

Aplikasi Teknologi Nanoenkapsulasi sebagai Delivery System Fitobiotik Alami untuk Ternak

Umi Maesaroh, Nanung Danar Dono, dan Zuprizal

Departemen Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada. Jl. Fauna No. 3 Bulaksumur, Yogyakarta 55281 Telp. +62-274-513363.

✉ zuprizal@ugm.ac.id

Teknologi nanoenkapsulasi merupakan suatu teknologi penyalutan partikel dimana memiliki diameter ukuran dari mikrometer sampai nanometer yang menggunakan suatu bahan enkapsulan khusus hingga membuat partikel tersebut mempunyai sifat fisikokimia yang diinginkan. Dalam sistem pengantaran komponen bioaktif fitobiotik pada target organ, nanoenkapsulasi berperan sebagai pembawa (carrier) senyawa bioaktif yang ada di dalam matriksnya. Nanopartikel memiliki ukuran yang sangat kecil akan tetapi luas permukaan untuk proses terjadinya reaksi kimia lebih lebar, sehingga menjadikan pencernaan dan pemanfaatan nutrisi dalam tubuh ternak lebih optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dari nanoenkapsulasi fitobiotik alami untuk ternak. Karakteristik dari nanoenkapsulasi fitobiotik alami diteliti dengan menggunakan metode gelas ionik antara ekstrak daun sirsak, kitosan dan STPP. Parameter yang diamati yaitu karakteristik nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak (NEDS) meliputi ukuran partikel, morfologi, dan zeta potensial. Ukuran partikel dan potensial zeta diamati dengan menggunakan particle size analyzer (PSA), dan morfologi nanopartikel diamati dengan menggunakan transmission electron microscopy (TEM). Hasil penelitian menunjukkan bahwa NEDS memiliki ukuran sebesar $234,00 \pm 21,5$ nm, dengan morfologi berbentuk bulat, dan muatan zeta potensial sebesar $38,20 \pm 1,93$ mV.

Kata kunci : nanokapsulasi, fitobiotik, daun sirsak, kitosan

Diajukan: 13 September 2019

Direvisi: 14 September 2019

Diterima: 2 Oktober 2019

Dipublikasikan online: 3 Oktober 2019

Pendahuluan

Antibiotik sudah umum sebagai *growth promoters* (AGPs) pada pakan ternak untuk meningkatkan produktivitas dan kesehatan ternak (Buchanan *et al.*, 2008). Akan tetapi penggunaan antibiotik sebagai *feed additive* pada pakan ternak sudah dilarang karena dapat meninggalkan residu pada produk ternak yang dihasilkan. Pada bulan Januari 2018, secara resmi Pemerintah Indonesia telah melarang penggunaan antibiotik untuk ternak yang produknya dikonsumsi oleh manusia, melalui peraturan Menteri Pertanian (PERMENTAN) nomor 14/PERMENTAN/PK.350/5/2017 (Amalia dan Adisasmito, 2017). Penggunaan antibiotik secara terus menerus dalam jangka waktu yang panjang dapat mengakibatkan efek negatif berupa residu pada produk hasil ternak sehingga tidak aman untuk dikonsumsi. Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengganti antibiotik yang dapat meningkatkan kesehatan saluran pencernaan dan dapat mengoptimalkan kinerja produksi ternak serta produk yang dihasilkan aman bagi konsumen.

Fitobiotik merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan sebagai pengganti antibiotik dan lebih aman untuk digunakan, karena tidak meninggalkan

residu pada produk ternak yang dapat membahayakan konsumen. Fitobiotik atau yang dikenal dengan tanaman obat merupakan *feed additive* alami dari tumbuhan yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan, mencegah oksidasi lemak, memperbaiki morfologi usus, serta dapat berfungsi sebagai antimikroba sehingga dapat meningkatkan daya tahan tubuh ternak (Hosseini *et al.*, 2017). Salah satu fitobiotik alami yang dapat digunakan adalah ekstrak daun sirsak. Ekstrak daun sirsak ini mengandung senyawa metabolik sekunder seperti: flavonoid, tannin, fenol, dan alkaloid (Gavamukulya *et al.*, 2014; Sugayana *et al.*, 2016). Senyawa-senyawa tersebut memiliki kemampuan sebagai antibakteri alami dengan mekanisme berupa: menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi.

