

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)

1. Sistematika tanaman kelor (*Moringa oleifera*)

Klasifikasi tanaman kelor sebagai berikut (Cronquist 1991) :

- Kingdom : Plantae
- Diviso : Magnoliophyta
- Class : Magnoliopsida
- Subclass : Dilleniidae
- Ordo : Capparales
- Family : Moringaceae
- Genus : Moringa
- Spesies : *Moringa oleifera* Lamk



Gambar 1. Biji kelor (Fahey, 2005).

2. Nama Lain

Kelor memiliki nama lain di Indonesia, antara lain Moringa (Jawa, Sunda, Bali, Lampung, Kilor (Lampung), Murong (Aceh), Munggai (Sumatera Barat), Kerol (buru), Marangghi (Madura), Moltong (Flores), Kelo (ternate, tidore), bengge (bima) dan hau fo (timor) (Immy, Aryanti dan Suropto, 2015) Kelor merupakan spesies family monogenerik yang paling banyak dibudidayakan yaitu

Moringaceae yang berasal dari sub-Himalaya India, Pakistan , Bangladesh dan Afghanistan (Fahey, 2005).

3. Morfologi Tanaman

Pohon kelor dapat tumbuh subur dari dataran rendah hingga 700m di atas permukaan laut. Pohon kelor sangat mudah tumbuh di tanah yang kering dan gersang, jika tumbuh maka tanah di sekitarnya dapat ditumbuhi oleh pohon-pohon kecil lainnya, sehingga pada akhirnya pertumbuhan tanaman lain akan cepat. Kelor merupakan tanaman perdu yang dapat mencapai ketinggian sekitar 711 m (Suriawiria, 2005).

Batangnya rapuh (rapuh), cabangnya jarang tetapi dengan akar yang kuat. Batangnya berwarna abu-abu. Bunga putih kuning, kelopak hijau. Bunga kelor mekar sepanjang tahun dengan aroma yang ada di mana-mana. Buah kelor berbentuk segitiga lonjong yang disebut klentang (Jawa). Buahnya juga berbentuk seperti kacang hijau panjang, keras dan panjang 120cm. Getah yang telah berubah warna menjadi coklat disebut blendok (Jawa) (Joomla, 2008).

4. Kandungan Kimia

Biji kelor mengandung beberapa senyawa seperti fenolat, flavonoid, saponin, terpenoid, proanthocyanidins dan lain-lain (Sharma *et al.*, 2012). Biji kelor merupakan antioksidan yang baik karena dapat mengurangi kanker dan kerusakan oksidatif yang berhubungan dengan penuaan (Singh *et al.*, 2009). Biji kelor juga mengandung vitamin E (0,01%) dan beta-karoten (0,014%) (Bhoomika *et al.*, 2007).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk pengobatan kecuali dinyatakan lain dalam bentuk mentah kering. Simplisia dibedakan simplisia tumbuhan, simplisia hewan dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, atau sekret tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah komponen seluler yang dikeluarkan secara spontan oleh tumbuhan, atau komponen seluler dengan cara tertentu dikeluarkan

dari selnya, atau senyawa tumbuhan lain yang dengan cara tertentu terpisah dari tumbuhan dan belum berupa senyawa kimia murni (DepKes RI, 2000).

2. Pengumpulan simplisia

Kualitas simplisia dipengaruhi oleh bahan baku dan proses pembuatannya. Berdasarkan bahan bakunya, simplisia dapat diperoleh dari tumbuhan liar atau budidaya. Langkah pertama dalam produksi simplisia adalah mengumpulkan bahan baku, mengumpulkan bahan baku sangat menentukan kualitas bahan baku. Faktor terpenting dalam langkah ini adalah masa panen. Masa panen yang tepat adalah ketika bagian tanaman yang digunakan mengandung senyawa aktif dalam jumlah besar (Gunawan & Mulyani 2004)

3. Pencucian dan pengeringan simplisia

Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat, terutama bahan-bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan - bahan yang tercemar pestisida. Pencucian bisa dilakukan dengan air yang berasal dari mata air, sumur, dan air ledeng (Gunawan & Mulyani, 2004).

Proses pengeringan simplisia dirancang untuk mengurangi kadar air, membuat bahan kurang rentan terhadap jamur dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzimatik yang menggambarkan kandungan zat aktif, dan memudahkan pengelolaan proses selanjutnya (Gunawan dan Mulyani, 2004). .). Pengeringan bertujuan untuk mendapatkan kristal tunggal yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Mengurangi kadar air dapat menghentikan reaksi enzim, yang dapat mencegahnya mengurangi kualitas atau menghancurkan monomer. Suhu pengeringan tergantung pada elemen dan metode pengeringan. Pengeringan dapat dilakukan pada suhu 30 sampai 90⁰ C (lebih disukai 60 oC). Jika simplisia mengandung bahan aktif yang labil terhadap panas atau tidak mudah menguap, maka simplisia harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, seperti 30-40⁰ C atau pengeringan vakum (Agoes, 2009).

