan penerapan nanoenkapsulasi. Teknologi nano banyak dikembangkan sebagai pengantar zat aktif dalam suatu produk pangan untuk mengatur laju pelepasan zat aktif, meningkatkan kelarutan, dan meningkatkan penyerapan didalam tubuh. Sehingga nanoenkapsulasi dapat menjadi pendekatan yang efektif dalam memasukkan

senyawa bioaktif dalam bahan pangan (Ningsih *et al.*, 2017). Fabrikasi nanopartikel diklasifikasikan menjadi dua teknik yaitu *top-down* dan *bottom-up* dengan berbagai metode yang terdapat didalamnya. Metode *two-step desolvation* merupakan metode yang termasuk ke dalam teknik *bottom-up* yang memiliki keunggulan yaitu, lebih ekonomis, tidak beracun, cenderung meningkatkan indeks polidispersitas, dan membuat senyawa cenderung lebih stabil (Azimi *et al.*, 2013). Metode *two-step desolvation* dipengaruhi oleh jenis gelatin, *cross-linker*, dan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi senyawa (Ofokansi *et al.*, 2018). Faktor-faktor tersebut yang akan mempengaruhi karakteristik

nanopartikel dan *entrapment efficiency* nanopartikel gelatin yang didapatkan.

2. Bahan dan Metode Penelitian

Menginformasikan jenis penelitian, misalnya survey atau eksperiment, menginformasikan faktor yang diteriti, respon, tahapan dan metode penarikan kesimpulan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Ekstraksi Senyawa Antioksidan

Senyawa bioaktif sangat mudah mengalami degradasi akibat perlakuan ekstraksi dan sintesis pada suatu produk. Perlakuan ekstraksi dapat dipengaruhi oleh metode dan jenis pelarut yang digunakan. Teknik ekstraksi yang umum dilakukan biasanya menggunakan cara maserasi dikarenakan lebih mudah dilakukan dan ekonomis, namun luas permukaan yang dihasilkan masih belum sebaik jika menggunakan metode sonikasi. Tak hanya itu, metode sonikasi juga mempersingkat waktu ekstraksi sehingga hasil yang didapatkan lebih efektif terutama pada senyawa yang sensitif (Agustina *et al.*, 2018). Metode sonikasi merupakan metode dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik yang nantinya akan terbentuk sinyal listrik yang diubah menjadi getaran fisik sehingga memiliki efek kavitasi yang menyebabkan pecahnya molekul-molekul larutan.

Menurut Tardos (2005) dalam Rusdiana *et al.*, (2018), keunggulan metode sonikasi yaitu memiliki ukuran partikel yang kecil dan mencegah terjadinya proses penggumpalan atau sedimentasi selama penyimpanan, dan menghasilkan luas permukaan yang besar sehingga mempercepat penetrasi bahan aktif. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan ekstraksi dengan metode sonikasi adalah lama waktu sonikasi, amplitudo alat ultrasonikator, diameter probe, dan frekuensi sonikasi (Candani *et al.*, 2018; Rusdiana *et al.*, 2018). Nilai tegangan permukaan yang rendah akan menyebabkan adanya gaya tarik menarik permukaan yang lebih rendah akibat partikel-partikel dalam larutan menerima efek peningkatan amplitudo dan lama waktu sonikasi yang akan menyebabkan perubahan ukuran *droplet*. Semakin kecil dan seragam ukuran *droplet* yang dihasilkan maka akan semakin baik dalam penyerapan gelombang ultrasonik sehingga luas permukaan akan lebih besar (Ferdian *et al.*, 2016; Rusdiana *et al.*, 2018). Sekaligus semakin tinggi amplitudo yang digunakan dan waktu sonikasi yang semakin lama menghasilkan nilai tegangan permukaan yang semakin rendah (Rusdiana *et al.*, 2018).

Metode ini biasanya digunakan untuk produksi nanopartikel seperti nano emulsi dan nanokristal, maupun dalam proses ekstraksi antosianin dan antioksidan (Candani *et al.*, 2018). Metode sonikasi dapat menstabilkan total kandungan antioksidan pada suatu bahan. Pada penelitian Buckow *et al.*, (2010) bahwa kandungan antioksidan dengan menggunakan

metode sonikasi pada frekuensi 20Hz dengan sampel blueberry lebih stabil pada suhu 60°C dengan waktu 120 menit dan hanya kehilangan 10% kandungan antosianin. Hal tersebut juga terjadi pada sampel *red raspberry* total kandungan antosianin meningkat 12,6% dengan penggunaan frekuensi 20Hz dan jika menggunakan frekuensi 490Hz justru hanya meningkat sebesar 6,7% selama 10 menit (Golmohamadi *et al.*, 2013). Maka peningkatan suhu meningkatkan efisiensi ekstraksi seiring dengan meningkatnya koefisien difusi dan kelarutan, sehingga dapat disimpulkan bahwa suhu tidak selalu menyebabkan efek yang tidak diinginkan jika diseimbangkan dengan waktu sonikasi (Candani *et al.*, 2018). Waktu sonikasi dapat menyebabkan peningkatan suhu sekaligus meningkatkan aktivitas antioksidan (Agustina *et al.*, 2018).

