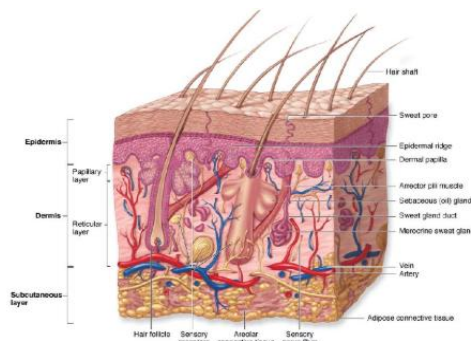


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kulit

Dengan berat hingga 15% dari total berat badan, kulit merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia (Akbar *et al.*, 2014). Dermis, epidermis, dan jaringan subkutan adalah tiga lapisan struktural kulit manusia pada umumnya. Epidermis adalah lapisan kulit terluar yang mengontrol suhu tubuh, bertindak sebagai garis pertahanan pertama tubuh terhadap agresor eksternal termasuk polusi serta sinar matahari, dan mencegah infeksi. *Stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lucidum*, dan *stratum korneum* membentuk lapisan dari dalam ke luar. Lapisan papiler dan lapisan retikuler adalah dua lapisan jaringan ikat yang membentuk lapisan dermis, yang batas-batasnya kurang jelas. Lapisan paling atas, yang dikenal sebagai lapisan papiler berbentuk lebih tipis terdiri dari epidermis kontak dan jaringan ikat longgar. Lapisan retikuler terdiri dari jaringan ikat padat/serat kolagen balok, lebih tebal, lebih dalam, dan lebih sedikit seluler. Lapisan terakhir yaitu hipodermis, juga dikenal sebagai subkutis, adalah lapisan kulit paling atas dan terdiri dari lemak serta beberapa konstituen kulit seperti pembuluh darah, sensorik, dan folikel rambut (Prakoeswa & Sari, 2022). Kulit memiliki sistem kompleks bahan kimia antioksidan dan enzim, termasuk jaringan antioksidan aktif redoks, adalah organ terluar yang terpapar langsung ke lingkungan prooksidatif (Hendarto *et al.*, 2022).



Gambar 1. Struktur kulit (Kalangi, 2014).

Pada jaringan, struktur antiparalel kolagen menyediakan daya *eject* atau daya jangkauan tanpa memerlukan kemampuan untuk muncul. Kolagen

merupakan komponen utama jaringan ikat, kolagen terdapat di banyak jaringan dan bagian tubuh yang berbeda yang perlu disatukan. Setiap jenis kolagen memiliki fungsi signifikan pada kulit. Kolagen primer terlibat dalam pembentukan serat pada dermis manusia adalah tipe I dan III. Selanjutnya, kolagen tipe IV, V, VI, dan VII terletak di dermis. Elemen utama yang memberikan kekuatan tarik pada kulit atau memperkuat dermis kulit adalah tipe I, yang membantu menjaga integritas kulit (Prakoeswa & Sari, 2022).

B. Antioksidan

Oksidan merupakan spesies kimia yang biasanya terlapisi sebagai radikal bebas seperti *hydroxyl* (HO*), *alkoxyl* (LO*), and *reactive oxygen species* (ROS) yang memiliki elektron tidak berpasangan. Senyawa tersebut memiliki sifat responsif yang sama dan menyerang partikel lain. Pada bunga, senyawa dengan aktivitas antioksidan didefinisikan sebagai polifenol, karotenoid, dan asam askorbat. Warna yang menarik dari bunga berpigmen menunjukkan adanya asam fenolik dan flavonoid (Prabawati *et al.*, 2021).

Penyebab utama diperlukan antioksidan untuk mencegah stres oksidatif. Radikal bebas dapat bersumber dari zat kimia, hasil dari proses metabolisme, polusi udara, cemaran makanan yang dikonsumsi, sinar ultra violet, dan sebagainya (Maulina *et al.*, 2023). Radikal bebas yang berada di dalam tubuh akan mengambil elektron mengakibatkan struktur DNA mengalami perubahan sehingga menimbulkan sel-sel mutan. Penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas bersifat kronis yang membutuhkan waktu lama untuk penyakit tersebut bersifat akumulatif (Kurniasih, 2019). Stres oksidatif memiliki peranan penting dalam patofisiologi berbagai macam penyakit degeneratif seperti kanker, kardiovaskular, diabetes mellitus, aterosklerosis dan proses penuaan dini (Maulina *et al.*, 2023).

