

PENGARUH VARIASI RASIO KITOSAN-TRIPOLIFOSFAT TERHADAP UKURAN PARTIKEL NANOPARTIKEL EKSTRAK AIR UMBI BIT (*Beta vulgaris* L.) SEBAGAI ANTIOKSIDAN

Wulandari Eka Putri¹, Khairunnisa², Mayaranti Wilsya³, Sigit Cahyo H⁴, Febby Ola Yolandari⁵, Achmad Wahyudi⁶

^{1,2,3,4,5,6} Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Siti Khadijah

Email: Wulandarieka@gmail.com

ABSTRAK

Paparan radiasi ultraviolet (UV) yang berlebihan meningkatkan risiko kerusakan kulit, sehingga diperlukan agen antioksidan fotoprotektif. Umbi bit (*Beta vulgaris* L.) mengandung betalain yang berpotensi sebagai antioksidan, namun stabilitasnya rendah. Teknologi nanopartikel kitosan-tripolifosfat (TPP) digunakan untuk meningkatkan stabilitas dan efektivitas penghantaran senyawa bioaktif tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi rasio konsentrasi kitosan terhadap ukuran partikel dan homogenitas nanopartikel ekstrak air umbi bit. Nanopartikel disintesis menggunakan metode gelasi ionik dengan tiga variasi konsentrasi kitosan (0,5%; 1,0%; dan 1,5%). Karakterisasi ukuran partikel dan *Polydispersity Index* (PI) dilakukan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) HORIBA SZ-100 dengan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS). Hasil pengukuran menunjukkan rata-rata ukuran partikel berada pada rentang 190–240 nm. Formula F3 dengan konsentrasi kitosan 1,5% menunjukkan hasil terbaik dengan nilai *Z-Average* 190,6 nm dan nilai PI sebesar 0,482, yang mengindikasikan distribusi ukuran partikel paling homogen dan stabil dibandingkan formula lainnya. Variasi rasio kitosan-TPP berpengaruh signifikan terhadap homogenitas nanopartikel, di mana konsentrasi kitosan yang lebih tinggi menghasilkan distribusi partikel yang lebih seragam.

Kata Kunci: Umbi bit, Nanopartikel, Kitosan, Tripolifosfat, *Particle Size Analyzer*

ABSTRACT

Excessive exposure to ultraviolet (UV) radiation increases the risk of skin damage, necessitating photoprotective antioxidant agents. Beetroot (Beta vulgaris L.) contains betalains with antioxidant potential, but they exhibit low stability. Chitosan-tripolyphosphate (TPP) nanoparticle technology is employed to enhance the stability and delivery efficiency of these bioactive compounds. This study aims to determine the effect of variations in chitosan concentration ratios on the particle size and homogeneity of beetroot aqueous extract nanoparticles. Nanoparticles were synthesized using the ionic gelation method with three variations of chitosan concentration (0.5%, 1.0%, and 1.5%). Characterization of particle size and Polydispersity Index (PI) was performed using a HORIBA SZ-100 Particle Size Analyzer (PSA) via the Dynamic Light Scattering (DLS) method. The measurement results showed an average particle size ranging from 190–240 nm. Formula F3, with a 1.5% chitosan concentration, demonstrated the best results with a Z-Average of 190.6 nm and a PI value of 0.482, indicating the most homogeneous and stable particle size distribution compared to other formulas. Variations in the chitosan-TPP ratio significantly affect the homogeneity of the nanoparticles, where higher chitosan concentrations result in a more uniform particle distribution.

Keywords: Beetroot, Nanoparticle, Chitosan, Tripolyphosphate, *Particle Size Analyzer*.

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas yang berpotensi merusak sel-sel tubuh. Dalam beberapa dekade terakhir, penggunaan antioksidan sintetik telah menimbulkan

kekhawatiran terhadap efek samping yang merugikan kesehatan. Hal ini mendorong penelitian untuk mengembangkan antioksidan alami yang lebih aman dan efektif.