Metode ekstraksi juga dipengaruhi oleh pemilihan pelarut yang sesuai dengan komponen senyawa yang akan diekstrak. Pelarut juga disesuaikan dengan tingkat kepolaran suatu senyawa. Senyawa antioksidan yang terkandung dalam kulit buah manggis mayoritas bersifat semi polar seperti polifenol, sedangkan beberapa komponen polifenol seperti flavonoid dan antosianin tersebut akan lebih baik jika dilakukan dalam suasana asam (Achyar *et al.*, 2008; Pramudita *et al.*, 2015). Pelarut yang sering digunakan dalam ekstraksi kulit buah manggis yaitu methanol, etanol, dan etil asetat. Ketiga pelarut bersifat semi polar sehingga sesuai dengan tingkat kepolaran senyawa polifenol pada kulit buah manggis. Kulit buah manggis yang diekstrak menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan rendemen sebesar 10 % - 23,416 % (Caesalpinia & Hotdelina, 2012; Priani *et al.*, 2015), menggunakan etanol menghasilkan rendemen sebesar 2% - 12,841% (Priani *et al.*, 2015; Wathoni *et al.*, 2019) serta menggunakan methanol menghasilkan rendemen sebesar 5% - 21% (Dungir *et al.*, 2012; Putra, 2010). Semakin tinggi kandungan rendemen yang dihasilkan maka, semakin tinggi senyawa yang terekstrak sehingga kandungan antioksidan semakin tinggi (Sie, 2013). Selain itu, menurut penelitian Caesalpinia & Hotdelina (2012) menyatakan bahwa ekstraksi dengan pelarut etil asetat akan mendapatkan nilai IC_{50} lebih kecil atau hampir setara dengan reduksi asam askorbat. Nilai IC_{50} pada yang dihasilkan dalam ekstraksi kulit buah manggis dengan menggunakan pelarut etil asetat sebesar 14,1882 ppm (Caesalpinia & Hotdelina, 2012), menggunakan pelarut etanol sebesar 42,1881 ppm (Sie, 2013), dan menggunakan methanol 16,483 ppm (Dungir *et al.*, 2012). Sehingga berdasarkan acuan nilai IC_{50} pada asam askorbat sebesar 15,3769 ppm (Caesalpinia & Hotdelina, 2012), maka nilai IC_{50} yang paling baik dengan menggunakan pelarut etil asetat. Semakin kecil nilai *inhibitory concentration* (IC_{50}) maka kemampuan menghambat proses oksidasi sebesar 50% akan lebih baik sehingga aktivitas antioksidan sangat kuat (Caesalpinia & Hotdelina, 2012; Srihari & Lingganingrum, 2015). Suatu senyawa dapat dikatakan

memiliki nilai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kategori kuat senilai 50-100 ppm, kategori menengah bernilai 100-150 ppm, dan kategori lemah bernilai 151-200 ppm (Srihari & Lingganingrum, 2015). Sehingga berdasarkan hasil tersebut kekuatan pelarut dalam mengekstrak senyawa antioksidan berturut-turut yaitu etil asetat, methanol, dan etanol, namun ketiganya masuk kedalam nilai IC_{50} yang sangat kuat.

Senyawa bioaktif sangat mudah mengalami degradasi akibat perlakuan ekstraksi dan sintesis pada suatu produk. Perlakuan ekstraksi dapat dipengaruhi oleh metode dan jenis pelarut yang digunakan. Teknik ekstraksi yang umum dilakukan biasanya menggunakan cara maserasi dikarenakan lebih mudah dilakukan dan ekonomis, namun luas permukaan yang dihasilkan masih belum sebaik jika menggunakan metode sonikasi. Tak hanya itu, metode sonikasi juga mempersingkat waktu ekstraksi sehingga hasil yang didapatkan lebih efektif terutama pada senyawa yang sensitif (Agustina *et al.*, 2018). Metode sonikasi merupakan metode dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik yang nantinya akan terbentuk sinyal listrik yang diubah menjadi getaran fisik sehingga memiliki efek kavitasi yang menyebabkan pecahnya molekul-molekul larutan.

Menurut Tardos (2005) dalam Rusdiana *et al.*, (2018), keunggulan metode sonikasi yaitu memiliki ukuran partikel yang kecil dan mencegah terjadinya proses penggumpalan atau sedimentasi selama penyimpanan, dan menghasilkan luas permukaan yang besar sehingga mempercepat penetrasi bahan aktif. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan ekstraksi dengan metode sonikasi adalah lama waktu sonikasi, amplitudo alat ultrasonikator, diameter probe, dan frekuensi sonikasi (Candani *et al.*, 2018; Rusdiana *et al.*, 2018). Nilai tegangan permukaan yang rendah akan menyebabkan adanya gaya tarik menarik permukaan yang lebih rendah akibat partikel-partikel dalam larutan menerima efek peningkatan amplitudo dan lama waktu sonikasi yang akan menyebabkan perubahan ukuran *droplet*. Semakin kecil dan seragam ukuran *droplet* yang dihasilkan maka akan semakin baik dalam penyerapan gelombang ultrasonik sehingga luas permukaan akan lebih besar (Ferdian *et al.*, 2016; Rusdiana *et al.*, 2018). Sekaligus semakin tinggi amplitudo yang digunakan dan waktu sonikasi yang semakin lama menghasilkan nilai tegangan permukaan yang semakin rendah (Rusdiana *et al.*, 2018).