C. Tanaman Nasturtium

1. Klasifikasi Tanaman

Nasturtium (*Tropaeolum majus* L.) adalah tanaman obat hias yang berasal dari Bolivia dan Kolombia, khususnya dari wilayah Andes. Tanaman nasturtium memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Plantae
Phylum	: Spermatophyta
Subphylum	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Order	: Tropaeolales
Family	: Tropaeolaceae
Genus	: Tropaeolum
Species	: <i>Tropaeolum majus</i>



Gambar 2. Bunga nasturtium (*Tropaeolum majus* L.)
Sumber : (Duenas-Lopez, 2022)

2. Morfologi Tanaman

Tumbuhan herba yang tumbuh secara tahunan atau abadi, berbentuk panjang, 15-100 (-250) cm (kadang-kadang tumbuh setinggi 2 m, dengan batang sukulen hingga panjang 10 m). Daun memiliki tangkai sepanjang 5-25 cm, berbentuk pisau dengan sembilan urat memancar dari tangkai daun, diameter 3-10 (-12) cm, permukaan abaksial biasanya papillosa. Tangkai tanaman berukuran 6-13 (-18) cm. Bunga berdiameter 2,5-6 cm, berbentuk agak melengkung dengan ukuran 2,5-3,5 cm. Kelopak bunga berwarna kuning, oranye, ungu, merah marun, putih krem, atau beraneka warna, bentuk bunga sebagian besar bulat, puncak

kadang-kadang runcing atau *emarginate*, tiga kelopak di bagian proksimal 2×2 cm, dua kelopak di distal biasanya utuh, $2,5-5 \times 1-1,8$ cm. Buahnya pipih memiliki diameter 1,5-2 cm. Biji berdiameter 5-8 mm (Duenas-Lopez, 2022).

3. Sifat Fisika Dan Kimia Fenolik

Kaempferol-O-hexoside-O-hexoside merupakan senyawa yang paling melimpah pada seluruh sampel bunga *Tropaeolum majus*. Bunga ini juga memiliki tiga puluh komponen minyak esensial, dua puluh tiga diantaranya telah diakui. Benzil isothiocyanate (34,04%), heptacosane (15,09%), benzil alkohol (13,01%), nonacosan (9,28%), pentacosane (5,02%) (Marchyshyn *et al.*, 2021).

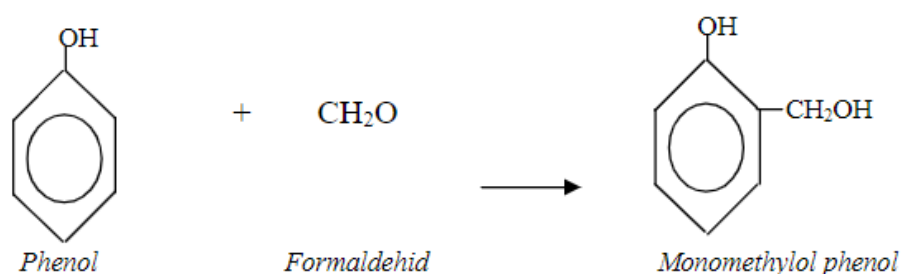
4. Kandungan Senyawa Nasturtium

Bahan kimia bioaktif utama dalam *edible flowers* adalah senyawa fenolik, yang memiliki peran dalam pertahanan dan reproduksi tanaman. Tanaman ini memiliki konsentrasi tinggi pada zat fitokimia seperti antosianin, polifenol, dan vitamin C (Izcara *et al.*, 2022). Antosianin adalah pigmen vakuola yang larut dalam air yang memberikan warna yang bervariasi pada matriks tanaman ini. Senyawa fenolik lain yang ditemukan termasuk asam hidroksi sinamat dan hidroksibenzoat, flavanol, flavonol, dan flavonoid lainnya (Bortolini *et al.*, 2022). Selain itu, tanaman ini adalah sumber elongase yang terlibat dalam sintesis asam lemak rantai sangat panjang (Tang *et al.*, 2023).

