

Preparasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dengan Variasi Konsentrasi Kitosan dan Tripolifosfat Sebagai Kandidat Antioksidan

*Preparation Nanoparticles of Ethanol Extract of Telang Flower (*Clitoria ternatea L.*) with Variation Concentration of Chitosan and Tripolyphosphate as Antioxidant Candidates*

Aprilia Ayu Dewayanti ⁽¹⁾, Disa Andriani ⁽²⁾, Nastiti Utami ⁽³⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Surakarta

Email Korespondensi: disa.andriani@stikesnas.ac.id

ABSTRAK

Bunga telang mempunyai aktivitas antioksidan salah satunya dikarenakan kandungan flavanoid didalamnya, namun flavanoid ini tidak stabil terhadap suhu dan intensitas cahaya. Upaya untuk mengatasi masalah tersebut salah satunya dengan merubah ukuran sediaan menjadi nanopartikel. Penelitian ini bertujuan mengetahui sediaan yang termasuk dalam rentang ukuran nano dan mempunyai aktivitas antioksidan didalamnya. Metode penelitian adalah eksperimental dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang sudah didapatkan dibuat menjadi sediaan nanopartikel. Sediaan nanopartikel dibuat dengan variasi konsentrasi kitosan yaitu F1 0,1%; F2 0,3%; dan F3 0,5%. Pengujian nanopartikel meliputi uji ukuran partikel menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA), kemudian dilanjutkan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil ekstraksi etanol bunga telang didapatkan rendemen sebesar 30,94%. Hasil uji ukuran partikel dari F1 $142,3 \pm 8,76$ nm, F2 $163,13 \pm 15,82$ nm dan F3 $724,97 \pm 51,58$ nm. Sementara untuk uji aktivitas antioksidan diperoleh nilai IC_{50} pada F1 $8,17 \pm 0,090$ ppm, F2 $7,56 \pm 0,180$ ppm, dan F3 $6,97 \pm 0,082$ ppm, dan. Kesimpulan penelitian ini adalah ukuran partikel untuk F1, F2, dan F3 memenuhi rentang ukuran nanopartikel. Sementara itu, hasil aktivitas antioksidan untuk semua formula memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori kuat, untuk formula yang paling kuat antioksidannya adalah F3.

Kata kunci: Nanopartikel, Bunga Telang, Antioksidan, Kitosan

ABSTRACT

Telang flower has antioxidant activity, one of which is due to the content of flavanoids in it, but these flavanoids are unstable to temperature and light intensity. One of the efforts to overcome this problem is to change the dosage size to nanoparticles. This study aims to determine which preparations are included in the nano size range and have antioxidant activity in them. The research method was experimental with maceration extraction method using 70% ethanol solvent. The extract that has been obtained is made into nanoparticle preparations. Nanoparticle preparations were made with various concentrations of chitosan, namely F1 0.1%; F2 0.3%; and F3 0.5%. Testing of nanoparticles included particle size testing using a Particle Size Analyzer (PSA), then continued testing for antioxidant activity using the DPPH method. The results of ethanol extraction of telang flowers obtained a yield of 30.94%. Particle size test results from F1 142.3 ± 8.76 nm, F2 163.13 ± 15.82 nm and F3 724.97 ± 51.58 nm. Meanwhile, for the antioxidant activity test, IC_{50} values were obtained for F1 8.17 ± 0.090 ppm, F2 7.56 ± 0.180 ppm, and F3 6.97 ± 0.082 ppm, and. The conclusion of this study is that the particle sizes for F1, F2, and F3 meet the size range of nanoparticles. Meanwhile, the results of antioxidant activity for all formulas had antioxidant activity in the strong category, for the formula with the strongest antioxidant activity was F3.