Metode ini biasanya digunakan untuk produksi nanopartikel seperti nano emulsi dan nanokristal, maupun dalam proses ekstraksi antosianin dan antioksidan (Candani *et al.*, 2018). Metode sonikasi dapat menstabilkan total kandungan antioksidan pada suatu bahan. Pada penelitian Buckow *et al.*, (2010) bahwa kandungan antioksidan dengan menggunakan metode sonikasi pada frekuensi 20Hz dengan sampel blueberry lebih stabil pada suhu 60°C dengan waktu 120 menit dan hanya kehilangan 10% kandungan antosianin.

Hal tersebut juga terjadi pada sampel *red raspberry* total kandungan antosianin meningkat 12,6% dengan penggunaan frekuensi 20Hz dan jika menggunakan frekuensi 490Hz justru hanya meningkat sebesar 6,7% selama 10 menit (Golmohamadi *et al.*, 2013). Maka peningkatan suhu meningkatkan efisiensi ekstraksi seiring dengan meningkatnya koefisien difusi dan kelarutan, sehingga dapat disimpulkan bahwa suhu tidak selalu menyebabkan efek yang tidak diinginkan jika diseimbangkan dengan waktu sonikasi (Candani *et al.*, 2018). Waktu sonikasi dapat menyebabkan peningkatan suhu sekaligus meningkatkan aktivitas antioksidan (Agustina *et al.*, 2018).

Metode ekstraksi juga dipengaruhi oleh pemilihan pelarut yang sesuai dengan komponen senyawa yang akan diekstrak. Pelarut juga disesuaikan dengan tingkat kepolaran suatu senyawa. Senyawa antioksidan yang terkandung dalam kulit buah manggis mayoritas bersifat semi polar seperti polifenol, sedangkan beberapa komponen polifenol seperti flavonoid dan antosianin tersebut akan lebih baik jika dilakukan dalam suasana asam (Achyar *et al.*, 2008; Pramudita *et al.*, 2015). Pelarut yang sering digunakan dalam ekstraksi kulit buah manggis yaitu methanol, etanol, dan etil asetat. Ketiga pelarut bersifat semi polar sehingga sesuai dengan tingkat kepolaran senyawa polifenol pada kulit buah manggis. Kulit buah manggis yang diekstrak menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan rendemen sebesar 10 % - 23,416 % (Caesalpinia & Hotdelina, 2012; Priani *et al.*, 2015), menggunakan etanol menghasilkan rendemen sebesar 2% - 12,841% (Priani *et al.*, 2015; Wathoni *et al.*, 2019) serta menggunakan methanol menghasilkan rendemen sebesar 5% - 21% (Dungir *et al.*, 2012; Putra, 2010). Semakin tinggi kandungan rendemen yang dihasilkan maka, semakin tinggi senyawa yang terekstrak sehingga kandungan antioksidan semakin tinggi (Sie, 2013). Selain itu, menurut penelitian Caesalpinia & Hotdelina (2012) menyatakan bahwa ekstraksi dengan pelarut etil asetat akan mendapatkan nilai IC_{50} lebih kecil atau hampir setara dengan reduksi asam askorbat. Nilai IC_{50} pada yang dihasilkan dalam ekstraksi kulit buah manggis dengan menggunakan pelarut etil asetat sebesar 14,1882 ppm (Caesalpinia & Hotdelina, 2012), menggunakan pelarut etanol sebesar 42,1881 ppm (Sie, 2013), dan menggunakan methanol 16,483 ppm (Dungir *et al.*, 2012). Sehingga berdasarkan acuan nilai IC_{50} pada asam askorbat sebesar 15,3769 ppm (Caesalpinia & Hotdelina, 2012), maka nilai IC_{50} yang paling baik dengan menggunakan pelarut etil asetat. Semakin kecil nilai *inhibitory concentration* (IC_{50}) maka kemampuan menghambat proses oksidasi sebesar 50% akan lebih baik sehingga aktivitas antioksidan sangat kuat (Caesalpinia & Hotdelina, 2012; Srihari & Lingganingrum, 2015). Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki nilai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kategori kuat senilai 50-100 ppm, kategori menengah bernilai 100-150 ppm, dan kategori

lemah bernilai 151-200 ppm (Srihari & Lingganingrum, 2015). Sehingga berdasarkan hasil tersebut kekuatan pelarut dalam mengekstrak senyawa antioksidan berturut-turut yaitu etil asetat, methanol, dan etanol, namun ketiganya masuk kedalam nilai IC_{50} yang sangat kuat.

