

## Effect of Mannitol Concentration on The Stability of Encapsulated *Yeast* Black Rice Extract

Fikaliah Kusnandar Ririn Uli Riwu, Rudiana Agustini✉

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya  
Gedung C4 - C5, Kampus Ketintang, Surabaya, 60231, Indonesia

### Info Artikel

Diterima Maret 2022

Disetujui Mei 2022

Dipublikasikan Agustus  
2022

#### Keywords:

Mannitol  
Stability  
Concentration  
Yeast

### Abstrak

Proses enkapsulasi ekstrak *yeast* beras hitam dengan manitol mampu meminimalisir terjadinya proses agregasi dan degradasi protein yang dapat berakibat pada rendahnya bioavailabilitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi manitol terhadap stabilitas ekstrak *yeast* beras hitam terenkapsulasi menggunakan teknik sonikasi dan matriks pendukung poloxamer. Penambahan manitol digunakan variasi konsentrasi (0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm). Stabilitas hasil enkapsulasi diukur menggunakan TDS (*Total Dissolve Solid*) meter untuk melihat tingkat kekeruhan dan dikarakterisasi menggunakan spektroskopi inframerah (FT-IR) untuk melihat pergeseran spektra dari gugus fungsi. Hasil penelitian menunjukkan enkapsulasi formula 3 memiliki stabilitas paling baik dikarenakan memiliki nilai TDS yang kecil selama 7 hari dengan turbiditas sebesar 16 ppm dan tampilan warna yang dihasilkan terlihat lebih jelas. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa penambahan konsentrasi manitol berpengaruh terhadap nilai turbiditas tanpa terjadi interaksi kimia yang merusak senyawa aktif di dalam enkapsulasi.

### Abstract

The encapsulation process of *yeast* black rice extract with mannitol can minimize the occurrence of protein aggregation and degradation processes which can result in low bioavailability. This study aims to determine the effect of mannitol concentration on the stability of encapsulated *yeast* black rice extract using sonication techniques and a poloxamer support matrix. The addition of mannitol used concentration variations (0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm). The stability of the encapsulated results was measured using a TDS (*Total Dissolve Solid*) meter to see the level of turbidity and characterized using infrared spectroscopy (FT-IR) to see the shift in the spectra of the functional groups. The results showed that the encapsulation of formula 3 has the best stability because it has a small TDS value for a period of 7 with a turbidity of 16 ppm and the resulting color display looks clearer. Based on the results of the study, it was found that the addition of mannitol concentration affected the turbidity value without chemical interactions that damaged the active compounds in the encapsulation.

## Pendahuluan

Beras Hitam (*Oryza sativa L. Indica*) merupakan salah satu varietas pangan lokal yang memiliki kandungan pigmen paling baik dibandingkan dengan varietas beras lainnya (Kushwaha, 2016). Beras hitam memiliki komponen bioaktif seperti senyawa fenolik, mineral, antosianin, filosterol dan asam sitrat (Tang, *et al.*, 2016). Nilai gizi dan nutrisinya sangat tinggi termasuk protein 10,60%; serat kasar 2,43%; air 11,00%; amilum 13,26%; dan kromium  $20 \times 10^{-4}$  % (Agustini, 2018). Kadar air pada beras hitam terbilang cukup sehingga dapat digunakan dalam proses fermentasi sebagai media penumbuhan *yeast* atau ragi. *Yeast* beras hitam berpotensi sebagai senyawa aktif yang terdapat dalam obat antidiabetes (Agustini, *et al.*, 2018).

Senyawa bioaktif di dalam ekstrak *yeast* memerlukan suatu proses perlindungan dari kerusakan dan ketahanan selama masa penyimpanan yaitu enkapsulasi. Senyawa bioaktif yang terdapat didalamnya berperan sebagai antioksidan meliputi senyawa flavonoid, fenolik, antosianin, dan fitokimia. Hasil proses enkapsulasi berupa partikel berdiameter mikrometer hingga nanometer (Weiss, 2008). Enkapsulasi digunakan sebagai alternatif perlindungan komponen bioaktif partikel inti dan meminimalisir dampak bahaya antar senyawa karena kandungan aktif yang umumnya mudah bereaksi dengan senyawa lain dan cenderung tidak stabil. Penggunaan enkapsulasi memiliki keuntungan berupa potensi peningkatan bioavailabilitas sehingga meminimalisir proses agregasi dan degradasi protein, zat tidak terpengaruhi oleh kondisi luar akibat ketersediaan lapisan dinding polimer, mencegah perubahan pada warna dan bau, mempertahankan stabilitas zat inti dalam rentang waktu yang lama serta kemungkinan penargetan dari senyawa bioaktif (Kumar, *et al.*, 2013).

Enkapsulasi merupakan teknik penyalutan bahan inti menggunakan bahan pelindung (Martin, *et al.*, 2010). Bahan pelindung bekerja sebagai agen pembawa/penstabil yang berfungsi sebagai pelindung terhadap agen yang rentan terhadap proses degradasi (Papillo, 2018). Bahan pelindung diklasifikasikan menjadi biodegradable dan surfaktan (Li, *et al.*, 2008). Poloxamer merupakan surfaktan nonionik digunakan sebagai karier berbentuk butiran hambar, tidak berbau, dan berwarna putih lilin yang dapat terurai secara hayati (Kim & al, 2014).