Proses pengeringan ada 2 macam cara yaitu dengan cara alamiah dan dengan menggunakan alat. Adapun cara yang alamiah yaitu dengan menggunakan sinar matahari langsung maupun tidak langsung. Pengeringan dapat menggunakan alat oven dengan suhu maksimum 60 °C (Gunawan & Mulyani, 2004).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan kimia atau fisik dari padatan atau cairan dari suatu padatan, yaitu tanaman obat. Biasanya proses ini menggunakan pelarut untuk mengekstrak bahan tanaman. Proses ekstraksi yang biasa dikenal dengan ekstraksi padat-cair berlangsung dalam 2 proses, yaitu pelepasan bahan proses yang diekstraksi dari sel (tanaman) yang rusak, merusak dan melepaskan bahan yang diekstraksi dengan proses disipasi. (Sebelumnya, 2009).

2. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan cara ekstraksi tanaman obat dengan ukuran partikel tertentu dan menggunakan medium pengekstraksi tertentu (Agoes, 2009).

3. Soxhletasi

Metode ekstraksi soxhlet merupakan metode ekstraksi yang prinsipnya terdiri dari pemanasan dan perendaman sampel. Hal ini menyebabkan terganggunya dinding dan membran sel karena adanya perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder dalam sitoplasma akan terdegradasi menjadi pelarut organik. Larutan kemudian menguap ke atas dan melewati AC untuk mengembunkan uap air menjadi butiran-butiran yang akan menumpuk. Jika larutan melewati batas pipa samping Soxhlet, maka akan terjadi sirkulasi. Peredaran berulang inilah yang membuat ekstrak menjadi baik (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2006).

Ekstraksi soxhlet dengan pelarut cair merupakan salah satu metode terbaik yang digunakan untuk memisahkan senyawa bioaktif dari alam. Alat Soxhlet adalah sistem penyaringan berulang dengan pelarut yang sama menggunakan konversi uap-cair pelarut dengan pemanasan. Ekstraksi soxhlet adalah ekstraksi dengan pelarut baru, biasanya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Metode ini memiliki sejumlah keunggulan dibandingkan metode lain, seperti paparan berulang sampel terhadap pelarut murni, kemampuan untuk mengekstrak banyak sampel tanpa ketergantungan pada sejumlah besar pelarut (Maretniatin, 2008).

Kelemahan metode ini adalah dapat merusak zat terlarut atau komponen lain yang tidak tahan panas akibat pemanasan ekstrak yang terus menerus (Tiwari *et al.*, 2011).

Kelebihan metode ekstraksi bahan alam dengan cara sokletasi (Pavia, 1995) adalah sebagai berikut: 1. Pelarut organik dapat berulang kali menyerap senyawa organik dari bahan alam. 2. Penggunaan waktu lebih efisien. 3. Proses ekstraksi berlangsung terus menerus sesuai kebutuhan tanpa menambah volume pelarut. Hal ini sangat menguntungkan karena selain penghematan akan diperoleh ekstrak yang lebih pekat. Dengan kata lain, pelarut yang dibutuhkan lebih sedikit daripada metode maserasi atau perkolasi. Kekurangan metode ekstraksi soxhlet, yaitu: 1. Larutan dipanaskan terus menerus, sehingga tidak cocok untuk zat aktif yang tidak tahan panas. Hal ini dapat ditingkatkan dengan menambahkan peralatan yang dapat mengurangi tekanan udara.

4. Pelarut

Pemilihan pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut yang baik adalah murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap, dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat (Depkes RI 1986).

4.1 Etanol. Etanol merupakan pelarut yang tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan pelarut. Keuntungan lainnya etanol 70% dapat menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal dan bahan pengotornya hanya berskala kecil larut dalam cairan pengekstraksinya (Voight, 1994). Etanol dianggap sebagai penyaring cair karena lebih efisien, jamur, kapang, dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% atau lebih, tidak beracun, netral, daya serap baik, etanol larut dalam air dalam segala perbandingan, panas yang diperlakukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloid, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid, resin, dan klorofil. Lemak, tanin dan saponin hanya sedikit larut, sehingga zat yang mengganggu kelarutan terbatas. Kekurangan etanol adalah harganya yang mahal (Sa`adah & Nurhasnawati, 2015).

4.2 Air. Air adalah pelarut yang umum digunakan untuk mengekstraksi produk tanaman dengan aktivitas antimikroba, meskipun ekstrak tanaman dari pelarut organik telah terbukti memberikan aktivitas antimikroba yang lebih konsisten daripada ekstrak air. Flavonoid yang larut dalam air (terutama antosianin) tidak memiliki signifikansi antimikroba dan fenol yang larut dalam air sama pentingnya dengan senyawa antioksidan (Tiwari *et al.*, 2011). Air dianggap sebagai filter cair karena murah, mudah didapat, stabil, tidak beracun, tidak mudah menguap, dan mudah terbakar. Kerugian air adalah sari dapat ditumbuhi kapang (Sa`adah & Nurhasnawati 2015). Senyawa yang dapat larut dalam air adalah garam alkaloid, minyak atsiri, glikosida, gula, pati, protein, lilin, pektin lemak, saponin dan tanin (DepKes RI, 1986).