3.2 Metode *Two-Step Desolvation*

Proses untuk memerangkap agen aktif dengan menggunakan material penyalut berfungsi untuk meningkatkan penyerapan dari molekul bioaktif seperti antioksidan, mineral, vitamin, lutein, asam lemak, serta sel-sel hidup seperti probiotik ke matriks pangan (de Vos *et al.*, 2010; Levi *et al.*, 2011). Nanopartikel berpotensi dalam meningkatkan stabilitas dan memodifikasi karakteristik permukaan secara mudah (Singh & Chaudhary, 2010). Fabrikasi nanopartikel dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu sistem *bottom-up* dan *top-down*. Sistem *top-down* merupakan sistem sintesis dengan memanfaatkan proses mekanik sedangkan sistem *bottom-up* merupakan sistem sintesis dengan menggunakan metode kimia (Taba *et al.*, 2019). Salah satu jenis metode dalam sistem *bottom-up* yang digunakan dalam pembuatan nanopartikel gelatin yaitu metode *two-step desolvation* (Qiao *et al.*, 2011). Metode *two-step desolvation* telah dikembangkan pada penelitian Coester (2000) (Coester *et al.*, 2000) yang berpotensi dalam produksi nanopartikel gelatin hingga berukuran 250 nm, sehingga metode ini dapat meningkatkan penyerapan didalam tubuh dan mengoptimalkan kandungan senyawa pada suatu bahan (Coester *et al.*, 2000; Zhai, 2013). Metode desolvasi merupakan metode yang cepat, terjangkau, dan mudah untuk diaplikasikan dengan menggunakan dua jenis pelarut yang dapat menghindari faktor perusak seperti peningkatan *shear rates*, pemanasan, dan sonikasi yang mengganggu struktur tersier dari protein (Bagheri *et al.*, 2013; Dai *et al.*, 2020).

Berdasarkan penelitian (Carvalho *et al.*, 2018) metode *one-step desolvasi* memiliki hasil ukuran partikel yang cenderung lebih besar karena mudah terbentuknya agregasi. Perbedaan antara *one-step desolvation* dan *two-step desolvation* adalah pada proses desolvasi yang melibatkan pemisahan berat molekul gelatin. Pemisahan antara berat molekul rendah (LMW) dan tinggi (HMW) pada suatu gelatin dapat meningkatkan efisiensi dalam ikatan silang, meningkatkan titik leleh gelatin dan menurunkan kelarutan gelatin yang berpotensi dalam memerangkap senyawa bioaktif pada saat proses sintesis nanopartikel.

3.3 Gelatin

Gelatin merupakan derivat protein terdenaturasi yang berasal dari kolagen hewan dengan hidrolisis bersifat asam dan basa. Gelatin yang digunakan harus tersertifikasi sebagai bahan dengan label GRAS (*generally regarded as safe*) sehingga aman untuk digunakan dalam bidang pangan (Zhai, 2013). Jenis gelatin dibedakan menjadi dua yaitu gelatin A yang

terbuat dari kolagen babi dan gelatin B yang terbuat dari gelatin tulang sapi, keduanya juga memiliki karakteristik yang berbeda. Titik isoelektrik (pI) dari gelatin A biasanya mencapai 8 (Farris *et al.*, 2010), sedangkan untuk titik isoelektrik pada gelatin B yang terbuat dari tulang sapi dan kulit sapi jangat dapat mencapai titik isoelektrik (pI) sebesar 4,8 – 5,0 (Sumpe, 2007). Mekanisme ikatan gelatin pun berbeda gelatin A cenderung menggunakan pendekatan dengan suasana asam, sedangkan gelatin B cenderung pendekatan dengan suasana alkali (Hafidz *et al.*, 2011). Kualitas gelatin dipengaruhi oleh kekuatan gel (*bloom*), viskositas, derajat keasaman, dan kadar air (Oktaviani *et al.*, 2017). Gelatin dapat membentuk ikatan silang dengan beberapa komponen alami seperti tanin dan asam ferulat atau dengan komponen kimia seperti *glyoxal*, *isocyanates*, dan *glutaraldehyde* (Farris *et al.*, 2010). Selain itu, formasi desolvasi protein sangat berpengaruh terhadap ikatan non-kovalen seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik, Pada sintesis nanopartikel gelatin B cenderung memanfaatkan penambahan basa atau NaOH dalam menjaga stabilitas gelatin.

Penambahan NaOH pada sintesis nanopartikel menunjukkan perubahan muatan pada gelatin B yang awalnya bermuatan positif menjadi bermuatan negatif. Pengaturan pH yang dilakukan dalam proses desolvasi ditunjukkan untuk menjauhkan polimer berbasis protein dari titik isoelektriknya sehingga dapat menurunkan kemungkinan terbentuknya agregasi, hal tersebut juga selaras dengan semakin tinggi kuantitas protein maka semakin tinggi potensi kapasitas pengendapan yang menyebabkan terbentuknya agregat (Thongkaew *et al.*, 2014). Hal tersebut juga dapat dipicu karena efek interaksi elektrostatis yang menyebabkan pengaruh ukuran partikel dan nilai potensial zeta pada nanopartikel gelatin (Weiß, 2018). Peningkatan massa gelatin juga dapat mempengaruhi viskositas dari larutan gelatin. Semakin tinggi konsentrasi gelatin akan memicu pembentukan interaksi hidrofobik yang akan menyebabkan terjadinya agregasi pada ikatan protein (Duconseille *et al.*, 2015).

3.4 Desolvating agent

Formasi desolvasi protein sangat berpengaruh terhadap ikatan non-kovalen seperti ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik. Tujuan penggunaan *desolvating agent* pada proses sintesis nanopartikel yaitu sebagai salah satu agen dalam menurunkan kelarutan gelatin atau membentuk proses presipitasi agar molekul gelatin dengan berat tinggi dan rendah dapat terpisah (Shamarekh *et al.*, 2020). *Desolvating agent* mempengaruhi ikatan hidrogen pada gelatin sekaligus dapat mengubah struktur sekunder dan tersier protein (Etorki *et al.*, 2016). Beberapa penelitian menyatakan bahwa indeks polaritas *desolvating agent* akan mempengaruhi tingkat kelarutan gelatin didalam air yang akan berdampak terhadap karakteristik fisik nanopartikel gelatin (Tabel 1).