Umbi bit (*Beta vulgaris* L.) dikenal sebagai sumber antioksidan alami yang melimpah karena kaya akan senyawa bioaktif.

Kandungan flavonoidnya yang berkisar antara 350-2760 mg/kg berkontribusi pada aktivitas antioksidan yang baik (Putra et al., 2022). Warna merah cerah pada umbi bit berasal dari pigmen betalain, yang terdiri dari betasianin (840-900 mg/kg) dan betaxantin (300-600 mg/kg). Betalain berfungsi sebagai pewarna alami sekaligus memiliki aktivitas antioksidan tinggi yang efektif melawan radikal bebas. Meskipun demikian, terdapat tantangan terkait stabilitas dan bioavailabilitas senyawa bioaktif ekstrak umbi bit (Novatama et al., 2016).

Teknologi nanopartikel terbukti dapat meningkatkan stabilitas, bioavailabilitas, dan efektivitas senyawa bioaktif. Enkapsulasi ekstrak umbi bit dalam nanopartikel kitosan-tripolifosfat (TPP) diharapkan meningkatkan aktivitas antioksidan dan stabilitasnya. Kitosan dipilih karena sifatnya yang biokompatibel, biodegradable, dan non-toksik, sedangkan TPP berperan sebagai agen crosslinking yang membentuk struktur nanopartikel stabil (Rahayyu et al., 2024). Konsentrasi polimer merupakan faktor kunci; konsentrasi yang lebih tinggi akan meningkatkan viskositas dan ukuran nanopartikel (Hasibuan et al., 2021).

Penelitian ini bertujuan untuk memahami bagaimana konsentrasi kitosan memengaruhi karakteristik fisik nanopartikel ekstrak umbi bit, serta untuk mengoptimalkan ukuran partikel demi peningkatan aplikasi nanopartikel dalam bidang farmasi dan kosmetik.

METODE PENELITIAN

Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental rancangan acak lengkap dengan 3 kali ulangan. Penelitian dilakukan di laboratorium dengan membuat formulasi nanopartikel ekstrak umbi bit (*Beta Vulgaris* L.).

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Teknologi Sediaan Farmasi STIK Siti Khadijah Palembang dan Laboratorium STIFARM Padang pada bulan Juli s/d November 2025.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan meliputi umbi bit segar, kitosan dengan tingkat deasetilasi

tinggi (>85%), natrium tripolifosfat (TPP), asam asetat glasial, etanol 96%, akuades, reagen DPPH, reagen ABTS, dan asam askorbat sebagai standar. Peralatan yang digunakan meliputi Particle Size Analyzer (PSA) HORIBA SZ-100, Spektrofotometer UV-Vis, Mikroskop Elektron Transmisi (TEM), sentrifuge, homogenizer, pH meter, rotary evaporator, dan timbangan analitik.

Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia sebanyak 2 g ditambahkan ke dalam 100 mL air deionisasi dalam beaker 250 mL, campuran direbus pada 100°C selama 15 menit. Larutan ekstrak didinginkan dan disaring menggunakan kertas saring Whatman. Larutan ekstrak kemudian disentrifugasi pada 6000 rpm selama 15 menit pada suhu kamar sehingga diperoleh supernatan. Supernatan selanjutnya dikeringkan dengan alat freeze drying.