D. Nanosuspensi

1. Pengertian Nanosuspensi

Nanosuspensi merupakan sistem dispersi koloid yang mengandung 100% obat dengan ukuran 101.000 nm, tidak mengandung bahan pembawa kecuali sebagai penstabil surfaktan, polimer, atau kombinasi keduanya (Patel *et al.*, 2016). Nanosuspensi memiliki beberapa keunggulan yaitu meningkatkan kelarutan, laju disolusi dan bioavailabilitas obat (Malamatari *et al.*, 2018), sekaligus mengurangi dosis dan efek samping yang rendah (Alkassas *et al.*, 2017). Nanosuspensi dapat diproduksi dengan metode *bottom-up* dan *top-down* sesuai dengan prinsip produksi yang berbeda (Purkayastha *et al.*, 2019). Metode *bottom-up* adalah melarutkan obat dalam pelarut organik yang sesuai, dan kemudian menyimpannya dengan menambahkan non-pelarut dengan penambahan zat penstabil surfaktan atau polimer polimer (Shid *et al.*, 2013).

Nanosuspensi adalah dispersi koloid submikron dari partikel obat. Nanosuspensi obat didefinisikan sebagai partikel obat padat yang sangat halus, yang cocok untuk berbagai rute pemberian (seperti oral, topikal, parenteral, mata, dan Paru. Suspensi nano tidak hanya memecahkan masalah kelarutan yang buruk dan ketersediaan hayati tetapi juga mengubah farmakinetik obat yang meningkatkan keamanan dan kemanjuran (Harshil *et al.*, 2016).

Keunggulan suspensi nano dibandingkan dengan bentuk pemberian obat tradisional. Keunggulan tersebut dirangkum di bawah ini:

- 1) Metode produksi sederhana.
- 2) Meningkatkan ketersediaan hayati obat.
- 3) Memecahkan masalah kelarutan air yang buruk dan ketersediaan hayati obat yang buruk dari sistem klasifikasi biofarmasi (BCS) II dan IV. BCS mengklasifikasi obat ke salah satu dari 4 kelas: kelarutan tinggi, permeabilitas tinggi (kelas I); kelarutan rendah, permeabilitas tinggi (kelas II); kelarutan tinggi, permeabilitas rendah (kelas III); kelarutan rendah, permeabilitas rendah (kelas IV).
- 4) Dapat diterapkan pada sebagian besar obat yang sulit larut dalam media berair dan organik.
- 5) Kemungkinan untuk memasukkan suspensi nano dalam berbagai bentuk sediaan seperti tablet, pelet, dan kapsul mengikuti teknik pabrikan standar (Yadollahi *et al.*, 2015).

Nanosuspensi berbeda dengan nanopartikel. Nanopartikel biasanya pembawa koloid obat polimer, sedangkan nanopartikel lipid padat adalah pembawa obat lipid. Dalam teknologi nanosuspensi, obat tetap dalam keadaan kristal dan penurunan ukuran partikel menyebabkan peningkatan laju disolusi. Obat yang dikemas dalam sediaan suspensi nano berbentuk kristal atau amorf yang diterima secara farmasi (Harshil *et al.*, 2016).

2. Metode Pembuatan Nanosuspensi

2.1 Nanopresipitasi adalah metode yang melibatkan pengendapan polimer dari larutan anorganik dan difusi pelarut organik dalam fase cair tanpa surfaktan. Polimer (PLA) dilarutkan dalam pelarut polaritas sedang, kemudian dimasukkan ke dalam larutan yang mengandung zat penstabil sebagai surfaktan untuk mendapatkan suspensi koloid. Teknologi ini terbatas pada pelarut yang larut dalam air dan umumnya digunakan untuk nanopartikel polimer (Nagavarma *et al.*, 2012).

Metode ini didasarkan pada pengendapan polimer setelah mentransfer pelarut semipolar dan air dalam larutan lipofilik, sehingga dengan adanya tetesan kecil tanpa pengadukan, tegangan antarmuka antara dua fase berkurang dan luas permukaan meningkat (Ansari, *et al.*, 2012).

2.2 Ultrasonikasi. Metode sonikasi menggunakan gelombang ultrasonik yang diproyeksikan dalam media cair untuk membentuk gelembung kavitasi yang dapat menyebabkan partikel memiliki diameter berskala nano. Gelombang ultrasonik pada suatu larutan akan menyebabkan molekul dalam larutan bergetar di posisi sentral. Larutan terdistorsi dan dikompresi dengan energi cukup untuk menyebabkan gelombang regangan untuk memutuskan ikatan molekul antar larutan. Gas yang terlarut menumpuk dan menyebabkan efek kavitasi (Candani *et al.* 2019).