Mekanisme aksi dari komponen bioaktif pada daun sirsak tidak dapat bekerja secara optimal di dalam saluran pencernaan karena bioaktif tersebut memiliki karakteristik berupa kelarutan yang rendah, cepat terdegradasi, bioavailabilitas yang rendah, dan cepat rusak oleh pengaruh lingkungan saluran pencernaan sehingga harus dilindungi dengan penstabil polimer nanoenkapsulasi yang dapat memproteksi komponen

Cara mensitasi artikel ini:

Maesaroh, U., Dono, N. D., Zuprizal (2019) Aplikasi Teknologi Nanoenkapsulasi sebagai Delivery System Fitobiotik Alami untuk Ternak. *Buletin Profesi Insinyur* 2(2) 091-095

bioaktif tersebut (Esfanjani dan Jafari, 2016). Metode nanoenkapsulasi dapat melindungi komponen bioaktif dari pengaruh negatif lingkungan saluran pencernaan pada ternak, akan tetapi dalam formulasi pembuatan nanoenkapsulasi membutuhkan kajian tersendiri untuk menentukan perbandingan yang tepat antara ekstrak, kitosan dan STPP.

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk pembuatan formulasi nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak adalah metode nanoenkapsulasi dengan gelasi ionik. Prinsip dari pembuatan nanoenkapsulasi dengan metode ini adalah terjadinya interaksi ionik antara gugus amin pada kitosan yang bermuatan positif dengan polianion yang bermuatan negatif (Sundari *et al.*, 2014). Teknologi nanoenkapsulasi dibuat dengan proses gelasi ionotropik antara muatan negatif *sodium tripolyphosphate* (STPP) dan muatan positif gugus amin pada kitosan. Nanoenkapsulasi senyawa bioaktif dari ekstrak daun sirsak dengan metode gelasi ionik kitosan dan STPP diharapkan dapat mengoptimalkan mekanisme kerja dari masing-masing bioaktif sebagai antibakteri untuk menggantikan antibiotik yang digunakan sebagai *feed additive* untuk ternak.

Metode

Proses ekstraksi

Tepung daun sirsak diekstraksi dengan menggunakan etanol 96% dengan metode maserasi selama tiga hari (1:100 s/v). Hasil ekstraksi disaring dengan menggunakan kertas saring untuk menghilangkan partikel kasar yang tidak larut dalam etanol, kemudian dievaporasi pada suhu 60°C dengan menggunakan waterbath. Maserat yang diperoleh kemudian dilarutkan dalam 2% aquades.

Proses nanoenkapsulasi

Proses pembuatan formulasi nanoenkapsulasi menggunakan metode gelasi ionik dengan mencampurkan 2% ekstrak daun sirsak : 0,2% kitosan : 0,04% STPP (1 : 1 : 0,01). Hasil ekstrak daun sirsak dengan 96% etanol ditambahkan dengan kitosan yang telah dilarutkan dalam 1,5% asam asetat, diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit. Kemudian ditambahkan 0,04% STPP yang telah dilarutkan dengan aquades dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit (Sundari, 2014).

Analisis distribusi ukuran partikel nanoenkapsulasi

Metode yang digunakan untuk analisis distribusi ukuran partikel nanoenkapsulasi adalah metode *Dynamic Light Scattering* (DLS). Pengukuran dilakukan dengan *scattering angle* 90° dan temperatur dari holder 24,8°C. Hasil yang didapatkan berupa kurva data ukuran partikel dan *Polydispersity Indek* (PI) (Liang *et al.*, 2017).

Analisis morfologi NEDS

Morfologi NEDS dianalisis dengan menggunakan TEM. Sebanyak satu tetes sampel NEDS diletakkan pada grid tembaga kemudian dilapisi dengan karbon dengan alat *auto carbon coated* selama 5 detik, kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Grid tembaga dengan sampel NEDS dilapisi dengan 2% asam fosfotungstat dan kemudian diamati menggunakan TEM dengan percepatan tegangan 120 kV dan magnifikasi 120.000 (Liang *et al.*, 2017).