Metode yang digunakan adalah metode sonikasi, yaitu metode yang menggunakan gelombang ultrasonik dimana gelombang tersebut dapat memecah partikel yang terbentuk menjadi partikel yang lebih kecil dan gelombang tersebut diteruskan oleh media cair ke target yang dituju (Zhou, *et al.*, 2009). Pengaruh dari waktu sonikasi terhadap ukuran partikel yang dihasilkan akan berdampak terhadap stabilitas nano yang dienkapsulasi (Agustini, *et al.*, 2021). Hasil pengamatan morfologi dilakukan terhadap enkapsulasi *yeast* menghasilkan bentuk yang memanjang dan saling terikat serta memperlihatkan beberapa *yeast* tidak terenkapsulasi. Namun enkapsulasi yang sepenuhnya tidak berbentuk bulat atau cenderung memanjang akan membentuk misel yang diakibatkan karena adanya agregasi oleh dorongan dehidrasi pada gugus hidrofobik poloxamer (Amyliana & Agustini, 2021).

Berbagai jenis zat penstabil seperti gula, poliol, dan polimer bertindak sebagai krioprotektan selama pembekuan. Gula bisa membuat barrier fisik diantara partikel dan molekul, menurunkan mobilitas molekul dan difusi serta dapat mencegah degradasi dan agregasi protein. Selama proses pengeringan, gula menggantikan molekul air dengan molekul protein pada interaksi ikatan hidrogen dan membantu pada proses perlindungan sehingga mampu menghambat dalam kerusakan nanopartikel oleh kristal es (Amorij, 2008).

Kelompok gula yang biasanya digunakan diantaranya sukrosa, maltodekstrin, trehalosa, manitol, dan laktosa. Manitol berbentuk serbuk hablur berwarna putih, tidak berbau, dan memiliki rasa manis. Tingkat stabilisasi yang diberikan oleh kelompok ini sangat bergantung pada konsentrasinya. Efek yang dihasilkan oleh manitol diuji pada konsentrasi yang berbeda mulai dari 1% hingga 4% (b/v) menunjukkan rata-rata ukuran partikel dan distribusi ukuran menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi manitol (Tiyaboonchai, 2007). Manitol meningkatkan bioavailabilitas dan disolusi dari suatu obat Clotrimazole. Pada penelitian formulasi Clotrimazole dalam sistem dispersi padat dengan penggunaan gula sebagai matriks, manitol menunjukkan dapat meningkatkan kelarutan Clotrimazole 806 kali lipat dibandingkan menggunakan matriks lain (Madgulkar, *et al.*, 2015).

Selain itu, manitol bersifat rendah kalori sehingga aman digunakan oleh penderita diabetes biasanya dipergunakan sebagai zat pengganti gula dan tidak mengakibatkan caries pada gigi. Manitol memiliki indeks glikemik yang lebih rendah daripada sorbitol menggambarkan kemampuan dalam proses absorpsi dan efek peningkatan kadar glukosa darah sangat rendah (Chuwkuma & Islam, 2018). Telah dibuktikan bahwa manitol mampu menghambat penyerapan glukosa pada tikus penderita diabetes dan dapat digunakan sebagai suplemen makanan antihiperlikemik sebagai pengontrol peningkatan glukosa (Chuwkuma, *et al.*, 2019). Melalui hipotesis imobilisasi partikel bahwa manitol melindungi partikel terhadap

agregasi dengan memberikan pemisahan dan imobilisasi partikel dalam matriks selama dehidrasi. Selain itu, mampu berinteraksi dengan kelompok polar dari molekul surfaktan sehingga mencegah kontak antara nanopartikel melalui hambatan sterik. Konsentrasi tinggi krioprotektan selama pembekuan dapat menunjukkan stabilitas nanopartikel yang semakin meningkat dan didapatkan hasil yang lebih baik (Tiyaboonchai, 2007).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi manitol yang digunakan terhadap stabilitas ekstrak *yeast* yang dienkapsulasi di mana stabilitas diukur melalui TDS sensor dan dikarakterisasi menggunakan spektroskopi inframerah.

## Metode

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah labu ukur 100 mL, neraca analitik, spatula, gelas ukur 100 mL, gelas soju, pipet tetes, mikropipet, magnetik stirrer, sentrifuse, probe sonicator, TDS/EC Meter, *freeze dryer*, dan *Fourier Transform Infrared* (FT-IR). Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak *yeast* beras hitam, aquades, poloxamer 188, dan manitol.

### Tahap Preparasi Sampel

Mula-mula *yeast* beras hitam dimaserasi menggunakan pelarut aquades selama 3x24 jam. Kemudian filtrat hasil maserasi disaring menggunakan pipa vakum dan diuapkan menggunakan *freeze dryer*. Ekstrak *yeast* yang diperoleh digunakan sebagai bahan inti dalam enkapsulasi.

### Tahap Enkapsulasi *Yeast* Beras hitam

Ekstrak *yeast* beras hitam dan poloxamer dilarutkan kedalam 10 ml aquades dengan menggunakan perbandingan 1:4 hingga homogen. Kemudian dilakukan proses sonikasi selama 5 menit pada frekuensi 30 Hz. Hasil enkapsulasi *yeast* disimpan didalam gelas kecil untuk ditambahkan manitol.