Keywords: *Nanoparticles, telang flower, Antioxidant, Chitosan.*

PENDAHULUAN

Aktivitas antioksidan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) adalah sangat kuat yaitu dengan nilai IC_{50} sebesar $41,36 \pm 1,191 \mu\text{g/mL}$ (Andriani & Murtisiwi, 2020). Aktivitas antioksidan disebabkan karena kandungan flavanoid didalamnya. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dengan menangkal radikal bebas yang ada pada tubuh melalui penghambatan peroksidasi lipid (Santos-Sanchez *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2017). Flavanoid memiliki beberapa batasan apabila diberikan secara oral, antara lain bioavailabilitas yang rendah, tidak stabil, sedikit diabsorpsi pada gastrointestinal dan usus (Bilia *et al.*, 2014). Solusi yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan pembuatan sediaan nanopartikel. Sediaan nanopartikel memiliki keuntungan diantaranya dapat meningkatkan sistem penghantaran zat aktif sehingga penyerapan menjadi lebih baik. Nanopartikel dibuat dengan tambahan polimer kitosan untuk melindungi dari suhu tinggi dan lingkungan. Keberadaan kitosan menyebabkan stabilitas flavonoid dapat meningkat karena sifat tahan panas pada kitosan (Saputra, 2016).

Metode sintesis nanopartikel salah satunya adalah metode gelasi ionik (Mardiyati *et al.*, 2012). Pembentukan nanopartikel melalui tahap pencampuran larutan kitosan (bermuatan +) dengan larutan polianionik (bermuatan -) seperti larutan natrium tripolifosfat (NaTPP). Kitosan dan NaTPP dipilih karena nanopartikel yang dihasilkan lebih stabil dan penembusan membran yang lebih baik (Mohammed *et al.*, 2017). Berdasarkan latar belakang yang sudah dipaparkan, akan dilakukan penelitian pembuatan sediaan dan uji aktivitas antioksidan Nanopartikel Ekstrak Etanol Bunga Telang (EEBT).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat :

Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu, UV mini-1240®), kuvet (HELMA®), Delsa™ Nano Submicron Particle Size (Malvern Instruments, UK®), FTIR (Agilent Technologies®), timbangan analitik, blender, rotary evaporator (Heidolph Tipe Heizbad Hal-VAP®), cawan porselin, vial, oven listrik (Modena®), mesh 40, tabung reaksi, pipet tetes, dan bejana maserasi, pipet ukur, magnetic stirrer, seperangkat alat gelas (Pyrex®),

Bahan :

Bunga Telang dari Jetis RT 04/03 Karanganyar, etanol teknis 70% (Medika), etanol p.a (Merck), kitosan ($C_6H_{11}NO_4$)_n dari kulit kepiting (Sigma-Aldrich), Natrium tripolifosfat (Sigma Aldrich), tween 80 (PT. Brataco), aquadest, asam asetat glasial (Merck), DPPH (Sigma-Aldrich), dan Vitamin C (Merck).

Pembuatan EEBT

Bunga telang dicuci dan ditiriskan, kemudian dikering anginkan. Setelah dikeringanginkan selanjutnya dilakukan pengeringan dengan oven suhu 50°C untuk mendapatkan simplisia. Simplisia yang diperoleh dihaluskan dengan blender kemudian dilakukan pengayakan menggunakan mesh 40.

Setelah diayak kemudian dimaserasi menggunakan etanol 70%. Jumlah simplisia yang dimaserasi sebesar 500 gram. Pelarut etanol 70% yang digunakan sebanyak 3,75 L dimaserasi selama 3 hari. Kemudian dilanjutkan diremaserasi menggunakan pelarut yang sama yaitu etanol 70% sebanyak 1,25 L. Filtrat yang telah didapatkan dari hasil maserasi dan remaserasi selanjutnya dihilangkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* suhu 50°C, kemudian dilanjutkan dengan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan nanopartikel EEBT

Pembuatan nanopartikel EEBT menggunakan variasi konsentrasi kitosan yaitu 0,1%, 0,3% dan 0,5%. Formula nanopartikel EEBT (Tabel 1).