Berdasarkan penelitian Etorki *et al.*, (2016) penggunaan aseton sebagai *desolvating agent* dinilai dapat lebih efektif dalam membentuk nanopartikel, hal tersebut dikarenakan ikatan hidrofobik pada gelatin meningkat sehingga proses desolvasi lebih efektif (Tabel 1).

3.5 Cross-linking agent

Cross-linking agent digunakan untuk membentuk ikatan silang dengan gelatin yang dapat mengoptimalkan dalam meningkatkan stabilitas partikel maupun emulsi (Dai *et al.*, 2020), selain itu juga dapat meningkatkan kekuatan mekanik dan kelarutan dalam air (Hong *et al.*, 2020). Reaksi ikatan silang yang terjadi dapat diketahui pada bahan yang memiliki gugus aldehida, imine ataupun keton, sakarida (glukosa dan gugus aldosa) (Duconseille *et al.*, 2015). *Cross-linking agent* yang kerap digunakan dalam sintesis nanopartikel yaitu glutaraldehida. Glutaraldehida mempunyai gugus aldehida (-CHO) yang dapat berikatan dengan gugus amino pada gelatin (Azimi *et al.*, 2014). Glutaraldehida yang berikatan dengan gelatin dapat terbentuk akibat adanya ikatan kovalen. Gugus amin bebas pada lisin berikatan dengan gugus aldehyd pada glutaraldehida membentuk gugus imino (-C=N), dimana gluraldehida dapat mengikat dua gugus amin (Hamzah *et al.*, 2019) (Gambar 3). Proses ikatan silang antara gelatin dan glutaraldehida juga akan menyebabkan interaksi intramolekular dan intermolekular yang dapat menyebabkan perubahan pada karakteristik fisik dan kimia nanopartikel gelatin yang dihasilkan (Salvatore *et al.*, 2021).

3.6 Karakterisasi Nanopartikel

Karakteristik nanopartikel sangat bergantung pada ukuran partikel, nilai indeks polidispersitas, dan muatan potensial zeta. Semakin kecil ukuran partikel yang terbentuk maka semakin baik nanopartikel yang dihasilkan. Prinsip *Dynamic Light Scattering* (DLS) memanfaatkan hamburan infrared sehingga akan bereaksi menghasilkan gerak brown, dimana semakin kecil ukuran partikel maka gerak brown akan semakin cepat (Mineva, 2017). *Polydispersity Index* (PDI) pada dasarnya adalah representasi dari distribusi populasi ukuran dalam sampel yang diberikan. Semakin kecil nilai indeks polidispersitas (PDI) maka dinyatakan bahwa partikel tersebut lebih homogen. Ukuran partikel yang tidak seragam dapat disebabkan oleh adanya aglomerasi pada partikel sehingga membentuk aglomerat yang besar (Ningsih *et al.*, 2017). Nilai PDI yang mendekati 0 menunjukkan dispersi ukuran partikel yang homogen, sedangkan nilai PDI yang lebih besar dari 0,5 menandakan heterogenitas partikel yang tinggi sehingga ukuran partikel cenderung tidak seragam (Danaei *et al.*, 2018).

Potensi muatan dari partikel dan dipengaruhi oleh komposisi dari partikel dan medium tempat nanopartikel terdispersi. Besar nilai potensial zeta diatas 30 mV akan lebih stabil karena muatan pada permukaan nanopartikel

dapat mencegah terjadinya agregasi antar partikel (Avadi *et al.*, 2010). Nilai *Entrapment Efficiency* atau *entrapment efficiency* (EE) diharapkan mendekati 100% yang menandakan bahwa bahan aktif tersebut terperangkap dalam suatu material, sehingga semakin tinggi nilai EE (%) maka semakin besar potensi polimer tersebut dalam menangkap senyawa bioaktif dalam suatu nanopartikel. Berdasarkan hasil penelitian Singh & Chaudhary, (2010) pada roglitazone yang dapat digunakan sebagai antioksidan dinyatakan bahwa hasil ukuran partikel, indeks polidispersitas, potensial zeta, dan *entrapment efficiency* berturut-turut sebesar 280 nm; 0,1 nm; - 34,6 mV; dan 90,4 %. Sedangkan pada penelitian menandakan bahwa hasil ukuran partikel, indeks polidispersitas, potensial zeta, dan *entrapment efficiency* berturut-turut sebesar 174,4 nm; 0,03 nm -25,3 mV dan 94,8%. Sehingga hasil nanopartikel gelatin yang disintesis menggunakan metode *two-step desolvation* menghasilkan karakteristik nanopartikel yang optimal.

4. Kesimpulan

Penggunaan metode *two-step desolvation* dalam sintesis nanopartikel gelatin menghasilkan karakteristik ukuran partikel, indeks polidispersitas, potensial zeta, dan *entrapment efficiency* (EE) yang optimal dalam menjaga stabilitas senyawa bioaktif. Hal tersebut dapat terus berkembang seiring dengan karakteristik faktor seperti *cross-linking agent*, *desolvating agent*, dan polimer yang digunakan.