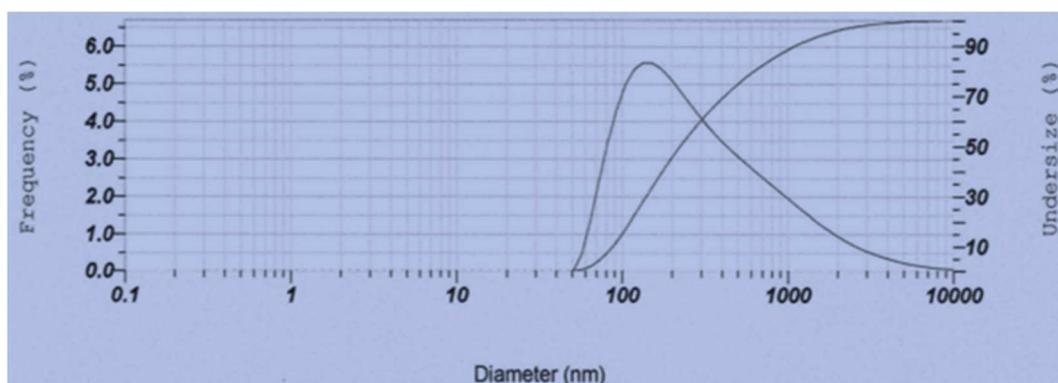
Analisis zeta potensial

Zeta potensial dianalisis menggunakan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS), dengan PSA (Liang *et al.*, 2017).

Hasil dan Analisis

Ukuran partikel Nanoenkapsulasi Ekstrak Daun Sirsak

Ukuran partikel NEDS dengan perbandingan 1 : 1 : 0,01 (kitosan : ekstrak : STPP) sebagaimana yang ditunjukkan pada Gambar 1 adalah sebesar $234,00 \pm 21,5$ nm (Gambar 1) dengan nilai indeks polidispersitas yang rendah, yaitu sebesar $0,42 \pm 0,20$. Hasil tersebut sesuai dengan penjelasan Martien *et al.* (2012) serta Esfanjani dan Jafari (2016) bahwa nanopartikel merupakan partikel yang memiliki ukuran dibawah 1 mikron atau 1000 nanometer. Perera *et al.* (2015) menyatakan bahwa partikel dengan ukuran <500 nanometer memiliki kecepatan terbaik untuk dapat melewati mukosa usus sehingga dapat mengoptimalkan proses penyerapan dan meningkatkan bioavailabilitas di dalam saluran pencernaan. Katouzian dan Jafari (2016) juga menambahkan bahwa ukuran nanopartikel akan mempengaruhi distribusi dan pelepasan bioaktif yang dibawanya. Semakin kecil ukuran nanopartikel maka proses distribusi dan pelepasan bioaktif menjadi lebih cepat dibandingkan dengan ukuran nanopartikel yang lebih besar ($50 > 200 > 500$).



Gambar 1. Ukuran partikel NEDS

Ukuran nanopartikel sebagai *drug delivery system* atau sistem penghantaran obat penting diperhatikan karena memengaruhi distribusi obat secara *in vivo*, tingkat toksisitas, kesesuaian dengan target organ, muatan obat, proses pelepasan obat, serta stabilitas *in vivo* dan *in vitro*. Beberapa faktor yang mempengaruhi besar kecilnya ukuran nanopartikel sebagai penghantaran obat adalah ukuran dari polimer yang digunakan, proses formulasi, dan proses persiapan (Motiei *et al.*, 2017). Al-Beitawi *et al.* (2016) menjelaskan bahwa nanopartikel memiliki ukuran yang lebih kecil akan tetapi memiliki luas permukaan untuk proses terjadinya reaksi kimia lebih lebar sehingga proses penghantaran obat menjadi lebih optimal di dalam tubuh ternak.

Zeta potential

Pengukuran zeta potensial dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Hasil pengukuran nilai zeta potensial dari nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak ditampilkan pada Gambar 2.