Tabel 1. Formula Nanopartikel EEBT

Bahan	Formula		
	1	2	3
Kitosan 0,1% (mL)	50	-	-
Kitosan 0,3% (mL)	-	50	-
Kitosan 0,5% (mL)	-	-	50
NaTPP 0,1% (mL)	10	10	10
Tween 80 (mL)	0,5	0,5	0,5
EEBT (mg)	10	10	10

Larutan kitosan dibuat dengan berbagai konsentrasi yaitu 0,1%, 0,3%, dan 0,5%. Konsentrasi kitosan 0,1% dibuat dengan menimbang sebanyak 0,05 gram. Konsentrasi kitosan 0,3% dibuat dengan menimbang 0,15 gram. Konsentrasi kitosan 0,5% dibuat dengan menimbang 0,25 gram. Kemudian masing-masing dilarutkan dengan asam asetat glasial 1% dalam labu ukur 50 mL. Larutan NaTPP 0,1% dibuat dengan menimbang 10 mg ke dalam 10 mL aquadest.

Larutan kitosan konsentrasi 0,1% ditambahkan tween 80 dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen. Hal yang sama dilakukan untuk kitosan konsentrasi 0,3% dan 0,5%. Kemudian ditambahkan 10 mg EEBT dan dimasukkan tetes demi tetes NaTPP 0,1% sambil diaduk hingga terbentuk koloid nanopartikel. Pengadukan dilakukan dengan kecepatan 1500 rpm menggunakan *magnetic stirrer*. Nanopartikel EEBT disimpan dalam suhu dingin.

Pengukuran Ukuran Nanopartikel EEBT dengan PSA

NanoEEBT 10 ml dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian dimasukkan ke dalam

instrumen dan dilakukan analisis dengan *Particle Size Analyzer* (PSA)

Uji aktivitas antioksidan nanopartikel EEBT

Pembuatan larutan stok nanopartikel EEBT

Pembuatan stok nanopartikel EEBT sebanyak 1000 ppm dengan cara memipet 1000 μ l nanopartikel EEBT, dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur 10 mL ad tanda batas.

Penentuan λ_{maks}

Penentuan λ_{maks} menggunakan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 2 mL ditambahkan 2 mL etanol p.a. kemudian diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap, selanjutnya absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 400-600 nm.

Penentuan *operating time* nanopartikel EEBT

Operating time pada nanopartikel EEBT diperoleh dengan mencampur 2 mL larutan nanopartikel EEBT dengan 2 mL DPPH 0,1 mM. Absorbansi diamati mulai menit ke-1 sampai ke-60.

Penentuan IC_{50} Nanopartikel EEBT

Larutan nanopartikel EEBT dibuat seri konsentrasi 30, 40, 50, 60, 70 ppm. Kemudian dari masing-masing konsentrasi diambil 2 mL dan ditambah DPPH sebanyak 2 mL. Selanjutnya, diinkubasi pada tempat gelap selama waktu OT dengan suhu 40°C dan pada λ_{maks} .

Analisis Data

Pengukuran ukuran Partikel

Sediaan termasuk dalam nanopartikel apabila hasil uji PSA menunjukkan nilai 1-1000 nm.

Uji Aktivitas Antioksidan

Persentase aktivitas antioksidan diperoleh menggunakan rumus persamaan berikut:

$$\text{Persentase Inhibisi} = \frac{(A \text{ blanko} - A \text{ sampel})}{(A \text{ blanko})} \times$$

100%

Setelah mendapatkan persentase inhibisi kemudian di regresi linier dengan

konsentrasi untuk mendapatkan persamaan regresi linier dengan konsentrasi larutan uji (x) dengan persentase inhibisi (y). Persamaan regresi linier yang diperoleh digunakan untuk menghitung Nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Ekstraksi Bunga Telang

Hasil ekstraksi bunga telang menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% terdapat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Ekstraksi Bunga Telang

Berat simplisia	Berat EEBT	Rendemen
500 gram	154,7 gram	30,94%

Nanopartikel EEBT

Hasil uji ukuran partikel menggunakan *Particel Size Analyzer* (PSA) terdapat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji PSA

Formula	Ukuran partikel (nm)			Rerata
	R1	R2	R3	
1	152,4	137,7	136,8	142,3±8,76
2	176,1	145,5	167,8	163,13±15,82
3	782,4	682,6	709,9	724,97±51,58