Kandungan fitokimia utama yaitu fenol, bahan kimia yang berasal dari tanaman yang ada di dalam vakuola sel (Tambun *et al.*, 2016). Fenolik adalah metabolit sekunder alami pada tanaman mono dan polisakarida, ditandai dengan cincin fenil yang mengandung satu atau lebih substituen hidroksil. Senyawa ini muncul secara biogenesis dari jalur shikimat/fenilpropanoid atau jalur asetat/malonat. Senyawa-senyawa ini memainkan berbagai peran fisiologis pada tanaman, termasuk fungsi struktural pada dinding sel dan peran non struktural dalam pertumbuhan dan kelangsungan hidup tanaman (Lattanzio, 2013). Flavonoid adalah kelas utama dari fenol, di samping lignin, melanin, dan tanin (Tambun *et al.*, 2016). Fenolik dapat mengkelat ion logam dan membersihkan radikal bebas, sehingga memainkan peran penting dalam melindungi tanaman dari

stres oksidatif. Mereka juga menunjukkan berbagai aktivitas biologis, seperti antimikroba, anti-inflamasi, dan anti kanker (Quideau *et al.*, 2011).

Molekul fenol memiliki berbagai fitur, termasuk mudah larut dalam air, cepat membentuk kompleks dengan protein, dan sangat sensitif terhadap enzim oksidasi. Fenol sederhana adalah padatan dengan titik leleh rendah. Senyawa ini memiliki titik didih yang tinggi karena ikatan hidrogen yang terbentuk di antara molekul-molekulnya. Fenol (C_6H_5OH) sedikit larut dalam air (9 g per 100 g air) karena berat molekul air yang rendah dan titik beku fenol yang tinggi, sehingga campuran fenol dan 5-6% air membentuk cairan pada suhu normal. Jika tidak ada gugus penyebab warna dalam struktur fenol, bahan kimia tersebut tidak akan berwarna (Tambun *et al.*, 2016). Sifat fisika senyawa fenol yaitu memiliki rumus kimia C_6H_5OH mempunyai titik lebur 43, titik didih 181 dan nilai pKa 10,0 (Wolayan *et al.*, 2022). Dalam penelitian sebelumnya, untuk mengetahui sifat kimia fenolik dengan cara senyawa fenol direaksikan dengan formaldehid untuk menghasilkan resin novolak dan monometilol fenol (Rokhati & Prasetyaningrum, 2008).



Gambar 3. Reaksi Methylosasi (Rokhati & Prasetyaningrum, 2008).

T.majus juga dikenal sebagai *Garden nasturtium* atau *Indian cress*. Berbagai zat bermanfaat telah banyak diidentifikasi, termasuk flavonoid (quercetin dan isoquercitrin), asam lemak (oleat dan linoleat), vitamin C, dan *benzyl isothiocyanate*. Lutein didistribusikan secara luas di daun dan bunga (Valsalam *et al.*, 2019). Nasturtium mempunyai senyawa bioaktif yang meningkatkan tekstur, rasa, dan penampilan dari bunga ini. Komponen bioaktif yang paling umum ditemukan pada bunga ini adalah asam fenolik, karotenoid, dan flavonoid. Warna bunga dikaitkan dengan karotenoid dan flavonoid yang menunjukkan tingginya kandungan antioksidan. Zat bioaktif dalam nasturtium

seperti polifenol. Menurut berbagai penelitian, bunga ini dapat memberikan manfaat bagi kesehatan yaitu sebagai antioksidan, hipoglikemik, anti-kanker, anti-diabetes, anti-obesitas, saraf, hepatoprotektif, dan sifat antibakteri (Rahardjo *et al.*, 2023). Pada penelitian lainnya yang mengevaluasi efek farmakologis dari bunga *T. majus* menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antitrombin (Garzón *et al.*, 2015).

D. Ekstraksi

1. Tinjauan Umum Ekstraksi

Senyawa metabolit sekunder dapat dipisahkan menggunakan cara ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses memisahkan kandungan kimia yang dapat larut dari komponen yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Ekstraksi menghasilkan ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kental yang dibuat dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai (Saputra *et al.*, 2020). Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik senyawa kimia dari sampel dan konsep ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat terlarut ke dalam pelarut (Riwanti *et al.*, 2020). Ada berbagai proses ekstraksi, termasuk maserasi, sonikasi, dan soxhlet. Penelitian skala kecil biasanya menggunakan prosedur ekstraksi tradisional seperti ekstraksi soxhlet dan maserasi (Das *et al.*, 2019).