### Tahap Formulasi Manitol

Hasil enkapsulasi yang telah dimasukkan ke dalam masing-masing gelas sebanyak 15 mL. Dimasukkan 1,5 mL manitol ke dalam gelas yang berisi kapsul dengan konsentrasi manitol (0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm). Langkah selanjutnya diinkubasi selama 1 hari kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.

**Tabel 1.** Formula enkapsulasi dan manitol

Bahan	F1	F2	F3	F4	F5
Ekstrak <i>yeast</i> beras hitam	20 gr				
Poloxamer	80 gr				
aquades	1 mL	-	-	-	-
Larutan manitol 25 ppm	-	1 mL	-	-	-
Larutan manitol 50 ppm	-	-	1 mL	-	-
Larutan manitol 75 ppm	-	-	-	1 mL	-
Larutan manitol 100 ppm	-	-	-	-	1 mL

### Pengujian TDS (*Total Dissolve Solid*)

Tahap pengambilan data yaitu diambil 1 ml hasil sentrifuge dan diukur menggunakan TDS meter. Pengukuran TDS meter dilakukan selama 7 hari.

### Pengujian FT-IR (*Fourier Transform Infrared*)

Formulasi terbaik dari pengujian TDS diujikan menggunakan spektrofotometer FT-IR untuk mengetahui pergeseran bilangan gelombang pada sampel.

## Hasil dan Pembahasan

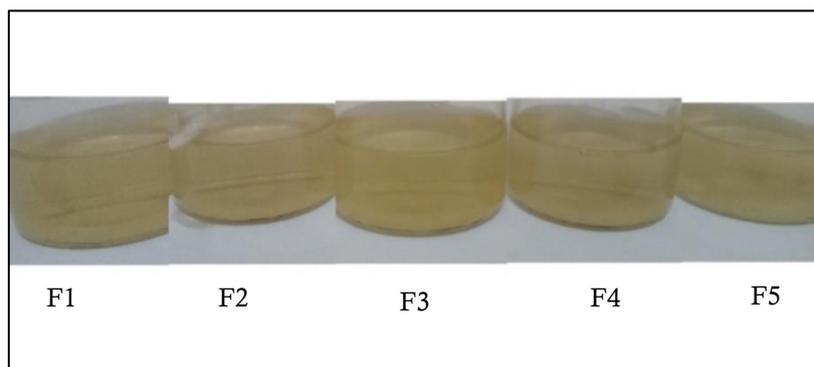
Hasil ekstrak *yeast* beras hitam yang dienkapsulasi menggunakan matriks dengan perbandingan 1:4 antara *yeast* dan poloxamer yang dilarutkan ke dalam 10 mL aquades hingga homogen menghasilkan nanopartikel. Selanjutnya dilakukan proses sonikasi selama 5 menit dengan frekuensi 30 Hz. Metode sonikasi sangat berpengaruh pada stabilitas enkapsulasi. Pembuatan enkapsulasi menggunakan poloxamer menghasilkan ukuran partikel sebesar 291 nm yang diakibatkan jumlah polimer lebih banyak sehingga dapat mencegah aglomerasi partikel (Agustini, *et al.*, 2021). Selain metode, lama waktu proses sonikasi juga berpengaruh terhadap ukuran partikel, semakin lama maka akan semakin besar energi panas yang dilepaskan, hal ini akan menginduksi terjadinya aglomerasi partikel (Dzakwan & Priyatno, 2020). Enkapsulasi terbaik dengan nilai turbiditas paling kecil yaitu pada waktu sonikasi 5 menit dengan nilai 16 NTU (Agustini, *et al.*, 2021).

Pengamatan morfologi dilakukan terhadap enkapsulasi *yeast* menghasilkan bentuk yang memanjang dan saling terikat serta memperlihatkan beberapa *yeast* tidak terenkapsulasi. Namun, enkapsul yang sepenuhnya tidak berbentuk bulat atau cenderung memanjang akan membentuk misel yang diakibatkan karena adanya agregasi oleh dorongan dehidrasi pada gugus hidrofobik poloxamer (Amyliana & Agustini, 2021). Perlindungan enkapsulasi *yeast* tersebut digunakan suatu gula yaitu manitol. Gula bisa membuat barrier fisik diantara partikel dan molekul, menurunkan mobilitas molekul dan difusi serta dapat mencegah degradasi dan agregasi protein (Amorij, 2008). Gula berhasil digunakan sebagai krioprotektan untuk nanopartikel solid padat dalam mengurangi agregasi (Freitas & Muller, 1998). Manitol termasuk ke dalam gula alkohol yang berfungsi sebagai pembentuk struktur air yang baik karena ikatan hidrogennya kuat didalam air dibandingkan dengan monosakarida yang mengandung aldosa dan ketosa.

Setelah proses sonikasi, ditambahkan manitol dengan variasi konsentrasi 0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm. Konsentrasi serta jenis bahan stabil berpengaruh terhadap kemampuan dalam mencegah terjadinya aglomerasi partikel (Dzakwan & Priyatno, 2020). Penggunaan bahan stabil yang berkombinasi memiliki ukuran partikel lebih kecil dibandingkan dengan penggunaan bahan penstabil berbentuk tunggal sehingga lebih optimal agar tidak terjadi aglomerasi dan agregasi partikel (Verma, *et al.*, 2011). Saat konsentrasi krioprotektan meningkat, agregasi molekul dapat terjadi menurun atau meningkat tergantung pada sistem partikel dan proses freeze-dry (Sonner, *et al.*, 2002).