Formulasi Nanopartikel

Nanopartikel disintesis menggunakan metode gelasi ionik dengan tiga variasi konsentrasi kitosan. Formula nanopartikel disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi Nanopartikel Ekstrak Umbi Bit

Bahan	F1	F2	F3
Ekstrak Umbi Bit (mg)	10	10	10
Larutan Kitosan 0,5% (ml)	50	-	-
Larutan Kitosan 1% (ml)	-	50	-
Larutan Kitosan 1,5% (ml)	-	-	50
Larutan Tripolifosfat 0,5% (ml)	10	10	10
Polysorbat 80 (ml)	1	1	1

Sumber: Modifikasi penelitian (Dewayanti, 2023)

Prosedur Pembuatan Nanopartikel

Proses pembuatan nanopartikel dimulai dengan pencampuran fase pertama, dimana 10 mg ekstrak umbi bit dilarutkan dalam 5 ml akuades dan ditambahkan 1 ml Polysorbat 80, kemudian diaduk hingga homogen menggunakan vortex mixer. Campuran ekstrak ditambahkan ke dalam larutan kitosan sesuai formula yang ditetapkan dan diaduk menggunakan magnetic stirrer pada kecepatan 500 rpm selama 15 menit.

Pembentukan nanopartikel dilakukan dengan menambahkan larutan TPP 0,5% secara drop-wise dengan kecepatan 1 tetes per detik ke dalam campuran kitosan-ekstrak sambil terus diaduk pada kecepatan 800 rpm. Pengadukan dilanjutkan selama 30 menit setelah penambahan TPP selesai. Tahap stabilisasi dilakukan dengan mendinginkan campuran selama 1 jam pada suhu kamar, kemudian dilakukan sonikasi menggunakan ultrasonic bath selama 10 menit (Dewayanti, 2023).

Karakterisasi Nanopartikel

Pengukuran ukuran partikel nanopartikel ekstrak umbi bit dilakukan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) HORIBA SZ-100 dengan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS) pada sudut hamburan 90° dan suhu holder 25°C. Setiap formula diukur sebanyak tiga kali pengulangan untuk memastikan konsistensi dan validitas data.

HASIL PENELITIAN

Pengukuran ukuran partikel nanopartikel ekstrak air umbi bit (*Beta vulgaris* L.) dengan variasi rasio kitosan-tripolifosfat dilakukan menggunakan instrumen PSA HORIBA SZ-100 dengan metode DLS. Hasil pengukuran ukuran partikel dari ketiga formula disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Ukuran Partikel Nanopartikel Ekstrak Umbi Bit

Parameter	Formula F1 (Kitosan 0,5%)	Formula F2 (Kitosan 1%)	Formula F3 (Kitosan 1,5%)
Mean ± SD (nm)	238,1 ± 61,2	235,3 ± 62,7	239,8 ± 62,9
Mode (nm)	231,2	230,9	231,3
Z-Average (nm)	204,0	195,5	190,6
Polydispersity Index (PI)	0,504	0,577	0,482
Rentang Distribusi (nm)	151,57 - 454,69	134,16 - 454,69	134,16 - 454,69
Frekuensi Puncak (%)	16,844	16,215	16,517
Diameter Puncak (nm)	246,98	246,98	246,98

Berdasarkan hasil pengukuran, ketiga formula nanopartikel ekstrak umbi bit menunjukkan ukuran partikel yang berada dalam rentang nanometer dengan nilai mean berkisar antara 235,3 nm hingga 239,8 nm. Formula F2 dengan konsentrasi kitosan 1% menghasilkan ukuran partikel terkecil (mean 235,3 nm), diikuti F1 (238,1 nm), dan F3 (239,8 nm). Perbedaan ukuran partikel antar formula relatif kecil (selisih hanya 4,5 nm), mengindikasikan variasi konsentrasi kitosan dalam rentang 0,5-1,5% tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap ukuran partikel rata-rata.

Parameter Z-Average menunjukkan tren berbeda, di mana Formula F3 menghasilkan nilai terendah (190,6 nm), diikuti F2 (195,5 nm), dan F1 (204,0 nm). Adapun Polydispersity Index (PI) menunjukkan Formula F3 memiliki nilai PI terendah (0,482), mengindikasikan distribusi ukuran partikel paling homogen. Formula F2 menunjukkan nilai PI tertinggi (0,577), sementara F1 memiliki PI 0,504.