Berdasarkan hasil pengukuran dengan menggunakan PSA, nilai zeta potensial dari formulasi nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak yang dipilih adalah sebesar $+38,20 \pm 1,93$ mV (Gambar 2). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Dewandari *et al.* (2013) yang menunjukkan bahwa perpaduan antara kitosan dan STPP dalam proses gelasi ionik menghasilkan muatan zeta potensial positif. Hal ini disebabkan karena keberadaan gugus amin bebas yang mampu meningkatkan muatan zeta potensial dari nanopartikel yang dihasilkan. Pernyataan tersebut didukung oleh Rampino *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa interaksi ionik dari muatan positif kitosan dan negatif STPP akan menghasilkan muatan utama adalah positif dari polianion kitosan. Motiei *et al.* (2017) menambahkan bahwa proses ionisasi dalam amino grup pada kitosan menyebabkan kationik yang dapat menghasilkan zeta potensial dengan nilai positif. Honary dan Zahir (2013) juga menjelaskan bahwa kitosan merupakan salah satu polimer bermuatan positif yang dapat berikatan dengan polimer yang bermuatan negatif untuk menghasilkan sistem penghantaran obat (*drug delivery system*) dengan tidak mempengaruhi kandungan fisikokimia dari obat tersebut. Kitosan digunakan sebagai pelapis

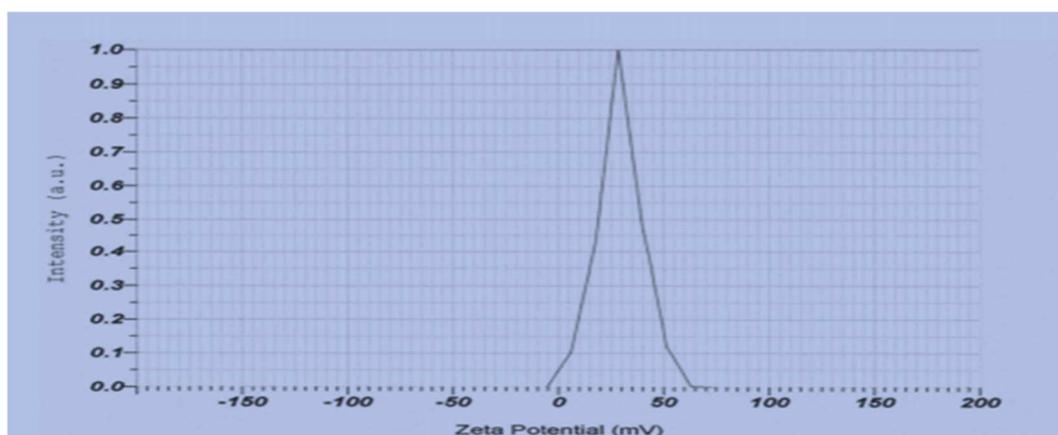
nanopartikel dan menghasilkan muatan positif untuk memudahkan interaksi dengan sel mukosa yang memiliki muatan negatif.

Nilai zeta potensial dari nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak sebesar $38,20 \pm 1,93$ mV menunjukkan hasil formulasi nanopartikel yang stabil. Hal ini sesuai dengan penjelasan Motiei *et al.* (2017) bahwa nilai zeta potensial absolut untuk nanopartikel yang menunjukkan kestabilan dan afinitas yang tinggi pada membran sel adalah > 25 mV. Servat-Medina *et al.* (2018) juga menjelaskan bahwa nilai zeta potensial yang kurang -30 mV atau lebih dari 30 mV menunjukkan stabilitas partikel. Nilai zeta potensial pada nanopartikel dipengaruhi oleh keberadaan gugus amino dan jenis muatan yang paling dominan dari beberapa polimer yang digunakan. Muatan zeta potensial terbaik dapat diperoleh dengan menentukan perbandingan formulasi yang tepat dari polimer yang memiliki muatan berlawanan. Muatan zeta potensial yang tepat membuat nanopartikel dapat dengan mudah menembus barrier mukus serta memudahkan terjadinya proses endositosis oleh sel endothelial sehingga menjadikan proses pelepasan obat lebih maksimal dan dapat dimanfaatkan dengan baik oleh target organ (Perera *et al.*, 2015).

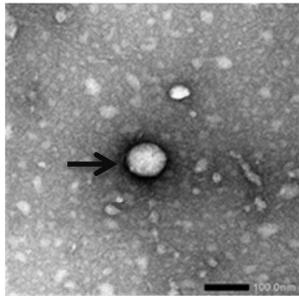
Morfologi nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak

Morfologi dari nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak diamati dengan menggunakan *Transmission Electron Microscopy* (TEM). Hasil TEM dari nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak ditampilkan pada Gambar 3.