Manitol terbukti meningkatkan kelarutan dari suatu obat Clotrimatzol. Kelarutan yang mampu ditingkatkan sebesar 806 kali lipat dibandingkan menggunakan matriks lain (Madgulkar, *et al.*, 2015). Naiknya kelarutan akan meningkatkan disolusi dan bioavailabilitas dari suatu obat. Melalui hipotesis imobilisasi partikel, manitol melindungi partikel terhadap agregasi dengan memberikan pemisahan dan imobilisasi partikel dalam matriks selama dehidrasi (Tiyaboonchai, 2007). Dalam pembuatan nanosuspensi, manitol ditambahkan dengan konsentrasi 1% sebagai krioprotektan untuk mencegah agregasi dan kerusakan partikel pada saat proses pembekuan (Kumar, *et al.*, 2014).

Langkah selanjutnya, setiap formulasi dari enkapsulasi diinkubasi selama 1 hari kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setiap formula diamati selama 7 hari untuk diukur TDS (*Total Dissolved Solid*) menggunakan alat TDS Meter. TDS merupakan total benda padat yang larut dalam air dengan satuan ppm. Total zat padat terlarut terdiri dari beberapa zat organik, garam anorganik, dan gas terlarut (Prabowo, *et al.*, 2019). Konsentrasi TDS yang tinggi dapat mengakibatkan daya hantar listrik menjadi tinggi dimana menyebabkan ionisasi menjadi tinggi pula. Jenis partikel koloid merupakan penyebab kekeruhan di air (efek tyndall) yang disebabkan oleh defleksi sinar nyata yang menembus suspensi tersebut. Partikel-partikel koloid tersebut tidak terlihat secara visual namun larutannya (tanpa partikel koloid) yang terdiri dari ion-ion dan molekul-molekul tidak pernah keruh. Apabila terjadi pengendapan yang disebabkan oleh komponen kejenuhan dari suatu senyawa kimia maka larutan akan menjadi keruh (Yulianti, 2006). Tampilan partikel setiap formulasi ditunjukkan pada Gambar 1 sesudah diinkubasi selama 7 hari dengan suhu kamar.



**Gambar 1.** Enkapsulasi ekstrak *yeast* beras hitam dengan variasi konsentrasi manitol (F1) 0 ppm (F2) 25 ppm (F3) 50 ppm (F4) 75 ppm (F5) 100 ppm

Secara visual untuk mengetahui sediaan enkapsulasi terbaik dilihat melalui pengamatan fisik yaitu melalui tampilan sampel setelah diinkubasi. Hasil enkapsulasi *yeast* dengan penambahan manitol memperlihatkan bahwa pada konsentrasi manitol sebesar 50 ppm, tampilan warna partikel terlihat lebih jelas. Sedangkan pada konsentrasi 75 ppm dan 100 ppm menghasilkan warna enkapsulasi lebih pudar. Hasil enkapsulasi menggunakan sonikator, semakin kecil konsentrasi surfaktan (poloxomer 188) yang digunakan maka partikel terlihat lebih jelas dibandingkan menggunakan surfaktan dengan konsentrasi yang tinggi. Konsentrasi surfaktan maupun bahan inti sangat berpengaruh terhadap efisiensi penjerapan, semakin rendah konsentrasi manitol yang ditambahkan akan terbentuk agregat dengan diameter yang besar (Wu, 2005). Begitupula sebaliknya jika terlalu tinggi konsentrasi manitol maka akan semakin banyak zat terlarut yang terdapat didalam sampel. Manitol mampu berinteraksi dengan kelompok polar dari molekul surfaktan sehingga mencegah kontak antara nanopartikel melalui hambatan sterik (Tiyaboonchai, 2007).

Pada penelitian ini, digunakan 10 sampel diuji menggunakan TDS yang kemudian dapat diketahui nilainya yang tertera pada alat. TDS dilakukan untuk mengetahui tingkat kekeruhan yang menggambarkan stabilitas enkapsulasi yang terbentuk. Dalam pengujian TDS ini enkapsulasi dikatakan stabil apabila terjadi kenaikan kekeruhan paling kecil (Agustini, *et al.*, 2021). Tetapi banyak faktor lain yang berpengaruh dalam penentuan kestabilan enkapsulasi diantaranya ukuran dan distribusi partikel dan morfologi partikel. Pengujian dilakukan selama 7 hari berturut-turut dengan pengulangan 2 kali. Didapatkan hasil Uji TDS dengan nilai delta paling konstan yaitu pada hari pertama dan hari terakhir yang ditampilkan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji TDS

Formula	Pengulangan	TDS (ppm)		Nilai $\Delta$ (ppm)	Rata-rata $\Delta$ (ppm)
		Hari ke-1	Hari ke-7		
1 (0 ppm)	1	268	275	7	6,5
	2	268	274	6	
2 (25 ppm)	1	269	280	11	11,5
	2	269	278	12	
3 (50 ppm)	1	258	274	16	16
	2	259	275	16	
4 (75 ppm)	1	260	278	18	18
	2	266	284	18	
5 (100 ppm)	1	260	286	26	23,5
	2	266	286	21	