PEMBAHASAN

Pembentukan nanopartikel kitosan-tripolifosfat yang mengenkapsulasi ekstrak air umbi bit terjadi melalui mekanisme gelasi ionik. Pada pH asam, gugus amino (-NH₂) pada kitosan terprotonasi menjadi -NH₃⁺, sementara gugus fosfat pada tripolifosfat membawa muatan negatif. Interaksi elektrostatis antar muatan berlawanan ini menyebabkan molekul kitosan mengalami konformasi lipatan dan membentuk struktur partikulat dengan ekstrak terperangkap di dalamnya (Mohammed et al., 2017; Divya & Jisha, 2018).

Pola ukuran partikel antar formula menunjukkan adanya konsentrasi optimum kitosan untuk menghasilkan ukuran partikel terkecil, yaitu pada konsentrasi 1% (F2). Pada konsentrasi kitosan lebih rendah (0,5%), jumlah gugus amino yang tersedia untuk berinteraksi dengan tripolifosfat lebih sedikit, sehingga pembentukan jaringan crosslink kurang optimal. Sebaliknya, pada konsentrasi kitosan 1,5%, viskositas larutan meningkat signifikan yang menghambat proses difusi dan meningkatkan kemungkinan agregasi antar

partikel (Jonassen et al., 2012; Katas & Alpar, 2006).

Nilai PI terendah pada Formula F3 (PI = 0,482) mengindikasikan bahwa konsentrasi kitosan 1,5% menghasilkan distribusi ukuran partikel paling homogen. Hal ini dapat dijelaskan oleh beberapa faktor: pertama, pada konsentrasi kitosan lebih tinggi terdapat lebih banyak molekul polimer untuk membentuk matriks yang teratur; kedua, viskositas larutan yang lebih tinggi berfungsi sebagai buffer kinetik yang memperlambat agregasi; ketiga, excess kitosan dapat berfungsi sebagai stabilizer sterik yang mencegah koalesen antar partikel (Vaezifar et al., 2013; Calvo et al., 1997).

Dari perspektif aplikasi farmasi, ukuran partikel dalam rentang 190-240 nm seperti yang dihasilkan dalam penelitian ini sangat ideal. Ukuran ini memungkinkan nanopartikel menembus barrier biologis dan diabsorpsi melalui endositosis oleh sel, namun cukup besar untuk menghindari rapid renal clearance (Suk et al., 2016). Untuk aplikasi drug delivery oral, ukuran partikel 200-300 nm terbukti optimal untuk uptake oleh Peyer's patches di usus halus (Desai et al., 1996).

Keberadaan polysorbat 80 sebagai surfaktan nonionik dalam formulasi berperan penting dalam stabilisasi nanopartikel melalui mekanisme stabilisasi sterik. Konsentrasi polysorbat 80 yang sama di semua formula memastikan bahwa perbedaan yang diamati dalam ukuran partikel dan PI terutama disebabkan oleh variasi konsentrasi kitosan, bukan oleh perbedaan stabilisasi surfaktan (Sarika & James, 2016).

Ekstrak umbi bit mengandung senyawa antioksidan potent terutama betalain yang sangat rentan terhadap degradasi akibat paparan cahaya, oksigen, suhu tinggi, dan pH ekstrem. Enkapsulasi dalam nanopartikel kitosan-tripolifosfat memberikan proteksi fisik terhadap faktor-faktor degradatif eksternal dan meningkatkan stabilitas senyawa antioksidan selama penyimpanan dan distribusi (Kumari et al., 2010). Kitosan sendiri memiliki aktivitas antioksidan intrinsik karena kemampuannya chelating ion logam serta keberadaan gugus amino dan hidroksil yang dapat mendonorkan

hidrogen untuk menetralkan radikal bebas (Xie et al., 2001).