1.1 Cara dingin

1.1.1 Maserasi. Penyarian zat aktif dilakukan melalui proses merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai pada suhu ruang dan terlindung dari cahaya. Cairan penyari berdifusi masuk ke dalam sel melalui membran sel. Isi sel larut karena gradien konsentrasi antara larutan ekstraseluler dan intraseluler. Larutan dengan konsentrasi tinggi akan mengalami difusi keluar sel dan digantikan oleh cairan penyari dengan konsentrasi yang lebih rendah. Proses ini berlangsung berulang hingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Rezeki & Endah, 2017).

1.1.2 Perkolasi. Perkolasi merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut yang digunakan secara bertahap hingga ekstraksi menjadi sempurna

(*exhaustive extraction*), umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Proses ini melibatkan tahapan awal persiapan bahan, maserasi untuk perendaman awal, dan tahap perkolasi yang sebenarnya (filtrasi dan pengumpulan ekstrak) secara berkelanjutan hingga diperoleh ekstrak perkolat yang berjumlah 1-5 kali berat bahan awal (Rezeki & Endah, 2017).

1.2 Cara panas

2.1.1 Refluks. Ekstraksi dengan pelarut dilakukan pada temperatur mendekati titik didihnya, selama periode waktu tertentu, dengan jumlah pelarut yang tetap konstan, dan menggunakan pendingin balik. Metode ekstraksi refluks digunakan khususnya untuk mengekstraksi komponen-komponen yang tahan terhadap pemanasan (Rezeki & Endah, 2017).

2.1.2 Soxhlet. Metode Soxhlet adalah teknik ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan dengan alat khusus yang memungkinkan ekstraksi berkelanjutan dengan jumlah pelarut yang tetap relatif konstan, didukung oleh sistem pendingin balik (Rezeki & Endah, 2017).

2.1.3 Digesti. Digesti merupakan proses maserasi kinetik dengan pengadukan kontinu yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggi daripada suhu kamar, khususnya pada rentang suhu 40-50°C (Rezeki & Endah, 2017).

1.3 Metode ekstraksi lainnya

1.3.1 Ekstraksi berkesinambungan. Proses ekstraksi dilakukan secara berulang menggunakan pelarut yang berbeda atau dengan cara resirkulasi cairan pelarut dan dilakukan secara berurutan beberapa kali. Metode ini bertujuan untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi dengan jenis pelarut yang sesuai, terutama cocok untuk pengolahan bahan dalam jumlah besar yang dibagi ke dalam beberapa bejana ekstraksi (Rezeki & Endah, 2017).

3.1.2 Ekstraksi Ultrasonikasi. Getaran ultrasonik dengan frekuensi lebih dari 20.000 Hz memiliki efek pada proses ekstraksi dengan cara meningkatkan permeabilitas dinding sel dan menimbulkan fenomena gelembung spontan (*cavitation*) sebagai respons terhadap stres dinamik (Rezeki & Endah, 2017).

2. Metode Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi sonikasi adalah proses ekstraksi yang menggunakan gelombang ultrasonik untuk meningkatkan durasi kontak sampel-pelarut. Sonikasi menggunakan energi gelombang untuk membuat kavitasi (Ashley *et al.*, 2001). Kavitasi adalah produksi, ekspansi, dan ledakan gelembung dalam cairan yang membutuhkan sejumlah besar energi, menghasilkan efek panas yang menyebar ke seluruh suspensi dan membantu penetrasi pelarut ke dinding sel tanaman. Fenomena ini dimanfaatkan untuk memecah partikel menjadi potongan-potongan yang lebih kecil (Risnasari *et al.*, 2013). *Ultrasonic assisted extraction* (UAE) memungkinkan ekstraksi yang efektif dari komponen bioaktif yang dipilih dengan memanfaatkan berbagai proses kavitasi. Pendekatan baru ini tidak hanya mempersingkat waktu ekstraksi tetapi juga meningkatkan kualitas dan hasil ekstrak. UAE memiliki keuntungan yang sangat besar dalam hal mengumpulkan komponen bioaktif dari tanaman. Ultrasonikasi dapat mencapai ekstraksi sempurna dan meningkatkan kemurnian produk akhir dalam hitungan menit dengan kemampuan reproduksi yang baik dan mengurangi kebutuhan akan pelarut organik serta prosesnya yang relatif singkat (Shen *et al.*, 2023).