Berdasarkan data, nilai turbiditas rata-rata pada sampel enkapsulasi ekstrak *yeast* beras hitam dengan penambahan manitol dengan konsentrasi yang berbeda dari hari pertama inkubasi dan hari ke-7 waktu inkubasi mengalami kenaikan. Hal ini dikarenakan semakin banyak zat yang ditambahkan maka semakin tinggi zat total padatan yang larut dalam air. Tingkat kekeruhan pada hasil yang didapatkan menunjukkan stabilitas enkapsul yang terbentuk (Agustini, *et al.*, 2021). Kekeruhan diukur menggunakan

instrumen TDS meter yang digunakan untuk mengukur jumlah zat terlarut padatan dalam cairan yang berbentuk ion organik, senyawa, atau koloid dalam air dengan satuan ppm atau mg/L (Sotyohadi, *et al.*, 2020). Total padatan terlarut merupakan konsentrasi jumlah ion kation dan anion yang ada di air (Nicola, 2015).

Nilai turbiditas pada perlakuan kontrol (0 ppm) terjadi peningkatan sebesar 6,5 ppm dan konsentrasi manitol 25 ppm terjadi peningkatan 11,5 ppm. Kedua konsentrasi ini tidak dipilih menjadi formula terbaik karena konsentrasi manitol yang digunakan cukup rendah dan nilai turbiditas pada hari pertama sangat tinggi. Menurut Julistiono (2001) penggunaan konsentrasi krioprotektan yang rendah mengakibatkan sifat ketoksikannya menjadi tinggi. Pada konsentrasi 50 ppm terjadi peningkatan sebesar 16 ppm. Meskipun dalam formula ini memiliki nilai TDS paling kecil selama kurun waktu 7 hari namun nilai turbiditas meningkat paling stabil dari konsentrasi sebelumnya. Sedangkan konsentrasi 75 ppm meningkat nilai turbiditas sebesar 18 ppm dan konsentrasi 100 ppm meningkat sebesar 23,5 ppm. Konsentrasi 75 ppm dan 100 ppm tidak dipilih karena memiliki peningkatan nilai turbiditas rata-rata yang tinggi sehingga dikhawatirkan akan mengganggu proses enkapsulasi. Menurut Rosaini & Astuti (2018) jika penggunaan konsentrasi manitol yang terlalu tinggi dapat menutupi permukaan enkapsul. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa nilai rata-rata turbiditas semakin tinggi seiring bertambahnya konsentrasi manitol yang digunakan sehingga semakin tinggi pula tingkat kejenuhan enkapsulasi.

Konsentrasi 50 ppm dengan nilai turbiditas rata-rata mengalami peningkatan sebesar 16 ppm menjadi formula terbaik karena memiliki nilai turbiditas yang kecil selama kurun waktu 7 hari dan menghasilkan enkapsulasi dengan tampilan partikel atau warna larutan yang cukup jelas dibandingkan dengan formula lain. Penelitian menunjukkan rata-rata ukuran partikel dan distribusi ukuran menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi manitol. Konsentrasi tinggi krioprotektan selama pembekuan dapat menunjukkan stabilitas nanopartikel yang semakin meningkat dan didapatkan hasil yang lebih baik. Namun pada kombinasi manitol dengan Avicel PH 102 membuktikan bahwa telah memenuhi syarat bahwa sebuah obat bisa dikatakan stabil dengan tidak berpengaruhnya oleh waktu penyimpanan menggunakan konsentrasi manitol yang lebih kecil daripada bahan pengisinya (Budaya & Hazael, 2018).

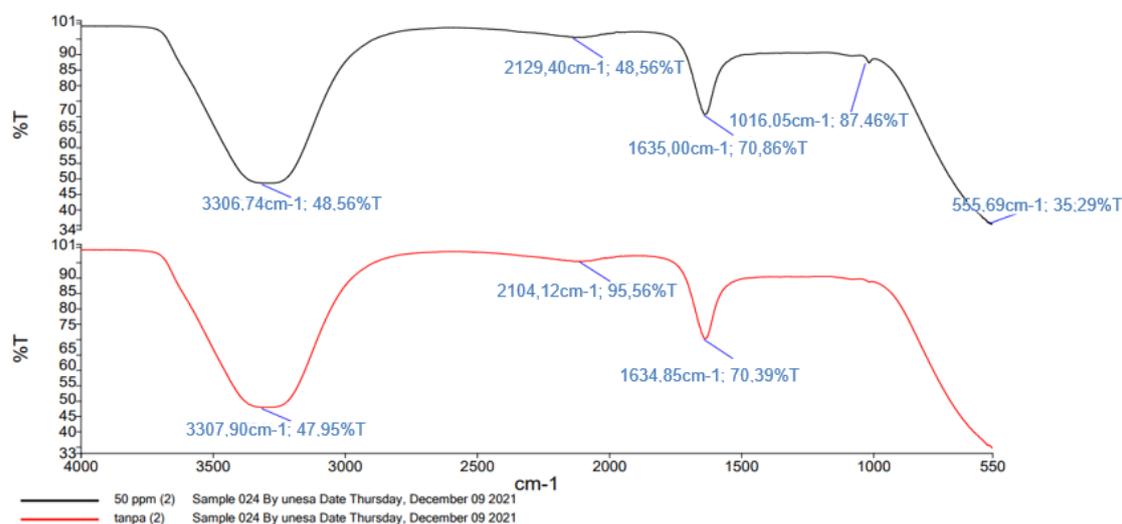
Seiring meningkatnya konsentrasi manitol menyebabkan ukuran partikel rata-rata nanopartikel dari obat menurun. Hal ini membuktikan manitol berhasil bertindak sebagai krioprotektan dalam pembentukan enkapsulan (Lee, *et al.*, 2009). Dalglish (1972) beranggapan bahwa krioprotektan dapat menjadikan membran biologi sensitif terhadap proses freeze-dry namun integritas biologi tetap stabil pada suhu beku jika terdapat krioprotektan berupa gula. Hasil yang didapatkan bahwa meningkatnya konsentrasi manitol yang digunakan maka nilai turbiditas yang dihasilkan juga meningkat sehingga berpengaruh terhadap kestabilan enkapsulasi. Meskipun memiliki kestabilan yang tinggi namun nilai turbiditas dalam kurun waktu 7 hari belum tentu menghasilkan nilai TDS yang kecil. Sehingga kestabilan dalam enkapsulasi dapat dilihat melalui nilai turbiditas yang paling kecil.