2.3 High pressure homogenization. Metode homogenisasi tekanan tinggi menggunakan tekanan berkisar 100-2000 bar untuk menghasilkan partikel submikrometer atau kisaran nanometer. Terdapat dua teknik dalam metode ini yaitu *dissocubes* (media air) dan *nanopure*. *Disocubes* menggunakan tekanan hingga 1500 bar ketika suspensi melewati lubang kecil. Hal ini meningkatkan tekanan dinamis, menurunkan tekanan statis, dan menurunkan titik didih air ke suhu kamar. Air yang mulai mendidih menciptakan gelembung gas, ketika suspensi melewati celah dan tekanan kembali ke tekanan atmosfer, gelembung gas pecah (kavitasi). Kombinasi kavitasi, *high shear*, dan tumbukan mikropartikel membentuk partikel berukuran nano (Gao *et al.* 2008). Proses *nanopure* dilakukan pada suhu rendah untuk mengkompensasi penurunan tekanan yang tidak memadai. Metode ini sering disebut sebagai *deep-freeze*, dilakukan pada suhu 0°C atau dibawah titik beku untuk mendapatkan hasil yang sebanding dengan *disocubes* (Keck dan Müller, 2006).

E. Karakteristik Sediaan Nanosuspensi

Parameter karakterisasi untuk nanosuspensi adalah ukuran partikel rata-rata dan lebar distribusi ukuran partikel yang menentukan sifat fisikokimia seperti kelarutan, kecepatan disolusi, stabilitas fisik, dan kinerja biologis. Perubahan ukuran partikel mengubah kelarutan jenuh dan kecepatan disolusi. Semakin kecil ukuran partikel, semakin besar kelarutan dan disolusi (Jassim dan Rajab, 2018).

1. Ukuran Partikel

Distribusi ukuran partikel merupakan komponen yang penting dari suatu sistem nanopartikel karena dapat mempengaruhi sifat dari nanopartikel. Karakteristik ini dapat diukur menggunakan instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA). Distribusi partikel merupakan salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dalam karakteristik nanopartikel. Distribusi partikel yang baik menunjukkan kemampuan sediaan yang semakin baik dalam memuat dan melepaskan obat untuk mencapai efek terapi yang diharapkan (Kharia *et al.*, 2012).

2. Zeta Potensial

Zeta potensial menunjukkan muatan permukaan suatu partikel. Muatan partikel menyebabkan partikel mengalami kecenderungan agregasi maupun tolak menolak (Vaughn dan Williams, 2007). Nilai zeta potensial dari sediaan yang stabil adalah lebih dari ± 30 mV atau kurang dari 30 mV. Nilai zeta potensial yang baik menunjukkan kekuatan partikel untuk saling tolak menolak semakin kuat sehingga menghasilkan dispersi sediaan yang stabil. Sedangkan nilai zeta potensial yang tidak baik menunjukkan kekuatan partikel yang tolak menolak semakin lemah sehingga partikel mengalami kecenderungan agregasi dan menyebabkan dispersi sediaan yang kurang (Prasetyowati *et al.*, 2018).

3. PI

Indeks polidispersitas merupakan parameter yang menyatakan distribusi ukuran partikel suatu sistem nanopartikel (Nidhin *et al.*, 2008), dimana rentang 0,1-0,25 menunjukkan distribusi ukuran partikel yang sempit, dan nilai yang lebih besar dari 0,5 menunjukkan distribusi yang luas (Lu *et al.*, 2011). Nilai ini merupakan hasil perhitungan berat molekul rata-rata dibagi dengan jumlah rata-

rata berat molekul. Semakin mendekati nol maka distribusinya semakin baik (Haryono, Restu & Harmani, 2012).

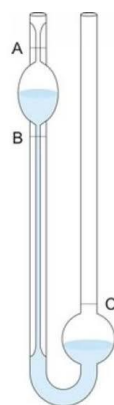
4. PH

Tujuan pengukuran pH adalah untuk mengontrol tingkat hidrasi dan sifat reologi produk pada berbagai tahap pembuatan (Delgado & Banon 2014). Nilai PH atau keasaman digunakan untuk menunjukkan keasaman atau kebasaan suatu zat, larutan atau benda. Nilai pH normal adalah 7, dan nilai pH dari 7 menunjukkan basa. Indikator asam basa dapat diukur dengan pH meter berdasarkan prinsip konduktivitas elektrolit atau larutan. Istilah pH didasarkan pada tanda matematika dari logaritma negatif, dan H adalah tanda kimia dari unsur hidrogen.