Studi yang dilakukan oleh Sekarsari *et al.* (2019), menemukan bahwa ekstraksi daun jambu biji menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) pada suhu 45°C selama 20 menit menghasilkan yield tertinggi sebesar 16,26%. Ekstrak tersebut juga mengandung total fenol sebesar 331,77 mg GAE/g, total flavonoid sebesar 637,33 mg QE/g, total tanin sebesar 583,75 mg TAE/g, dan menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 3,55 mg/L. Penelitian yang dilakukan oleh Januarti *et al.* (2017), menunjukkan bahwa ekstraksi daun jati selama 30 menit menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dengan menggunakan pelarut ethanol 70% dan rasio bahan terhadap pelarut 1:5 menghasilkan kadar flavonoid yang tinggi serta aktivitas antioksidan yang signifikan.

E. Nanosuspensi

1. Tinjauan Umum Nanosuspensi

Nanosuspensi adalah dispersi partikel obat koloid padat yang sangat halus mempunyai sifat bifasik dalam medium air dan distabilkan dengan surfaktan. Partikel nanosuspensi untuk sediaan farmasi harus lebih kecil dari 1 μm , dengan ukuran rata-rata 200-600 nm (Goel *et al.*, 2019). Nanosuspensi dapat meningkatkan penyerapan dan ketersediaan hayati, sehingga berpotensi mengurangi dosis sediaan oral. Teknologi nanosuspensi berbeda dengan nanopartikel karena teknologi ini mempertahankan obat dalam bentuk kristal dengan partikel yang lebih kecil, yang mengarah pada peningkatan laju pelarutan dan peningkatan ketersediaan hayati. Senyawa ini dapat meningkatkan kelarutan obat dalam air dan lipid (Chinthajjala *et al.*, 2022).

Teknologi nano direkomendasikan untuk pengembangan obat herbal karena alasan-alasan seperti efek samping yang ada pada formulasi yang sudah ada, ketidakpatuhan pasien karena dosis besar yang dibutuhkan dalam formulasi yang sudah ada dan kurang efektif, serta ketiadaan spesifisitas target dalam formulasi yang ada untuk penyakit kronis yang berbeda-beda. Ada beberapa metode yang digunakan untuk membuat nanosuspensi yaitu :

1.1. Solid Lipid Nanopartikel (SLN). Solid lipid nanopartikel (SLN) memiliki ukuran partikel antara 50 hingga 1000 nm. SLN merupakan sistem partikulat yang terdiri dari biodegradasi fisik lipid dan stabilisator. Mereka terbuat dari lipid alami atau lipid sintesis seperti lesitin dan trigliserida yang tetap padat pada suhu kamar. Pengembangan teknologi SLN muncul sebagai respons terhadap keterbatasan dalam teknologi nanopartikel berbasis polimer. SLN menggunakan lipid sebagai pembawa alternatif, terutama untuk obat-obatan yang bersifat lipofilik. Karakteristik dari SLN mencakup ukuran partikel yang kecil, luas permukaan yang besar, kapasitas pemuatan obat yang tinggi, serta adanya interaksi antar fase di antarmuka partikel tersebut. Kelebihan dari metode ini adalah pengaturan pelepasan obat yang terkontrol, peningkatan stabilitas farmasi, berbasis air dalam teknologinya, proses sterilisasi yang mudah, biaya lebih terjangkau dibandingkan nanopartikel berbasis polimer, proses validasi yang

mudah, mampu mengemas obat yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik, kemudahan dalam sterilisasi (Berlian & Budiman, 2017).

1.2. Magnetik Nanopartikel (MN). Nanopartikel magnetik adalah teknologi yang dirancang untuk merespons pada pengaruh magnet eksternal. Biasanya terdiri dari unsur-unsur seperti besi, nikel, kobalt, serta oksida seperti magnetit (Fe_3O_4), kobalt ferit (Fe_2CoO_4), dan kromium dioksida (CrO_2). Klasifikasi nanopartikel magnetik (MN) didasarkan pada kerentanan, yaitu rasio induksi magnetik (M) terhadap luas magnet (H). Keunggulan MN meliputi peningkatan stabilitas kimia dan biokompatibilitas, serta pengurangan risiko agregasi partikel (Berlian & Budiman, 2017).