Morfologi dari nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak menunjukkan bentuk bulat seperti bola dan berwarna terang pada latar belakang gelap dengan ukuran yang homogen (Gambar 3). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Alves *et al.* (2016) dengan membuat nanoenkapsulasi asam galat yang dilihat menggunakan pengamatan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) menghasilkan morfologi nanopartikel berbentuk bulat. Bentuk nanopartikel dari formulasi nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak yang bersifat non-agregat atau tidak menggumpal menunjukkan bahwa karakteristik nanopartikel stabil secara fisik (Badran *et al.*, 2014).



Gambar 2. Zeta potential NEDS



Gambar 3. Morfologi NEDS

Motiei *et al.* (2017) menyatakan bahwa nanopartikel terdiri dari polimer amfifilik yang mengandung senyawa hidrofobik yang terkumpul dibagian inti dan senyawa hidrofilik yang mengelilingi partikel tersebut sehingga mencegah dari pemisahan. Kitosan dan STPP merupakan polimer amfifilik yang mampu mengasihkan formulasi nanoenkapsulasi dengan ukuran partikel stabil, dan bentuk morfologi yang kompak (Rampino *et al.*, 2013). Morfologi nanopartikel penting untuk diketahui karena bentuk partikel yang kurang sferis akan mempermudah kontak antar partikel yang dapat mengakibatkan agregasi sehingga dapat membuat nanopartikel tidak stabil (Martien *et al.*, 2012). Alves *et al.* (2016) menyatakan bahwa setelah proses enkapsulasi yang terjadi antara kitosan, ekstrak dan STPP maka tidak ada lagi proses interaksi antara polymer penyalut dengan bioaktif di dalamnya.

Sediaan cair nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak

Sediaan cair dari nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak diformulasi dengan menggunakan *metode* gelasi ionik antara ekstrak daun sirsak, kitosan dan STPP yang ditampilkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Sediaan cair NEDS

Target khusus dari penelitian ini adalah untuk memperoleh formulasi yang tepat pada proses pembuatan nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak dengan karakteristik yang tepat, memperoleh produk teknologi tepat guna dalam inovasi pembuatan sediaan cair nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak dan pada penelitian tahap selanjutnya mengkaji tentang pengaruh penggunaannya secara *in vivo* pada ternak ayam broiler. Dengan demikian penelitian terobosan

aplikasi nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak sediaan cair sebagai antibakteri alami untuk menghasilkan produk hewani dari ayam broiler yang bebas residu antibiotik, aman dan sehat, ini original dan belum ada yang meneliti serta sangat perlu dilakukan guna pengembangan ilmu pengetahuan (iptek), peningkatan efektivitas dan efisiensi produksi.

Kesimpulan

Penggunaan teknologi nanoenkapsulasi ekstrak daun sirsak dapat dilakukan dengan menggunakan metode gelasi ionik dengan memanfaatkan perbedaan muatan antara kitosan STPP, dan menghasilkan ukuran sebesar $234,00 \pm 21,5$ nm, dengan morfologi berbentuk bulat, dan memiliki muatan zeta potensial sebesar $38,20 \pm 1,93$ mV, yang menandakan bahwa formulasi tersebut bersifat stabil dan homogen sehingga potensial untuk digunakan sebagai sistem penghantaran obat dari bioaktif yang ada di dalam ekstrak daun sirsak.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Teknologi Farmasi, Universitas Islam Indonesia dan Laboratorium Ilmu Makanan Ternak, Departemen Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah menyediakan fasilitas untuk penelitian ini. Kami juga ingin menyampaikan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia atas pendanaan untuk pelaksanaan dari penelitian ini.