Strauss *et al.* (1986) menyimpulkan bahwa kelompok gula berikatan dengan gugus polar dari fosfatidilkolin kemungkinan membentuk ikatan hidrogen yang menjamin stabilitas membran. Kelompok peneliti telah menggunakan europium untuk membuktikan mekanisme interaksi senyawa gula dengan fosfolipida. Europium yang dapat berikatan dengan gugus fosfat menjadikan fusi liposom menjadi maksimal dan akan dihambat oleh kelompok gula seperti manitol (Anchoroguy, *et al.*, 1987).

Penggabungan gula (manitol) dapat memecah cangkang hidrasi dari poloxamer dengan kemampuan ikatan hidrogen tersebut. Poloxamer terdiri dari rantai hidrofobik yang memungkinkan terjadinya agregasi pada sistem enkapsulasi semakin besar (Amyliana & Agustini, 2021). Namun, manitol bersifat sebagai stabilisator yang bersifat hidrofilik yang dapat menurunkan energi kristal dan intensitas kristalinitas (Huang & Wei, 2014). Semakin tinggi konsentrasi manitol yang digunakan maka semakin banyak ikatan hidrogen yang terbentuk sehingga hidrasi yang diakibatkan oleh poloxamer akan berkurang kemungkinan agregasi terjadi sangat kecil. Sedangkan gugus fungsi pada manitol yang bersifat hidrofilik berfungsi untuk membantu kelarutan enkapsulasi dengan membentuk lapisan hidrofilik di sekeliling partikel hidrofobik yang diakibatkan oleh poloxamer untuk membentuk stabilitas sterik. Karena hal tersebut manitol sebagai stabilizer yang dapat menaikkan stabilitas dan menurunkan agregasi dari enkapsulasi.

Enkapsulasi ekstrak *yeast* beras hitam dengan formula terpilih (formula 3) dilanjutkan dengan pengujian bilangan gelombang menggunakan spektrum IR. Pengujian dilakukan menggunakan 2 sampel yaitu sampel dengan penambahan manitol konsentrasi 50 ppm dan sampel tanpa penambahan manitol. Spektroskopi IR digunakan untuk penentuan struktur yakni informasi mengenai gugus fungsional suatu gelombang yang diambil dari bilangan gelombang. Hasil dari spektrum berupa absorbansi maupun

transmittan yang merupakan sidik jari dari molekul yang dianalisis. Spektrum yang dihasilkan diantara kedua sampel diperlihatkan dalam Gambar 2.



**Gambar 2.** Spektrum inframerah enkapsulasi ekstrak yeast beras hitam tanpa dan dengan penambahan manitol

Gambar 2 menyatakan bahwa tidak ada perubahan struktur yang mencolok yang disebabkan adanya manitol. Hasil spektrum IR pada data tersebut diidentifikasi pada bilangan gelombang berkisar antara 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Dari data spektrum infra merah nanoenkapsulasi ekstrak *yeast* beras hitam tanpa penambahan manitol muncul puncak dengan bentuk melebar pada 3307,90  $\text{cm}^{-1}$  yang diketahui adanya vibrasi ulur (stretching) gugus fungsi O-H. Gugus stretching C-H dengan bilangan gelombang 2104,12  $\text{cm}^{-1}$ , dan gugus C=C pada 1634,85  $\text{cm}^{-1}$ . Pada spektrum inframerah ketika ditambahkan manitol, muncul serapan gugus baru yaitu pada gugus C-O dengan bilangan gelombang 1016,05  $\text{cm}^{-1}$  sedangkan pada gugus yang sama hanya berubah intensitas serapannya. Muncul puncak lebar yang diakibatkan karena adanya gugus hidrogen dan terjadi pergeseran ke bilangan gelombang yang lebih rendah pada gugus O-H pada 3306,74  $\text{cm}^{-1}$ , gugus C=C dengan bilangan gelombang 1635,00  $\text{cm}^{-1}$  dan gugus C-H pada 2129,40  $\text{cm}^{-1}$ .