1.3. Metode *High Pressure Homogenization* (HPH). Dalam metode ini, lipid diproses dengan tekanan tinggi (100-2000 bar) menggunakan tegangan tinggi untuk menghasilkan partikel berukuran submikrometer atau nanometer. Metode ini sesuai untuk aplikasi skala besar pada obat-obatan yang dikonjugasi dengan lipid dan dalam emulsi parenteral, umumnya digunakan dalam pembuatan solid lipid nanopartikel. Dalam teknik homogenisasi, terdapat dua pendekatan: homogenisasi panas dan homogenisasi dingin. Pada homogenisasi panas, obat dimasukkan ke dalam lipid cair dan fase lipid-obat terdispersi dalam larutan panas yang mengandung surfaktan. Emulsi ini kemudian diaduk secara kontinyu untuk membentuk emulsi campuran. Proses selanjutnya melibatkan homogenisasi menggunakan supogenizer pada suhu di atas titik lebur lipid untuk membentuk emulsi campuran yang kemudian didinginkan pada suhu kamar hingga membentuk nanopartikel padat (Berlian & Budiman, 2017).

1.4. Ko-presipitasi. Metode ini merupakan variasi dari metode koaservasi kompleks, di mana nanopartikel berukuran 30-100 nm dihasilkan melalui reaksi antara garam Fe (II) dan ion nitrat. Fase dan ukuran partikel tergantung pada konsentrasi kation dan pH larutan. Metode ini umumnya digunakan untuk pembuatan nanopartikel magnetik. Kelebihan metode ini adalah meningkatkan dispersi obat-obatan yang sulit larut dalam air (Berlian & Budiman, 2017).

1.5. Metode nanopresipitasi atau sonopresipitasi. Nanopresipitasi adalah teknik di mana polimer dipresipitasi dari larutan anorganik dengan

menggunakan difusi pelarut organik pada fase cair, tanpa menggunakan surfaktan. Polimer (PLA) larut dalam pelarut dengan polaritas menengah, kemudian larutan tersebut dimasukkan ke dalam larutan yang mengandung *stabilizer* sebagai surfaktan, menghasilkan suspensi koloid. Teknik ini terbatas pada penggunaan pelarut yang larut dalam air dan umumnya digunakan dalam pembuatan nanopartikel polimer. Secara singkat, metode ini berdasarkan pada pengendapan polimer setelah pelarut semi-polar dipindahkan ke dalam air pada larutan yang bersifat lipofilik (Berlian & Budiman, 2017).

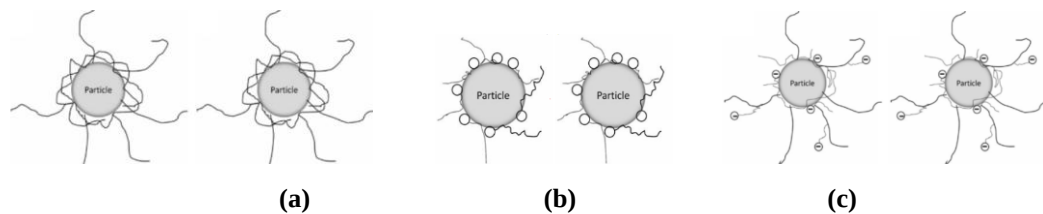
Nanosuspensi memiliki keunggulan dibandingkan dengan sediaan cair lain. Beberapa keunggulan tersebut yaitu obat-obatan dengan kelarutan air yang rendah dapat diberikan melalui berbagai rute seperti pemberian secara intramuskular dan subkutan untuk mengurangi iritasi jaringan, pemberian secara intravena memungkinkan pelarutan yang cepat dan penargetan jaringan yang tepat, pemberian obat nanosuspensi secara oral dapat meningkatkan ketersediaan hayati, mempercepat onset, dan menurunkan rasio *fed* atau *fasted*, ukuran partikel yang lebih kecil meningkatkan penyerapan obat, dosisnya lebih seragam dan ketersediaan hayati lebih tinggi bila diberikan melalui jalur okular dan inhalasi, obat-obatan dengan nilai log-P yang tinggi dapat dibuat menjadi nanosuspensi untuk meningkatkan ketersediaan hayati. Mudah disiapkan, hanya dengan sedikit perbedaan *batch-to-batch*, daya tahan dalam hal stabilitas fisik (Berlian & Budiman, 2017). Formulasi partikel berukuran nano dapat digunakan untuk semua senyawa obat dalam Sistem Klasifikasi Biofarmasi Kelas II dan IV untuk meningkatkan laju pelarutan dan akibatnya mempartisi ke dalam penghalang gastrointestinal (Chinthaginjala *et al.*, 2022). Pada penelitian ini menggunakan metode sonopresipitasi karena memiliki keunggulan yaitu menurunkan tegangan antarmuka antara dua fase dan peningkatan luas permukaan dengan terbentuknya tetesan kecil tanpa memerlukan pengadukan.