Referensi

- Buchanan, N.P., J.M. Hott, S.E. Cutlip, A.L. Rack, A. Asamer, and J.S. (2008) Moritz, *The effects of a natural antibiotic alternative and a natural growth promoter feed additive on broiler performance and carcass quality*, The Journal of Applied Poultry Research **17**: 202-210.
- Amalia, Z. and W. Adisasmito, (2017) *Analysis of policy making factors on the prohibition of hormones and antibiotics use for feed as a public health protection*, Journal of Indonesian Health Policy and Administration **2**: 14-19.
- Hosseini, S., M. Chamani, A. Seidavi, A.A. Sadeghi, and Z. Ansari-Pirsareai, (2017) *Effect on feeding Thymolina® powder in the carcass characteristics dan morphology of small intestine of Ross 308 broiler chickens*, Acta Scientiarum **39**: 45-50.
- Gavamukulya, Y., F. Aboi-Elella, F. Wamunyokoli, and H. AEI-Shemy, (2014) *Phytochemical screening, anti-oxidant activity dan in vitro anticancer potential of ethanolic dan water leaves extracts of Annona muricata (Graviola)*, Asian Pacific Journal of Tropical Medicine **7**: S355-S363.
- Sugayana, M., M. Magela, and G. Rubalakshmi, (2016) *New Era about treatment-evaluation of anticancer properties of evergreen medicinal plant Annona muricata (Graviola)*, International Journal of Recent Scientific Research **7**: 10954-10956..

- Esfanjani, A.F., and S.M. Jafri, (2016) *Biopolymer nanoparticles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds*, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces **146**: 532-543.
- Sundari, Zuprizal, T. Yuwanta and R. Martien, (2014) *The effect nanocapsule of turmeric extracts in rations on nutrient digestibility of broiler chickens*, Animal Production **16**: 107-113.
- Liang, J., H. Yan, X. Wang, Y. Zhou, X. Gao, P. Puligundla, and X. Wan, (2017) *Encapsulation of epigallocatechin gallate in zein/chitosan nanoparticles for controlled applications in food systems*, Food Chemistry **231**: 19-24.
- Martien, R., A. Adhyatmika, V. Farid dan D.P. Sari, (2012) *Technology developments nanoparticles as drug delivery systems*, Majalah Farmaseutik **8**: 133-144.
- G. Perera, M. Zipser, S. Bonengel, W. Salvenmoser, and A. Bernkop-Schnürch, (2015) *Development of phosphorylated nanoparticles as zeta potential inverting systems*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics **97**: 250-256.
- Katouzian, I. and S.M. Jafari, (2016) *Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins*, Trends in Food Science & Technology **53**: 34-48.
- Al-Beitawi, N.A., M.M. Shaker, K.N. El-Shuraydeh, and J. Blaha, (2017) *Effect of nanoclay minerals on growth performance, internal organs and blood biochemistry of broiler chickens compared to vaccines and antibiotics*, Journal of Applied Animal Research **45**: 543-549.
- Dewandari, K.T., S. Yuliani, and S. Yasni, (2013) *Extraction and characterization nanoparticle red betel leaf (Piper crocatum)*, Indonesian Journal of Agricultural Postharvest Research **10**: 58-65.
- Rampino, A., M. Borgogna, P. Blasi, B. Bellich, A. Cesàro, (2013) *Chitosan nanoparticles: Preparation, size evolution and stability*, International Journal of Pharmaceutics **455**: 219-228.
- Motiei, M., S. Kashanian, L.A. Lucia., M. Khazaei, (2017) *Intrinsic parameters for the synthesis and tuned properties of amphiphilic chitosan drug delivery nanocarriers*, Journal of Controlled Release **260** (2017): 213-225.
- Honary S., and F. Zahir, (2012) *Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems -a review (Part 2)*, Tropical Journal of Pharmaceutical Research **12**: 265-273.
- Servat-Medina L, A. González-Gómez, F. Reyes-Ortega, I.M.O. Sousa, N.C.A. Queiroz, P.M.W. Zago, M.P. Jorge, K.M. Monteiro, J.E. de Carvalho, J.S. Román, and M.A. Foglio, (2015) *Chitosan-tripolyphosphate nanoparticles as Arrabidaea chica standardized extract carrier: synthesis, characterization, biocompatibility, and antiulcerogenic activity*, International Journal of Nanomedicine **10**: 3897-3909.
- Alves, A.C.S., R.M. Mainardes, and N.M. Khalil, (2016) *Nanoencapsulation of gallic acid and evaluation of its cytotoxicity and antioxidant activity*, Materials Science and Engineering **60**: 126-134.
- Badran, M.M., E.I. Taha, M.M. Tayel, and S.A. Al-Suwayeh, (2014) *Ultra-fine self nanoemulsifying drug delivery system for transdermal delivery of meloxicam: dependency on the type of surfactants*, Journal of Molecular Liquids **190**: 16-22.