Uji Antioksidan Nanopartikel EEBT

Hasil uji aktivitas antioksidan nanopartikel EEBT terdapat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Antioksidan Nanopartikel EEBT

Formula	IC_{50} (ppm)	Rata-Rata	Kategori
F1	8,26	8,17±0,090	Sangat Kuat
	8,18		
	8,08		
F2	7,74	7,56±0,180	Sangat Kuat
	7,57		
	7,38		
F3	6,90	6,97±0,082	Sangat Kuat
	6,95		
	7,06		

Pembahasan

Metode yang digunakan untuk ekstraksi bunga telang adalah maserasi. Hasil ekstraksi berat EEBT adalah 154,7 gram dengan rendemen 30,94%. Etanol 70% digunakan sebagai pelarut dikarenakan mampu menyari senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan (Saifudin, 2014). Hasil penelitian sebelumnya oleh Suhendra *et al.*, (2019) menunjukkan etanol 70% menyari kandungan senyawa tertinggi terutama fenol dan flavanoid serta memiliki aktivitas penghambat radikal DPPH ekstrak, dibandingkan konsentrasi lainnya.

Pencampuran kitosan dan NaTPP membentuk ikatan crosslink melalui interaksi ionik antara kitosan yang mempunyai gugus amin bermuatan positif (NH_3^+) berinteraksi dengan tripolifosfat yang bermuatan negatif. Dengan penambahan NaTPP Nanopartikel menjadi lebih stabil karena meningkatkan ikatan silang dan biokompatibilitas antar partikel (Ningsih *et al.*, 2017). Tween 80 berfungsi menjaga kestabilan partikel dengan mencegah aglomerasi antar partikel. Surfaktan dalam pembuatan nanopartikel akan menyelimuti dan menstabilkan partikel kitosan di dalam larutan sehingga pembentukan nanopartikel menjadi lebih efektif (Avadi *et al.*, 2010).

Ukuran partikel menjadi salah satu karakteristik nanopartikel yang paling penting. Ukuran partikel ini diukur menggunakan PSA. Ukuran partikel dari nanopartikel ini akan berpengaruh langsung pada keunikan dari nanopartikel (Abdassah, 2017). Hasil uji ukuran partikel dengan PSA menunjukkan semua formula memiliki ukuran nanopartikel karena memenuhi rentang 1-1000 nm. Pada F1 diperoleh ukuran 142,3±8,76, F2 diperoleh ukuran 163,13±15,82, F3 diperoleh ukuran 724,97±51,58.

Berdasarkan hasil uji ukuran partikel menunjukkan ukuran partikel semakin besar menyebabkan semakin tingginya konsentrasi kitosan. Hal ini disebabkan kitosan berikatan

satu dengan lainnya secara tidak beraturan selanjutnya berikatan sambung silang dengan NaTPP membentuk partikel berukuran besar (Ayumi *et al.*, 2018). Konsentrasi pada natrium tripolifosfat harus lebih rendah daripada kitosan karena jika konsentrasi natrium tripolifosfat lebih tinggi akan menyebabkan aglomerasi molekul kitosan. (Rismana *et al.*, 2014).

Aktivitas antioksidan semua formula memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Hal ini terlihat dari nilai IC₅₀ yang kurang dari 50 ppm. Pada F1 nilai IC₅₀ sebesar 8,17±0,090; F2 nilai IC₅₀ sebesar 7,56±0,180; F3 nilai IC₅₀ sebesar 6,97±0,082. Ketiga formula memiliki potensi yang sangat kuat sebagai antioksidan tetapi F3 memiliki nilai IC₅₀ yang paling kecil. Hal ini dikarenakan konsentrasi kitosan yang paling banyak diantar kedua formula. Penelitian Hardani *et al.*, (2021) menyebutkan kitosan juga mempunyai aktivitas antioksidan. Mekanisme kitosan sebagai antioksidan adalah dengan bereaksinya ion hidrogen dari gugus ion ammonium (NH₃⁺) dengan gugus radikal OH⁺ dari proses oksidasi lipida pada kitosan sehingga senyawa antioksidan menjadi lebih stabil.