KESIMPULAN

Nanopartikel ekstrak air umbi bit berhasil disintesis dengan ukuran dalam rentang nanometer (235,3-239,8 nm) menggunakan metode gelasi ionik dengan variasi konsentrasi kitosan 0,5%, 1%, dan 1,5%, serta konsentrasi tripolifosfat konstan 0,5%. Formula F3 (kitosan 1,5%) merupakan formula optimal dengan karakteristik terbaik yaitu distribusi ukuran partikel paling homogen (PI = 0,482), nilai Z-Average terendah (190,6 nm), dan ukuran partikel mean $239,8 \pm 62,9$ nm yang ideal untuk aplikasi drug delivery dan enkapsulasi senyawa bioaktif. Variasi konsentrasi kitosan berpengaruh minimal terhadap ukuran partikel rata-rata, namun berpengaruh signifikan terhadap homogenitas distribusi ukuran partikel.

SARAN

Disarankan untuk melakukan evaluasi aktivitas antioksidan secara *in vitro* menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP untuk mengkonfirmasi potensi antioksidan nanopartikel, melengkapi karakterisasi nanopartikel dengan pengukuran potensial zeta, efisiensi enkapsulasi, morfologi partikel (SEM/TEM), dan analisis FTIR, serta melakukan studi stabilitas dan profil pelepasan *in vitro* untuk mendukung aplikasi biomedis dan komersial nanopartikel ekstrak umbi bit.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*, 235, 337-351.
- Calvo, P., Remuñán-López, C., Vila-Jato, J. L., & Alonso, M. J. (1997). Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of Applied Polymer Science*, 63(1), 125-132.
- Clifford, T., Howatson, G., West, D. J., & Stevenson, E. J. (2015). The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, 7(4), 2801-2822.
- Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh 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), 57.
- Desai, M. P., Labhasetwar, V., Amidon, G. L., & Levy, R. J. (1996). Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size. *Pharmaceutical Research*, 13(12), 1838-1845.
- Dewayanti, L. (2023). *Formulasi Nanopartikel Kitosan*. Skripsi. STIFARM Padang.
- Divya, K., & Jisha, M. S. (2018). Chitosan nanoparticles preparation and applications. *Environmental Chemistry Letters*, 16(1), 101-112.
- Hasibuan, dkk. (2021). Pengaruh Konsentrasi Kitosan terhadap Karakteristik Nanopartikel. *Jurnal Farmasi Indonesia*.
- Honary, S., & Zahir, F. (2013). Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(2), 265-273.
- Mohammed, M. A., Syeda, J. T. M., Wasan, K. M., & Wasan, E. K. (2017). An overview of chitosan nanoparticles and its application in non-parenteral drug delivery. *Pharmaceutics*, 9(4), 53.
- Novatama, S. M., Kusumo, E., & Supartono. (2016). Identifikasi Betasianin dan Uji Antioksidan Ekstrak Buah Bit Merah (*Beta vulgaris* L.). *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 5(3), 217-220.
- Putra, T. A., Safitri, K. A., Bisam, Z. A. N., & Shinta, T. A. (2022). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etanolik Kulit Umbi Bit (*Beta vulgaris* L.). *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 7(2), 39-44.
- Rahayyu et al. (2024). Enkapsulasi Senyawa Bioaktif dengan Kitosan-TPP. *Jurnal Teknologi Farmasi*.
- Sawtarie, N., Cai, Y., & Lapitsky, Y. (2017). Preparation of chitosan/tripolyphosphate nanoparticles with highly tunable size and low polydispersity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 157, 110-117.
- Suk, J. S., Xu, Q., Kim, N., Hanes, J., & Ensign, L. M. (2016). PEGylation as a strategy for improving nanoparticle-based drug and gene delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 99(Pt A), 28-51.
- Vaezifar, S., et al. (2013). Effects of some parameters on particle size distribution of chitosan nanoparticles prepared by ionic gelation method. *Journal of Cluster Science*, 24(3), 891-903.
- Xie, W., et al. (2001). Synthesis of carboxymethyl cellulose derivatives and their application in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.