5. Daftar Pustaka

1. Achyar, A. I. C. S., Ii, A., Marta, H., Dipa, D., Padjadjaran, U., & Anggaran, T. (2008). Laporan Akhir Penelitian Penelitian Peneliti Muda (Litmud) Unpad Universitas Padjadjaran Bulan November Tahun 2008. *Universitas Stuttgart*, 29(4), 475–481. <https://doi.org/10.7334/psicothema2016.296>
2. Agustina, S., Aidha, N. N., & Oktarina, E. (2018). Ekstraksi Antioksidan Spirulina sp. Dengan Menggunakan Metode Ultrasonikasi Dan Aplikasinya Untuk Krim Kosmetik. *Jurnal Kimia Dan Kemasan*, 40(2), 105. <https://doi.org/10.24817/jkk.v40i2.4100>
3. Ambarwati, R. (2019). Pembuatan Nanopartikel Albumin Menggunakan Metode Desolvasi Sebagai Alternatif Sistem Pembawa. *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1), 35–39. <https://doi.org/10.33751/jf.v9i1.1258>
4. Avadi, M. R., Mir, A., Sadeghi, M., Dinarvand, R., & Rafiee-tehrani, M. (2010). Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and Arabic gum with ionic gelation method. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6(1), 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.04.007>
5. Azimi, B., Nourpanah, P., Rabiee, M., & Arbab, S. (2013). Producing gelatin nanoparticles as delivery

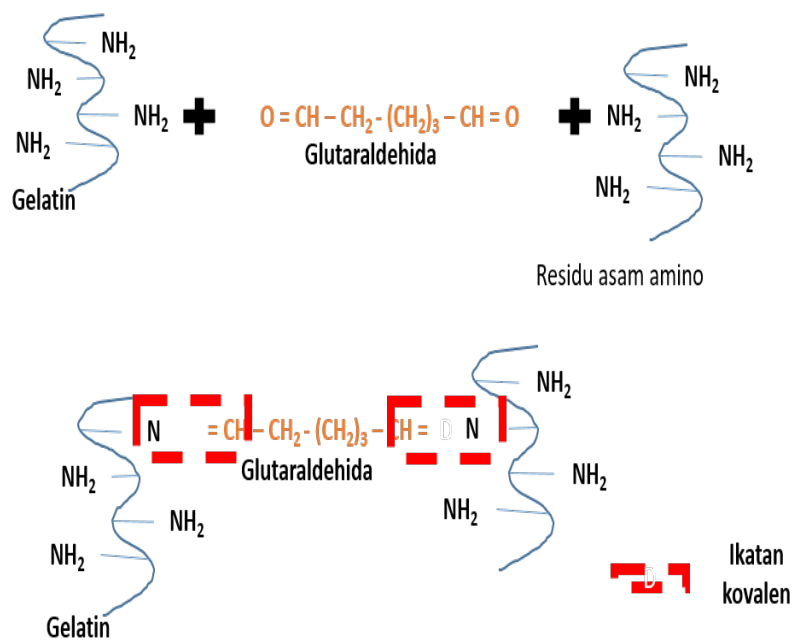
- system for bovine serum albumin. *Iranian Biomedical Journal*, 18(1), 34–40. <https://doi.org/10.6091/ibj.1242.2013>
6. Azimi, B., Nourpanah, P., Rabiee, M., & Arbab, S. (2014). Producing Gelatin Nanoparticles as Delivery System for Bovine Serum Albumin. *Iranian Biomedical Journal*, 18(January), 34–40. <https://doi.org/10.6091/ibj.12422.2013>
 7. Bagheri, L., Madadlou, A., Yarmand, M., & Mousavi, M. E. (2013). Nanoencapsulation of date palm pit extract in whey protein particles generated via desolvation method. *Food Research International*, 51(2), 866–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.058>
 8. Buckow, R., Kastell, A., Terefe, N. S., & Versteeg, C. (2010). Pressure and temperature effects on degradation kinetics and storage stability of total anthocyanins in blueberry juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(18), 10076–10084. <https://doi.org/10.1021/jf1015347>
 9. Caesalpinia, S., & Hotdelina, S. (2012). Aktivitas Antioksidan dan Sifat Kestabilan Warna Campuran Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*). 15(April), 60–69.
 10. Candani, D., Ulfah, M., Noviana, W., & Zainul, R. (2018). Pemanfaatan Teknologi Sonikasi. *FMIPA Universitas Negeri Padang*, 2(26), 1–12.
 11. Carvalho, J. A., Abreu, A. S., Ferreira, V. T. P., Gonçalves, E. P., Tedesco, A. C., Pinto, J. G., Ferreira-Strixino, J., Beltrame Junior, M., & Simioni, A. R. (2018). Preparation of gelatin nanoparticles by two step desolvation method for application in photodynamic therapy. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. <https://doi.org/10.1080/09205063.2018.1456027>
 12. Coester, C. J., Langer, K., Von Briesen, H., & Kreuter, J. (2000). Gelatin nanoparticles by two step desolvation - A new preparation method, surface modifications and cell uptake. *Journal of Microencapsulation*. <https://doi.org/10.1080/026520400288427>
 13. Dai, H., Li, Y., Ma, L., Yu, Y., Zhu, H., Wang, H., Liu, T., Feng, X., Tang, M., Hu, W., & Zhang, Y. (2020). Fabrication of cross-linked β -lactoglobulin nanoparticles as effective stabilizers for Pickering high internal phase emulsions. *Food Hydrocolloids*, 109, 106151. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106151>
 14. Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanazadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., & Mozafari, M. R. (2018). Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*, 10(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>
 15. de Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, 20(4), 292–302. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.11.008>
 16. Duconseille, A., Astruc, T., Quintana, N., Meersman, F., & Sante-Lhoutellier, V. (2015). Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. *Food Hydrocolloids*, 43, 360–376. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.06.006>
 17. Dungir, S. G., Katja, D. G., & Kamu, V. S. (2012). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal MIPA*, 1(1), 11. <https://doi.org/10.35799/jm.1.1.2012.424>
 18. Etorki, A. M., Gao, M., Sadeghi, R., Maldonado-Mejia, L. F., & Kokini, J. L. (2016). Effects of Desolvating Agent Types, Ratios, and Temperature on Size and Nanostructure of Nanoparticles from α -Lactalbumin and Ovalbumin. *Journal of Food Science*, 81(10), E2511–E2520. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13447>
 19. Farris, S., Song, J., & Huang, Q. (2010). Alternative reaction mechanism for the cross-linking of gelatin with glutaraldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 998–1003. <https://doi.org/10.1021/jf9031603>
 20. Golmohamadi, A., Möller, G., Powers, J., & Nindo, C. (2013). Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1316–1323. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.020>
 21. Hafidz, R. N. R. M., Yaakob, C. M., Amin, I., & Noorfaizan, A. (2011). Chemical and functional properties of bovine and porcine skin gelatin. *International Food Research Journal*, 18(2).
 22. Hamzah, N., Nurmi, N., Mukhriani, M., & Ismail, A. (2019). Karakter Indeks Pengembangan Gelatin Taut Silang dengan Sukrosa Teroksidasi dan Glutaraldehyd. *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 22–28. <https://doi.org/10.24252/djps.v2i1.11520>
 23. Hong, S., Choi, D. W., Kim, H. N., Park, C. G., Lee, W., & Park, H. H. (2020). Protein-based nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmaceutics*, 12(7), 1–28. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12070604>
 24. Kesornbuakao, K., Amornraksa, S., Sriariyanun, M., Asavasanti, S., & Yasurin, P. (2018). The Antibacterial and Antioxidant Activity of Centella Asiatica Chloroform Extract-loaded Gelatin Nanoparticles. *MATEC Web of Conferences*, 187. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201818702002>
 25. Khan, S. A., & Schneider, M. (2013). Nanoprecipitation versus two step desolvation