5. Viskositas

Ada beberapa jenis alat viskometer, namun tiga diantaranya jenis viskometer yang sering digunakan sebagai berikut:

Viskometer Ostwald berkerja dengan konsep kecepatan alir suatu fluida dalam suatu pipa tabung. Semakin kecil kecepatan alir larutan, maka semakin besar nilai viskositas (Engel dan Reid, 2006). Salah satu viskometer yang berkerja berdasarkan hukum Poiseuille adalah viskometer Ostwald. Kegunaan Viskometer Ostwald mengukur waktu yang di butuhkan oleh sejumlah fluida tertentu untuk mengalir melalui pipa kapiler dengan gaya yang disebabkan oleh berat larutan itu sendiri. Larutan dengan volume tertentu diukur kecepatan alirnya dari tanda (A) ke tanda (B).



Gambar 2. Alat Viskometer Ostwald (Engel dan Reid, 2006)

6. Stabilitas Penyimpanan

Stabilitas nanosuspensi bergantung pada ukuran partikel tersuspensi. Penurunan ukuran partikel ke ukuran nano meningkatkan energi permukaan partikel dan kecenderungan partikel untuk menggumpal. Nanosuspensi dapat disimpan pada kondisi stress yang berbeda seperti suhu yang berbeda (15, 25, 35, 45 ° C), siklus termal, dan getaran mekanis serta perubahan ukuran partikel rata-rata. Kondisi ini dapat diamati selama tiga bulan. Konsentrasi surfaktan molekul kecil yang berbeda (seperti natrium lauril sulfat (SLS) dan dowfax 2A1 (DF)) dan penstabil polimer seperti *Hydroxypropyl methylcellulose* (HPMC) dapat dievaluasi untuk menentukan efek jenis penstabil dan obat terlarut misel pada pematangan Ostwald (Yadav dan Singh, 2012).

F. Pengujian Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa dengan struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas secara gratis tanpa terganggu fungsinya, serta dapat menghancurkan reaksi adaptif radikal bebas (Kumalaningsih, 2006). Antioksidan dapat dijelaskan sebagai zat penting yang dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan mengurangi serangan radikal bebas. Asupan antioksidan yang cukup dapat membantu mengurangi risiko penyakit degeneratif, seperti penyakit kardiovaskular, kanker, aterosklerosis, dan osteoporosis. Mengonsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imun dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Orang-orang dari segala usia membutuhkan antioksidan dalam jumlah yang cukup (Winarsih, 2007).

1. Jenis-jenis antioksidan

Antioksidan meliputi tiga jenis yaitu, antioksidan yang dibuat oleh tubuh manusia dalam bentuk enzim, antioksidan alami yang diperoleh dari hewan dan tumbuhan, dan antioksidan sintetik yang terbuat dari bahan kimia. antioksidan dapat dibagi menjadi tiga kategori sesuai dengan fungsinya, yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier.

1.1 Antioksidan primer. Antioksidan primer disebut juga antioksidan endogen, merupakan antioksidan yang diproduksi secara alami dan terus menerus

oleh tubuh manusia. Antioksidan utama adalah sejenis antioksidan enzimatik, yang dapat memberikan atom hidrogen pada radikal bebas dan membuat radikal bebas ini lebih stabil. Mekanisme kerja antioksidan primer adalah mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang terbentuk sehingga menjadi lebih stabil dan kurang efektif dengan memutus rantai reaksi (Winarsi, 2007). Contoh antioksidan primer adalah superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathione peroksidase (GSH) (Prakash, 2001).

1.2 Antioksidan sekunder. Antioksidan ini menekan oksidase, tidak membentuk spesies radikal aktif, mereduksi oksigen, menghambat oksidase, sehingga menghilangkan proses inisiasi oksigen radikal atau nitrogen, atau reaksi radikal. Dapat bereaksi dengan komponen atau enzim yang menginisiasi. Contoh antioksidan ini adalah sulfit, vitamin C, beta-karoten, asam urat, bilirubin dan albumin.

1.3 Antioksidan tersier. Antioksidan tersier berperan memperbaiki kerusakan sel dan aringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Contoh enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfoksidan reduktasi yang dapat mencegah terjadinya penyakit kanker (Kumalaningsih, 2006).

Kemampuan antoksidan umumnya dapat diukur berdasarkan nilai IC_{50} . Nilai ini menggambarkan konsentrasi suatu senyawa yang mampu menghambat radikal bebas sebesar 50%. Apabila nilai IC_{50} semakin kecil, maka kemampuan antioksidan semakin besar.

Salah satu metode yang digunakan dalam menguji aktivitas antioksidan yaitu metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode pengujian ini merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan. Menurut Widyastuti (2010) metode DPPH mudah digunakan, cepat, cukup teliti dan baik digunakan dalam pelarut organik (Idza N. Sastrawan *etal.*, 2013).

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro* dengan metode DPPH. Metode DPPH memberikan informasi tentang reaktivitas senyawa uji dengan radikal stabil. DPPH memiliki daya serap kuat pada 517 nm dengan warna ungu tua. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi tidak

berpasangan, yang kemudian menyebabkan perubahan warna sebanding dengan jumlah elektron yang diambil.

