

**SYNTHESIS OF NANOPARTICLES OF CHITOSAN-*Pandanus tectorius*
FRUIT EXTRACTS AND THEIR EFFECTS IN REDUCING
CHOLESTEROL LEVELS VIA SR-B1**

EFRIYANA OKSAL

**MASTER OF SCIENCE
UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU**

2020

**SYNTHESIS OF NANOPARTICLES OF CHITOSAN-*Pandanus tectorius*
FRUIT EXTRACTS AND THEIR EFFECTS IN REDUCING
CHOLESTEROL LEVELS VIA SR-B1**

EFRIYANA OKSAL

**Thesis submitted in fulfillment of the requirement for the Degree of Master of
Science in the Institute of Marine Biotechnology**

Universiti Malaysia Terengganu

2020

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfillment of the requirement for the degree of Master of Science

SYNTHESIS OF NANOPARTICLES OF CHITOSAN-*Pandanus tectorius* FRUIT EXTRACTS AND THEIR EFFECTS IN REDUCING CHOLESTEROL LEVELS VIA SR-B1

EFRIYANA OKSAL

2020

Main Supervisor : Yosie Andriani, Ph.D

Co-Supervisor : Professor Mohd Effendy Abdul Wahid, Ph.D

Professor Tengku Sifzizul Tengku-Muhammad, Ph.D

Institute : Institute of Marine Biotechnology

Pandanus tectorius plant, having high an antioxidant activity, has been used as a traditional medicinal herb in the Asian country, especially in China and India. However, several researchers reported that its fruit is rich in semipolar compounds. These might be one of the causes *P. tectorius* fruits have less solubility and difficult to absorb in our body. Besides that, the weak absorption of the extracts may be caused by large particle sizes and degradation during the absorption process. Hence, nanoparticle modification on *P. tectorius* fruit extracts was needed to increase its absorption and bioactivity. The *P. tectorius* fruit extracts encapsulated in chitosan nanoparticles were successfully produced by using the ionic gelation method. Nanoparticles were characterized using particle size analyzer, FTIR, and SEM. Cytotoxicity property of nanoparticles was analyzed by MTT assay against the HepG2 cell line and screened for antihypercholesterolemia potency on HDL receptor

(SR-B1). Furthermore, nanoparticles with the highest activity in increasing the expression of SR-B1 were chosen for *in vivo* study to investigate the ability in reducing the TC and LDL levels, and increasing the HDL levels. Lastly, the toxicity study was observed on SGOT/SGPT values and rat livers histology. Results revealed that nanoparticles of chitosan-*P. tectorius* fruit extracts have a particle size of 160.4 nm, PDI value of 0.279, and spherical shape. In cytotoxicity assay, nanoparticles of chitosan-*P. tectorius* fruit extracts demonstrated an IC₅₀ value of more than 100 µg/mL which indicates that nanoparticles were noncytotoxic against the HepG2 cell line. *In vitro* study revealed that nanoparticles of chitosan-*P. tectorius* fruit extracts have higher activity in increasing SR-B1 gene expression than *P. tectorius* fruit extracts. *In vivo* study revealed that oral administration of nanoparticles of chitosan-*P. tectorius* fruit extracts (group D) in male *Sprague Dawley* rats can decrease TC levels, increase HDL levels and reduce LDL levels. The SGOT and SGPT activities were within normal levels. Their liver histology also proved no toxicity and abnormalities features. Therefore, nanoparticles of chitosan-*P. tectorius* fruit extracts can be categorized as non-toxic to the liver and will be safely used as an alternative treatment to reduce cholesterol levels and to prevent the build-up of plaque in arteries of individuals with atherosclerosis disease.

**Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu
sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Master Sains.**

**SINTESIS NANOPARTIKEL KITOSAN- EKSTRAK BUAH *Pandanus
tectorius* DAN KESAN PENGURANGAN PARAS KOLESTEROL MELALUI
SR-B1**

EFRIYANA OKSAL

2020

Nanopartikel Kitosan

Penyelia Utama : Yosie Andriani, Ph.D

Penyelia Bersama : Professor Mohd Effendy Abdul Wahid, Ph.D

Professor Tengku Sifzizul Tengku-Muhammad, Ph.D

Institut : Institut Bioteknologi Marin

Pokok *Pandanus tectorius*, yang mempunyai aktiviti antioksidan yang tinggi, telah digunakan sebagai ramuan perubatan traditional di negara Asia, terutamanya di China dan India. Walaupun bagaimanapun, beberapa kajian oleh penyelidik menunjukkan hasil bahawa penyerapan ekstrak buah *P. tectorius* adalah lemah untuk memberi kesan pada manusia. Penyerapan ekstrak yang lemah boleh disebabkan oleh saiz zarah yang besar, keterlarutan yang rendah, dan degradasi semasa proses penyerapan, oleh itu pengubahsuaian ekstrak *P. tectorius* diperlukan, untuk meningkatkan penyerapan dan bioaktivitinya. Ekstrak buah *P. tectorius* diringkaskan dalam nanopartikel kitosan berjaya dihasilkan dengan menggunakan kaedah *ionic gelation*. Nanopartikel yang dihasilkan dicirikan menggunakan penganalisis saiz partikel, FTIR, dan SEM. Sitotoksiti nanopartikel di analisis dengan ujian MTT terhadap sel-sel HepG2 dan diujikan sebagai antihiperkolesterolemia terhadap reseptor HDL (SR-B1). Seterusnya, nanopartikel yang memiliki aktiviti paling tinggi dalam meningkatkan SR-B1 telah dipilih untuk

diuji secara *in vivo* untuk menguji kemampuannya dalam menurunkan paras TC dan LDL, dan meningkatkan paras HDL. Akhir sekali, toksisiti diujikan pada nilai SGOT dan SGPT dan histology hati tikus. Hasil eksperiment ini telah menunjukkan bahawa nanopartikel kitosan-ekstrak buah *P. tectorius* mempunyai saiz zarah 160.4 nm, nilai PDI 0.279, dan berbentuk sfera. Dalam ujian sitotoksisiti, nanopartikel kitosan-ekstrak buah *P. tectorius* menunjukkan nilai IC₅₀ lebih daripada 100 µg/mL yang menunjukkan bahawa nanopartikel adalah tidak toksik terhadap sel-sel HepG2. Kajian *in vitro* mendedahkan bahawa nanopartikel kitosan-ekstrak buah *P. tectorius* mempunyai aktiviti yang lebih tinggi dalam meningkatkan ekspresi gen SR-B1 daripada ekstrak buah *P. tectorius*. Dalam kajian *in vivo*, pemberian makanan nanopartikel kitosan-ekstrak buah *P. tectorius* (kumpulan D) pada tikus *Sprague Dawley* jantan boleh mengurangkan paras TC, meningkatkan paras HDL dan mengurangkan paras LDL. Melalui pemerhatian, aktiviti SGOT dan SGPT kekal pada paras normal. Histologi hati juga membuktikan tiada ciri toksik dan kelainan. Maka, nanopartikel kitosan-ekstrak buah *P. tectorius* boleh dikategorikan tidak toksik kepada hati dan selamat, jika digunakan sebagai alternatif pencegahan kepada antihiperkolesterol dan mencegah pembinaan plak atherosklerosis.