SIMPULAN

Ketiga formula nanopartikel EEBT termasuk rentang ukuran nanopartikel. Ukuran partikel dari nanopartikel EEBT didapatkan hasil F1 142,3±8,76 nm, F2 163,13±15,82 nm, F3 724,97±51,58 nm. Pada uji aktivitas antioksidan ketiga formula termasuk kategori sangat kuat dengan nilai IC₅₀ pada F1 8,17±0,090 ppm, F2 7,56±0,180 ppm, F3 6,97±0,082 ppm

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah mendanai dan semua pihak yang telah mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M. (2017). Nanopartikel dengan gelas ionik. *Jurnal Farmaka*, 15(1), 45–52.
- Andriani, D., & Murtisiwi, L. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH Antioxidant Activity Test of 70% Ethanol Extract of Telang Flower (*Clitoria ternatea* L) from Sleman Area with DPPH Method. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(1), 70–76. <http://journals.ums.ac.id/index.php/p-harmacon>
- Avadi, M. ., Sadeghi, A. M. ., & 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, 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.04.007>
- Ayumi, D., Sumaiyah, S., & Masfria, M. (2018). Pembuatan Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott) Menggunakan Metode Gelasi Ionik. *Talanta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*, 1(3), 029–033. <https://doi.org/10.32734/tm.v1i3.257>
- Bilia, A. R., Isacchi, B., Righeschi, C., Guccione, C., & Bergonzi, M. C. (2014). Flavonoids Loaded in Nanocarriers: An Opportunity to Increase Oral Bioavailability and Bioefficacy. *Food and Nutrition Sciences*, 05(13), 1212–1327. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.513132>
- Hardani, P. T., Perwito, D., & Mayzika, N. A. (2021). Review Artikel : Isolasi Kitin Dan Kitosan Dari Berbagai Sumber Bahan Alam. *Jurnal Sains Farmasi*, 469–475.

- Mardiyati, E., Muttaqien, S. ., & Setyawati, D. . (2012). Sintesis Nanopartikel Kitosan-TrypollyPhosphate Dengan Metode Gelasi Ionik: Pengaruh Konsentrasi Dan Rasio Volume Terhadap Karakteristik Partikel. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan Dan Teknologi Bahan 2012*.
- 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). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics9040053>
- Ningsih, N., Yasni, S., & Yuliani, S. (2017). Sintesis Nanopartikel Ekstrak Kulit Manggis Merah Dan Kajian Sifat Fungsional Produk Enkapsulasinya. *Jurnal Teknologi & Industri Pangan*, 28(1), 27–35.
- Rismana, E., Kusumaningrum, S., Bunga, O., Nizar, N., & Marhamah, M. (2014). Pengujian Aktivitas Antiacne Nanopartikel Kitosan – Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*). *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 24(1), 19–27. <https://doi.org/10.22435/mpk.v24i1.3483.19-27>
- Saifudin, A. (2014). *Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Depublish Publisher.
- Santos-Sanchez, F., Norma, & Coronado, R. S.-. (2019). Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. In *In Antioxidants*.
- Saputra, G. (2016). *Karakterisasi nanoenkapsulasi kitosan ekstrak etanol 70% daun sirih (Piper betle Linn) dengan metode gelas ionik*. betle Linn) dengan metode gelas ionik [Skripsi]. Pontianak:
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2019). Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(1), 27. <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i01.p04>
- Wang, L., Ma, R., Guo, Y., Sun, J., Liu, H., Zhu, R., Liu, C., Li, J., Li, L., Chen, B., Sun, L., Tang, J., Zhao, D., Mo, F., Niu, J., Jiang, G., Fu, M., Brömme, D., Zhang, D., & Gao, S. (2017). Antioxidant effect of fructus ligustri lucidi aqueous extract in ovariectomized rats is mediated through Nox4-ROS-NF-κB pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 8(MAY), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00266>