- technique for the preparation of gelatin nanoparticles. *Colloidal Nanocrystals for Biomedical Applications VIII*, 8595, 85950H. <https://doi.org/10.1117/12.2002419>
26. Koletti, A. E., Tsarouchi, E., Kapourani, A., Kontogiannopoulos, K. N., Assimopoulou, A. N., & Barmplexis, P. (2020). Gelatin nanoparticles for NSAID systemic administration: Quality by design and artificial neural networks implementation. *International Journal of Pharmaceutics*, 578(December 2019), 119118. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119118>
 27. Levi, S., Rac, V., Manojlovi, V., Raki, V., Bugarski, B., Flock, T., Krzyczmonik, K. E., & Nedovi, V. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1816–1820. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.266>
 28. Mineva, A. (2017). *CZECH TECHNICAL UNIVERSITY IN PRAGUE Characterization of size of polydisperse nanoparticles of various shape : Comparative study of AFM and DLS methods [CZECH TECHNICAL UNIVERSITY]*. <https://dspace.cvut.cz/bitstream/handle/10467/74901/FBMI-DP-2017-Mineva-Andrea-prace.pdf?sequence=-1>
 29. Mohammad-Beigi, H., Shojaosadati, S. A., Morshedi, D., Mirzazadeh, N., & Arpanaei, A. (2016). The effects of organic solvents on the physicochemical properties of human serum albumin nanoparticles. *Iranian Journal of Biotechnology*, 14(1), 45–50. <https://doi.org/10.15171/ijb.1168>
 30. Muh Agus Ferdian, Erliza Hambali, dan M. R. (2016). Studi Perbandingan Produk Insektisida Formulasi EC (*Emulsifiable Concentrate*) dengan Penambahan Surfaktan Dietanolamida Menggunakan Vortex, Mixer, dan Homogenizer. *Teknologi Industri Pertanian*, 36(1).
 31. Ningsih, N., Yasni, S., & Yuliani, S. (2017). Sintesis Nanopartikel Ekstrak Kulit Manggis Merah Dan Kajian Sifat Fungsional Produk Enkapsulasinya. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 28(1), 27–35. <https://doi.org/10.6066/jtip.2017.28.1.27>
 32. Ofokansi, K., Winter, G., Fricker, G., Coester, C., Babaei, Z., Jahanshahi, M., Sanati, M., Ding, M., Zhang, T., Zhang, H., Tao, N., Wang, X., Zhong, J., Curti, V., Di Lorenzo, A., Dacrema, M., Xiao, J., Nabavi, S. M., Daglia, M., ... Özkan, M. (2018). Fabrication and evaluation of gelatin nanoparticles for delivering of anti - cancer drug. *Food Chemistry*, 9(1), 1326–1345. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.025>
 33. Oktaviani, I., Perdana, F., & Nasution, A. Y. (2017). Perbandingan Sifat Gelatin yang Berasal dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius hypopthalmus*) dan Gelatin yang Berasal dari Kulit Ikan Komersil. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 1(1), 1–8. <https://doi.org/10.36341/jops.v1i1.368>
 34. Pramudita, M., Juliansyah, H., & Rizki, M. A. (2015). *Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia Mangostana L) Sebagai Inhibitor Korosi Baja Lunak (Mild Steel) Dalam Larutan H 2 SO 4 1 M*. 1–8.
 35. Priani, S. E., Irawati, I., & Darma, G. C. E. (2015). Formulation of Peel-Off Facial Mask from Mangosteen Pericarp (*Garcinia mangostana* Linn.). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2(3), 90–95. <https://doi.org/10.15416/ijpst.v2i3.7905>
 36. Putra, I. N. K. (2010). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) serta Kandungan Senyawa Aktifnya. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 21(1), 1. <https://doi.org/10.6066/2422>
 37. Qiao, S. Z., Liu, J., & Max Lu, Q. G. (2011). Synthetic chemistry of nanomaterials. In *Modern Inorganic Synthetic Chemistry*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53599-3.10021-6>
 38. Rusdiana, I. A., Hambali, E., & Rahayuningsih, M. (2018). Pengaruh Sonikasi Terhadap Sifat Fisik Formula Herbisida yang Ditambahkan Surfaktan Dietanolamida. *Agroradix Jurnal Ilmu Penelitian*, 1(2), 34–41.
 39. Sadeghi, R., Moosavi-Movahedi, A. A., Emam-Jomeh, Z., Kalbasi, A., Razavi, S. H., Karimi, M., & Kokini, J. (2014). The effect of different desolvating agents on BSA nanoparticle properties and encapsulation of curcumin. *Journal of Nanoparticle Research*, 16(9). <https://doi.org/10.1007/s11051-014-2565-1>
 40. Salvatore, L., Calò, E., Bonfrate, V., Pedone, D., Gallo, N., Natali, M. L., Sannino, A., & Madaghiele, M. (2021). Exploring the effects of the crosslink density on the physicochemical properties of collagen-based scaffolds. *Polymer Testing*, 93(August). <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106966>
 41. Shamarekh, K. S., Gad, H. A., Soliman, M. E., & Sannour, O. A. (2020). Towards the production of monodisperse gelatin nanoparticles by modified one step desolvation technique. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 50(2), 189–200. <https://doi.org/10.1007/s40005-019-00455-x>
 42. Sie, J. O. (2013). Daya Antioksidan Ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) Hasil Pengadukan dan Reflux. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(1), 1–10.
 43. Singh, V., & Chaudhary, A. K. (2010). Development and characterization of Rosiglitazone loaded gelatin nanoparticles using two step