2. Bahan Penstabil

Sistem dispersi koloid yang dikenal sebagai nanosuspensi terdiri dari partikel obat yang berukuran kurang dari 1 mikrometer, yang distabilkan oleh surfaktan dan/atau polimer. Untuk mencegah penggumpalan kembali dari partikel-

partikel tersebut, surfaktan dan polimer bekerja dengan mekanisme penstabilan sterik, elektrostatik, atau elektrosterik (Hanayuki *et al.*, 2021).

Stabilisasi sterik adalah mekanisme penstabilan yang umumnya memengaruhi polimer dan surfaktan non-ionik. Proses ini terjadi ketika penstabil membentuk lapisan di permukaan partikel, menyediakan efek ketahanan ruang yang mencegah interaksi langsung antara partikel padat. Surfaktan anionik sebagai penstabil memberikan muatan negatif pada permukaan partikel obat, sehingga menghasilkan gaya tolak-menolak antar partikel. Fenomena ini menghasilkan stabilisasi elektrostatik pada sistem nanosuspensi. Mekanisme sterik dan elektrostatik dapat berfungsi secara bersamaan. Stabilisasi elektrosterik terjadi melalui interaksi antara polimer dan surfaktan, di mana polimer diadsorpsi pada permukaan partikel sementara surfaktan memberikan muatan pada permukaan tersebut, menghasilkan efek stabilisasi yang sinergis.



Gambar 4. Skema mekanisme stabilisasi sterik, (a) Non-ionik polimer (b) Non-ionik surfaktan (c) Elektrosterik (Hanayuki *et al.*, 2021)

2.1. Surfaktan. Surfaktan memiliki berbagai aplikasi, termasuk bahan perekat, agen koagulasi, pembersih, *foamers*, dan *emulsifiers*. Mereka umumnya digunakan dalam industri seperti industri makanan, farmasi, kosmetik, tekstil, polimer, cat, dan agrokimia (Oppusunggu *et al.*, 2015). Tujuan penggunaan surfaktan adalah untuk menurunkan tegangan permukaan antarmuka (IFT) cairan dengan polaritas yang berbeda kemudian akan meningkatkan efisiensi perpindahan, seperti minyak/air atau air/minyak (Tarigan *et al.*, 2018).

Penstabil jenis surfaktan beroperasi melalui mekanisme penghalang elektrostatik. Penstabil ini, yang memiliki gugus terionisasi dalam dispersi nanopartikel, teradsorpsi pada permukaan partikel. Sebagai respons terhadap muatan pada permukaan partikel, sejumlah ion dengan muatan berlawanan (*counter ions*) akan mengelilingi partikel, membentuk lapisan ganda elektrik

untuk menjaga keseimbangan muatan. Lapisan ganda elektrik ini menstabilkan partikel dengan mencegah penggumpalan nanopartikel (Shi, 2001). Polimer atau surfaktan bermuatan dapat berfungsi sebagai penstabil. Contoh penstabil yang dapat digunakan meliputi sodium lauril sulfat (SLS), *dioctyl sulfosuccinate* (DOSS), dan polisorbat (Tween® 80) (Ghosh *et al.*, 2011).

Surfaktan memiliki kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan karena struktur molekulnya bersifat amphifilik, yang terdiri dari gugus hidrofilik dan gugus lipofilik. Surfaktan diklasifikasikan berdasarkan muatannya dalam sistem berbagai fase yaitu: Surfaktan anionik adalah jenis surfaktan di mana bagian alkilnya terikat pada suatu ion anionik. Karakteristik hidrofiliknya disebabkan oleh keberadaan gugus anionik yang relatif besar, seperti gugus sulfat atau surfonat. Contoh-contoh surfaktan anionik meliputi garam alkana sulfonat, garam olefin sulfonat, dan garam sulfonat asam lemak dengan rantai panjang (Wulandari *et al.*, 2022).