Gugus kromofor dan gugus auksokrom pada radikal bebas DPPH memberikan absorbansi maksimum pada 517 nm sehingga menimbulkan warna ungu. Warna DPPH berubah dari ungu menjadi kuning ketika antioksidan ditambahkan, yaitu ketika elektron tunggal DPPH digabungkan dengan hidrogen antioksidan. Hasil dekolorasi dengan antioksidan sebanding dengan jumlah elektron yang ditangkap (Dehpour *et al.*, 2009).

Persen inhibisi adalah perbandingan selisih antara absorbansi blanko dan absorbansi sampel terhadap absorbansi blanko. Persen inhibisi digunakan untuk menentukan persen inhibisi suatu bahan terhadap senyawa radikal bebas. IC_{50} didefinisikan sebagai jumlah antioksidan yang dibutuhkan untuk mengurangi konsentrasi awal DPPH sebesar 50%. Untuk menentukan nilai IC_{50} , dilakukan kurva hubungan antara konsentrasi ekstrak dan persen penghambatan, yang akan menghasilkan persamaan regresi linier (Lung dan Destiani, 2017). Rumus persen inhibisi sebagai berikut :

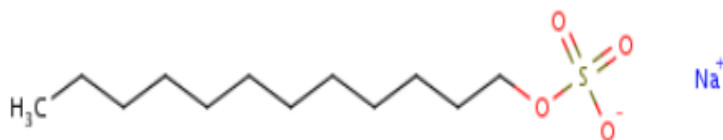
$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

Gambar 3. Rumus persen inhibisi

Pada metode ini parameter yang digunakan adalah nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} adalah konsentrasi ekstrak yang dapat menurunkan 50% intensitas serapan (Mulja dan Suharman 1995). Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Lung dan Destiani, 2017).

G. Studi Preformulasi

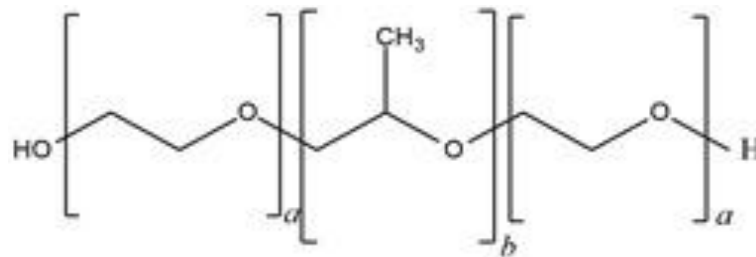
1. Sodium Lauryl Sulfate (SLS)



Gambar 4. Struktur Sodium Lauryl Sulfate (SLS) (Merck, 2015)

Sodium Lauryl Sulfate (SLS) adalah surfaktan pengemulsi yang utama digunakan sebagai bahan pembasah dan detergen yang umumnya dibuat dengan sulfasi lauril alkohol diikuti dengan netralisasi dengan natrium karbonat (Merck, 2015). SLS diklasifikasikan sebagai detergen alkil sulfat surfaktan anionik yang merupakan salah satu surfaktan paling banyak dipelajari dan digunakan (Tadros, 2000). SLS memiliki dua bagian, salah satunya yaitu rantai 12-karbon yang non-polar dan lipofilik (larut dalam lemak), dan secara struktural mirip dengan asam laurat. Bagian lain dari molekul ini ialah ion sulfat polar dan hidrofilik (larut dalam air) bermuatan negatif. Peningkatan ion natrium mempengaruhi peningkatan untuk masuk ke dalam lautan air dibandingkan dengan lauril sulfat. SLS mencapai keseimbangan lebih cepat meskipun keduanya memiliki kelarutan yang sama pada kesetimbangan. Kombinasi kelarutan air dan kelarutan lemak memungkinkan SLS mengubah tegangan permukaan dalam cairan berbasis air dan menyebarkan lemak dan minyak yang tersuspensi (Tadros, 2000).

2. Poloxamer 188



Gambar 5. Struktur Poloxamer 188 (Rowe *et al.*, 2009)

Poloxamer 188 berbentuk serbuk berwarna putih yang mempunyai berat molekul 7680-9510 g/mol, sangat mudah larut dalam air dan etanol 95%, titik leleh 52-57°C, berat jenis 1,09 g/cm³, dan nilai HLB 29 (Rowe *et al.*, 2009). Rentang pemakaian maksimum poloxamer adalah 0,8-2,0% (American College of Toxicology, 2008).