- desolvation method. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 5(1), 100–103.
44. Srihari, E., & Lingganingrum, F. S. (2015). Ekstrak Kulit Manggis Bubuk. *Jurnal Teknik Kimia*, 10(1), 1–7.
45. Sumpe, D. H. I. (2007). Pengenalan dan Proses Pembuatan Gelatin. *Artikel*, 46(3), 171–174. <https://doi.org/10.2320/materia.46.171>
46. Taba, P., Parmitha, N. Y., & Kasim, S. (2019). Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Sebagai Bioreduktor Dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan. *Indo. J. Chem. Res.*, 7(1), 43–52. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2019.7-ptb>
47. Thongkaew, C., Gibis, M., Hinrichs, J., & Weiss, J. (2014). Polyphenol interactions with whey protein isolate and whey protein isolate-pectin coacervates. *Food Hydrocolloids*, 41, 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.02.006>
48. Wathoni, N., Yuan Shan, C., Yi Shan, W., Rostinawati, T., Indradi, R. B., Pratiwi, R., & Muchtaridi, M. (2019). Characterization and antioxidant activity of pectin from Indonesian mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) rind. *Heliyon*, 5(8), e02299. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02299>
49. Weiß, A.-V. (2018). *Hydrophilic Drug Delivery based on Gelatin Nanoparticles*.
50. Zhai, X. (2013). *Gelatin nanoparticles and nanocrystals for dermal delivery* (Issue December) [Freie Universität Berlin]. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17169/refubium-12872>

Tabel 1. Pengaruh Desolvating Agent Terhadap Karakteristik Fisik Nanopartikel Gelatin

Desolvating agent	Ukuran Partikel (nm)	Indeks polidispersitas (nm)	ZP (-mV)	EE (%)	Referensi
Aseton	53.8 ± 4.2	0,166	-24.5 ± 3.7	-	(Etorki <i>et al.</i> , 2016)
Etanol	59.0 ± 5.2	0,217	-19.8 ± 2.3	-	
Metanol	64.1 ± 2.7	0,400	-24.1 ± 0.6	-	
Aseton	100–300	0,04	-	99.2 ± 0.36	(Sadeghi <i>et al.</i> , 2014)
Etanol	90–200	0,05	-	92.2 ± 0.81	
Aseton	100.11±4.6	0.036 ± 0.009	-33 ± 3.1	-	(Mohammad-Beigi <i>et al.</i> , 2016)
Etanol	155.3±4.3	0.038 ± 0.010	-38 ± 2.9	-	



Gambar 1. Ikatan Kovalen antara Glutaraldehida dan Gelatin