Dari analisis FT-IR ini diambil kesimpulan bahwa struktur molekul tidak berubah dan kemungkinan tidak terjadi interaksi kimia dengan enkapsulasi dikarenakan adanya kemiripan pada gugus fungsi dengan panjang gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Hal ini juga sama dengan hasil penelitian pada analisis FT-IR bahwa pembentukan mikrokapsul dari manitol dan pirazinamid tidak ada interaksi kimia dikarenakan adanya kemiripan pada daerah gugus fungsinya (Rosaini & Astuti, 2018).

## Simpulan

Berdasarkan data yang telah dihasilkan, disimpulkan bahwa formulasi terbaik konsentrasi manitol yang dibutuhkan dalam enkapsulasi ekstrak *yeast* beras hitam yaitu sebesar 50 ppm. Semakin tinggi konsentrasi manitol maka semakin tinggi pula nilai turbiditas yang dihasilkan. Nilai turbiditas enkapsulasi terbaik menghasilkan nilai rata-rata yaitu 16 ppm yang ditunjukkan dengan nilai TDS yang kecil dalam penyimpanan selama 7 hari dan memberikan tampilan warna partikel yang cukup jelas. Hasil spektrum inframerah pada enkapsulasi manitol membuktikan bahwa manitol sesuai dalam pembentukan enkapsulasi dikarenakan tidak adanya interaksi kimia yang terjadi.

## Daftar Referensi

- Agustini, R., 2018. Pemanfaatan yeast hydrolysate enzymatic (YHE) yang diproduksi dalam berbagai media tumbuhan sebagai obat DM 2 dengan mengkaji kandungan Chromium (III). (*tidak dipublikasikan*).
- Agustini, R., Amyliana, N. A., Herdyastuti, N. & Sanjaya, I., 2021. Nano-encapsulation of Black Rice Yeast Extract with Poloxamer Supporting Matrix. *International Joint Conference on Science and Engineering*, 209: 375-381.

- Agustini, R., Sanjaya, I. & Lupita, 2018. Characterization of Yeast Hydrolysate Enzymatic (YHE) from yeast fermented in the Variation of Rice Flour. *Journal of Physics: Conference Series*, 1-8.
- Amorij, J., 2008. Influenza vaccine powder formulation: Challenges and Possibilities. *Pharmaceutical Research*, 25(6): 1256-1273.
- Amylana, N. A. & Agustini, R., 2021. Formulasi Dan Karakterisasi Nanoenkapsulasi Yeast Beras Hitam Dengan Metode Sonikasi Menggunakan Poloxamer. *Journal of Chemistry*, 10(2): 184-191.
- Anchordoguy, T. J., Rudolph, A. S., Carpenter, J. F., & Crowe, J. H. 1987. Modes of interaction of cryoprotectants with membrane phospholipids during freezing. *Cryobiology*, 24(4): 324-331. [https://doi.org/10.1016/0011-2240\(87\)90036-8](https://doi.org/10.1016/0011-2240(87)90036-8).
- Budaya, U. D. & Hazael, A., 2018. Pengaruh Variasi Konsentrasi Avicel PH 102 dan Manitol Terhadap Sifat Fisik Tablet Hisap Ekstrak Akar Ekinase (*Echinacea purpurea* (Herb.)) Secara Kempa Langsung. *Indonesian Natural Research Pharmaceutical Journal*. 3(2): 1-14.
- Chuwkuma, C. & Islam, M., 2018. Xylitol: One name, Numerous Benefits. In J. M. Mérillon & K. G. Ramawat (Ed.). *Sweeteners, Reference Series in Phytochemistry*.
- Chukwuma, C.I., Matsabisa, M.G., Erukainure, O.L., Ibeji, C.U., Islam, M.S. 2019. D-mannitol modulates glucose uptake ex vivo; suppresses intestinal glucose absorption in normal and type 2 diabetic rats, *Food Bioscience*, 29(3): 30-36.
- Dalgliesh R. J. 1972. Changes in hemolysis of mammalian erythrocytes by rapid freezing and thawing and by mechanical stress during their permeation with glycerol. *Cryobiology*, 9(4): 277-282. [https://doi.org/10.1016/0011-2240\(72\)90048-x](https://doi.org/10.1016/0011-2240(72)90048-x)
- Dzakwan, M. & Priyatno, W., 2020. Formulasi, Karakterisasi dan Aktivitas Antioksidan Nanosuspensi Morin. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 3(2): 121 – 131.
- Freitas, C., & Müllerä, R. H. 1998. Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLN TM). *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 46(2): 145-151. [https://doi.org/10.1016/s0939-6411\(97\)00172-0](https://doi.org/10.1016/s0939-6411(97)00172-0).
- Huang, Y. & Wei, G. D., 2014. Review: Fundamental Aspect of Solid Dispersion Technology for Poorly Soluble Drugs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4(1): 18-23.
- Julistiono, H., 2001. Toksisitas gliserol atau sukrosa pada sel khamir *Saccharomyces Cerevisiae* yang disimpan pada suhu rendah beku. *Berita Biologi*. 5(4): 387-394.
- Kim & al, e., 2014. Effect of Poloxamer 407 as a carrier vehicle on rotator cuff healing in a rat model. *Journal Orthop Surg Res*, 12(9): 1-9.
- Kumar, S., Gokhale, R. & Burgess, D., 2014. Sugars as Bulking Agents to Prevent Nano-crystal Aggregation During Spray or Freeze-drying. *International Journal of Pharmaceutics*, 471: 303-311.
- Kumar, K.P.S., Sk, T., Banu, S., Lakshmi, N. & Bhowmik, D. 2013. Microencapsulation technology. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(3): 324-328.
- Kushwaha, U., 2016. Black Rice: Research, History and Development. *Springer International Publishing*.
- Lee, M. K., Kim, M. Y., Kim, S. & Lee, J., 2009. Cryoprotectants for Freeze Drying of Drug Nano-Suspensions: Effect of Freezing Rate. *journal of Pharmaceutical Sciences*, 98(12): 4808-4817.
- Li, M., Rouaud, O., & Poncet, D. 2008. Microencapsulation by solvent evaporation: state of the art for process engineering approaches. *International journal of pharmaceutics*, 363(1-2): 26-39. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.07.018>.
- Madgulkar, A., Bandivekar, M., Shid, T. & Rano, S., 2015. Sugar as Solid Dispersion Carrier to Improve Solubility and Dissolution of the BCS Clas II drug: Clotrimazol. *Drug Dev Ind Pharm, Early Online*.
- Martin, A., Salima, V., Alexander, N. & Maria, J., 2010. Encapsulation and Co-Precipitation Processes with Supercritical Fluids: Applications with Essential Oils. *The Open Chemical Engineering Journal*, 4: 31-41.
- Nicola, F., 2015. Hubungan Antara Konduktivitas, Tds (Total Dissolved Solid) Dan Tss (Total Suspended Solid) Dengan Kadar Fe<sup>2+</sup> Dan Fe Total Pada Air Sumur Gali. *Skripsi*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember.
- Papillo, V. A., Locatelli, M., Travaglia, F., Bordiga, M., Garino, C., Arlorio, M., & Coisson, J. D. 2018. Spray-dried polyphenolic extract from Italian black rice (*Oryza sativa* L., var. Artemide) as new