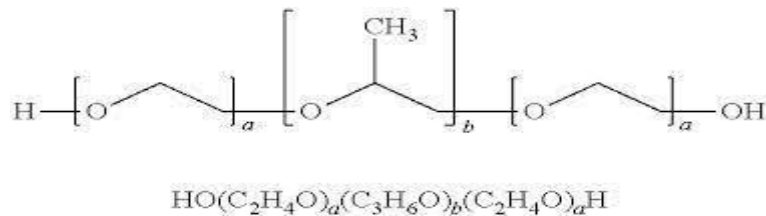
Poloxamer 188 sebagai stabilizer dapat mencegah pembentukan aglomerat dan meningkatkan pelarutan partikel. Poloxamer dapat menghasilkan diameter partikel yang lebih kecil dibandingkan kosurfaktan lainnya, hal ini mungkin disebabkan nilai HLB-nya yang besar yaitu 29, sehingga bekerja lebih efisien

dalam fasa air. Droplet yang dikelilingi oleh poloxamer 188 menjadi lebih sulit untuk bergabung sehingga sistem menjadi lebih stabil. Tegangan permukaan Poloxamer 188 lebih rendah dibandingkan kosmoid lainnya, sehingga diameter partikel yang dihasilkan lebih kecil (Rosita *et al.* 2019).

3. Poloxamer 407

Poloxamer 407 adalah surfaktan non-ionik hidrofilik dari kelas kopolimer yang lebih umum yang dikenal sebagai poloxamers. Senyawa khusus ini juga dikenal dengan nama dagang BASF Pluronic F-127 atau dengan nama dagang Croda Synperonic PE/F 127.

Serbuk putih atau hamper putih, bubuk lilin, serihan sangat larut dalam alcohol, praktis tidak larut dalam minyak. Poloxamer 407 memiliki rumus kimia $\text{HO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_{101}(\text{C}_3\text{H}_4\text{O})_{101}\text{H}$, memiliki bobot molekul 12.154 g/mol, titik didih 53°C - 57°C (The United State Phamacopeial Convention 31 th Ed.,2008)



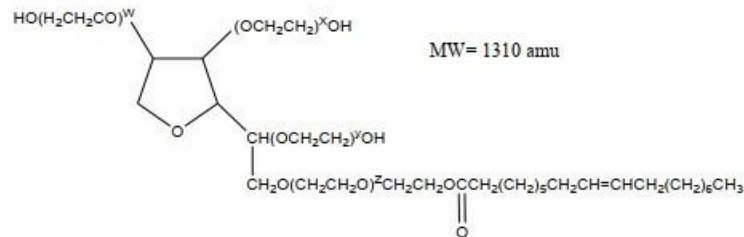
Gambar 6. Struktur Poloxamer 407 (Wagh *et.al.*, 2012)

Poloxamer 407 dilaporkan mampu berperan sebagai matriks ada disersi adat. Poloxamer 407 membentuk misel monomolecular. Kenaikan konsentrasi menyebabkan misel bergabung menjadi agregat dengan ukuran yang bervariasi, sehingga dapat meningkatkan kelarutan dalam air dan laju disolusinya akan semakin cepat (Wagh *et.al.*, 2012).

Poloxamer 407 adalah kopolimer *triblok* dengan rantai pusat polioksipropilena yang bersifat hidrofilik. Poloxamer 407 telah menjadi salah satu bahan yang paling luas diteliti terkait reson tahan terhadap suhu. Suhu fase transimi poloxamer 407 terutama tergantung pada konsentrasinya. Poloxamer 407 cocok untuk teknik peleburan pada dispersi padat karena memiliki titik lebur yang rendah (52 - 57°C), selain itu poloxamer 407 diketahui memiliki

toksistas rendah, mudah larut air, pelepasan obat yang baik, kompatibel dengan bahan kimia lain dan tidak menyebabkan iritasi (Chen *et al.*, 2013)

4. Tween 80



Gambar 7. Struktur Tween 80 (Rowe *et al.* 2009).

Tween 80 atau Polysorbate 80 adalah ester oleat sorbitol dan anhidridatnya yang berkopolimerisasi dengan sekitar 20 molekul etilen oksida untuk setiap molekul sorbitol dan sorbitol anhidrida. Tween 80 memiliki rumus kimia C₆₄H₁₂₄O₂₆. Tween 80 adalah cairan berminyak transparan berwarna kuning muda sampai coklat muda, dengan bau yang khas, rasa pahit dan panas. Tween 80 larut dalam air dan etanol, tidak larut dalam minyak mineral. Tween 80 adalah surfaktan non-ionik hidrofilik yang digunakan sebagai eksipien untuk menstabilkan suspensi dan emulsi. Tween 80 juga digunakan sebagai pelarut dan bahan pembasah dalam krim, salep dan lotion (Rowe *et al.* 2009).

H. Landasan Teori

Biji kelor merupakan bagian dari pohon kelor yang banyak mengandung minyak nabati dan memiliki banyak manfaat terutama untuk kesehatan. Biji kelor mengandung beberapa senyawa seperti fenolat, flavonoid, saponin, terpenoid, proanthocyanidins dan glikosida jantung (Sharma *et al.*, 2012 Menurut penelitian Kiswandono (2011), biji kelor berpotensi sebagai antioksidan yang menunjukkan adanya alkaloid, hidrokuinon fenol, flavonoid dan saponin. Biji kelor kaya akan karbohidrat, lemak dan protein. Kandungan karbohidrat total biji kelor adalah 11-15%, lemak 30-43% dan protein sekitar 29-38% (Compaore *et al.*, 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Tamilmani *et al* (2018) melaporkan bahwa ekstrak etanolik biji kelor menunjukkan aktivitas pembersihan DPPH hampir 50% pada konsentrasi 235 µg/ml ketika dibandingkan dengan standar Vitamin C.

Nanosuspensi dari obat yang tidak larut merupakan dispersi kolid berskala nano yang memiliki pemuatan obat yang sangat tinggi dibandingkan dengan teknologi nano lainnya. Nanosuspensi dengan menggunakan penstabil dan metode presipitasi antisolven dapat meningkatkan penyerapan oral dan efek terapeutik obat. Nano dengan diameter sekitar 110 nm dan pemuatan obat hingga 50% memiliki interaksi yang kuat antara penstabil dan partikel obat dalam bentuk nanosuspensi. Nanosuspensi juga memiliki bioavailabilitas oral yang lebih besar dibandingkan obat biasa (Ye *et al.*, 2017).

Aktivitas antioksidan nanosuspensi biji kelor diharapkan lebih baik dibandingkan ekstrak murninya. Hal ini dikarenakan pengurangan ukuran partikel ke skala nano akan meningkatkan luas permukaan spesifik dan kelarutan partikel, sehingga dihasilkan skala nano dari biji kelor dengan metode presipitasi. Metode ini memiliki kelebihan yaitu proses yang sederhana, membutuhkan energi minimal, produk yang dihasilkan stabil, peralatan yang dibutuhkan mudah didapat, serta mudah untuk *scale-up* (Patel dan Agrawal, 2011).

Dispersi ditingkatkan dengan mengurangi tegangan antar permukaan partikel digunakan surfaktan sebagai penstabil. Bahan penstabil harus mencakup seluruh partikel obat untuk menciptakan tolakan sterik antar partikel. Cakupan permukaan yang tidak memadai akan mempercepat terbentuknya agregasi partikel. Penstabil dengan konsentrasi tinggi akan menyebabkan peningkatan viskositas larutan yang dapat mencegah terjadinya difusi antara pelarut dan antisolvent dalam proses presipitasi (Dia *et al* 2010).

Surfaktan Sodium Lauryl Sulfate (SLS) terdiri dari surfaktan anionik dengan rumus molekul $\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$. SLS adalah surfaktan tak terbarukan yang berasal dari minyak bumi. (Marrakchi dan Maibach 2006). SLS merupakan bahan penstabil dengan mekanisme elektronik dengan menstabilkan muatan di permukaan partikel (Ghost *et al*, 2011). Poloxamer adalah kopolimer nonionik dari polioksietilena dan polipropilena dengan rumus struktur $\text{H}_2\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4)_a(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_b(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a\text{H}$. Poloxamer dapat digunakan sebagai pengemulsi, pelarut, bahan pembasah dan pengikat untuk tablet. Poloxamer juga digunakan dalam sistem pengiriman obat (DDS) (Rowe *et al.* 2009). Poloxamer

digunakan untuk pembentukan misel untuk meningkatkan kelarutan dan stabilitas obat (Kabanov *et al.* tahun 2002). Poloxamer bahan penstabil polimer yang mengandung gugus fungsi seperti karboksilat, hidroksil, amin, ester memberikan efek halangan sterik membentuk lapisan dipermukaan partikel yang teradsorpsi dengan kuat sehingga interaksi antar partikel diminimalkan (Gao *et al.*, 2011). Stabilizer Kombinasi elektronik - sterik akan memberikan efek perlindungan lebih optimal sehingga tidak terjadi agregasi dan aglomerasi partikel (George *et al.*, 2013)..

Reduksi ukuran partikel pada aktivitas antioksidan nanosuspensi biji kelor diharapkan lebih baik dari ekstraknya. Reduksi sampai skala nanometer akan meningkatkan luas permukaan spesifik dan kelarutan partikel. Distribusi dan konsentrasi komponen bioaktif akan semakin besar menjadi selaras dengan aktivitas antioksidan zat tersebut (Jahan *et al.* 2016). Pemilihan stabilizer didasarkan pada ukuran partikel terkecil dan indeks polidispersitas. Nilai indeks polidispersitas menunjukkan keseragaman atau kestabilan ukuran partikel. Semakin rendah nilai polidispersitas (mendekati 0), keseragaman ukuran droplet (Haque, 2015).

I. Hipotesis

1. Ekstrak biji *Moringa oleifera* dapat dikembangkan menjadi sediaan nanosuspensi metode presipitasi dengan beberapa jenis penstabil.
2. Nanosuspensi ekstrak biji *Moringa oleifera* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak murninya.
3. Nanosuspensi ekstrak biji *Moringa oleifera* dengan penstabil campuran memiliki stabilitas yang paling baik.