- ingredient for bakery products. *Food chemistry*, 269: 603–609. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.059>.
- Prabowo, B. H., Nursaidah, Z. & Safitri, F., 2019. Pengaruh H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam Metode Koagulasi Pengolahan Air Payau Menggunakan Koagulan PAC dan Aluminium Sulfat. *Media Pengembangan Ilmu dan Aplikasi Teknik*, 18(02): 101-107.
- Rosaini, H. & Astuti, A. 2018. mikroenkapsulasi pirazinamida menggunakan manitol dengan metode emulsifikasi penguapan pelarut. *Jurnal Farmasi Higea*. 10(1): 57-67.
- Sonner, C., Maa, Y. F., & Lee, G. 2002. Spray-freeze-drying for protein powder preparation: particle characterization and a case study with trypsinogen stability. *Journal of pharmaceutical sciences*, 91(10):, 2122–2139. <https://doi.org/10.1002/jps.10204>.
- Sotyohadi, W., Dewa, I. & Somawirata, 2020. Perancangan Pengatur Kandungan TDS dan pH pada Larutan Nutrisi Hidroponik Menggunakan Metode Fuzzy Logic. *ALINIER Journal of Artificial Intelligence & Applications*, 1(1): 33-43.
- Strauss, G., Schurtenberger, P., & Hauser, H. 1986. The interaction of saccharides with lipid bilayer vesicles: stabilization during freeze-thawing and freeze-drying. *Biochimica et biophysica acta*, 858(1): 169–180. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(86\)90303-2](https://doi.org/10.1016/0005-2736(86)90303-2).
- Tang, Y., Cai, W., & Xu, B. 2016. From rice bag to table: Fate of phenolic chemical compositions and antioxidant activities in waxy and non-waxy black rice during home cooking. *Food chemistry*, 191: 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.001>.
- Tiyaboonchai, W., Tungpradit, W., & Plianbangchang, P. 2007. Formulation and characterization of curcuminoids loaded solid lipid nanoparticles. *International journal of pharmaceutics*, 337(1-2): 299–306. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.12.043>.
- Verma, S., Kumar, S., Gokhale, R. & Burgess, D., 2011. Physical Stability of Nanosuspension: Investigation of the Role Stabilizers on Ostwald Ripening. *International Journal of Pharmaceutics*, 406(1-2):145-152
- Weiss, J., Decker, E.A., McClements, D. J., Kristbergsson, K. 2008. Solid Lipid nanoparticles as delivery system for bioactive food components. *Food biophysics*, 3(2):. 146-154.
- Wu, Y., Yang, W., Wang, C., Hu, J., & Fu, S. 2005. Chitosan nanoparticles as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate. *International journal of pharmaceutics*, 295(1-2): 235–245. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.01.042>.
- Yulianti, S. 2006. Proses Koagulasi-Flokulasi pada Pengolahan Tersier Limbah Cair PT. Capsugel Indonesia. *Skripsi*. Faculty of Agricultural Technology, Institut Pertanian Bogor.
- Zhou, B., Feng, H., & Luo, Y. 2009. Ultrasound enhanced sanitizer efficacy in reduction of *Escherichia coli* O157:H7 population on spinach leaves. *Journal of food science*, 74(6): M308–M313. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01247.x>.