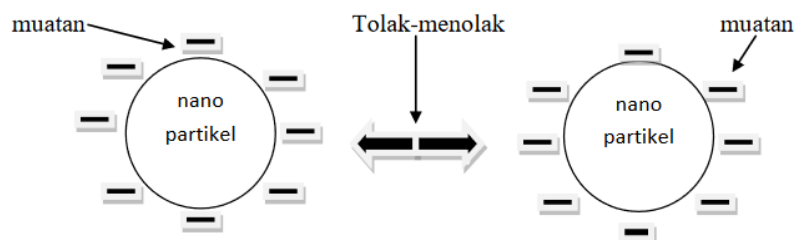
Surfaktan kationik adalah jenis surfaktan di mana bagian alkilnya terikat pada suatu kation. Surfaktan ini larut dalam air, di mana bagian kepala berperan sebagai penghasil sifat aktif pada permukaan. Contoh-contoh surfaktan kationik meliputi garam alkil trimetil ammonium, garam dialkil-dimetil ammonium, dan garam alkil dimetil benzil ammonium (Wulandari *et al.*, 2022).

Surfaktan anionik adalah hasil dari reaksi alkohol rantai panjang dengan asam sulfat, menghasilkan sulfat alkohol yang memiliki sifat aktif pada permukaan. Pada bagian aktif permukaannya, surfaktan anionik memiliki muatan negatif (Wulandari *et al.*, 2022).

Surfaktan nonionik adalah jenis surfaktan di mana bagian alkilnya tidak memiliki muatan. Contoh-contoh surfaktan nonionik meliputi ester gliserin dari asam lemak, ester sorbitan dari asam lemak, ester sukrosa dari asam lemak, polietilena alkil amina, glukamina, alkil poliglukosida, monoalkanol amina, dialkanol amina, dan alkil amina oksida (Wulandari *et al.*, 2022).

Surfaktan amfoter adalah jenis surfaktan di mana bagian alkilnya memiliki muatan positif dan negatif secara bersamaan. Contoh-contoh surfaktan amfoter

meliputi surfaktan yang mengandung asam amino, betain, dan fosfobetain (Wulandari *et al.*, 2022).



Gambar 5. Mekanisme kerja penstabil elektrostatik (Shi, 2001)

2.1.1. Pluronic F-68. *Pluronics*® adalah Poloxamers yang terbuat dari triblocks *polyethylene oxide* (PEO) dan *polypropylene oxide* (PPO). Stabilisator sterik ini banyak digunakan dalam sistem pengiriman obat berstruktur dan berukuran nano karena biaya rendah dan ketersediaannya komersialnya. Segmen PPO hidrofobik inti terhubung ke dua rantai samping PEO hidrofilik, membuat poloxamers ini amfifilik. *Pluronic F-68* adalah kopolimer triblok yang terdiri dari segmen inti (PPO) yang terhubung ke dua segmen (PEO). Segmen PPO dan PEO *Pluronic F-68* biasanya masing-masing berisi 25-30 unit dan 75-85 unit EO. Segmen hidrofobik dan hidrofilik. *Pluronic F-68* berkontribusi pada sifat non ionik, aktivitas permukaan, dan sifat polimernya. *Pluronic F-68* mengembangkan struktur misel dengan merakit sendiri dalam larutan berair pada suhu kamar (Khaliq *et al.*, 2023). *Pluronic F-68* memiliki berat molekul yang lebih rendah daripada *pluronics* lainnya, sehingga keterbatasan kinetik kurang selama adsorpsi dan difusi lebih cepat (El-Feky *et al.*, 2013).

2.1.2. Tween 80. Tween® 80 adalah senyawa kimia kecil yang menghasilkan lapisan adsorpsi tipis. Keberadaannya dapat mengubah pembentukan *nanosized* langsung dan berulang, *nanospheres* yang tersebar secara homogen menunjukkan kapasitas pemuatan obat yang tinggi (El-Feky *et al.*, 2013).

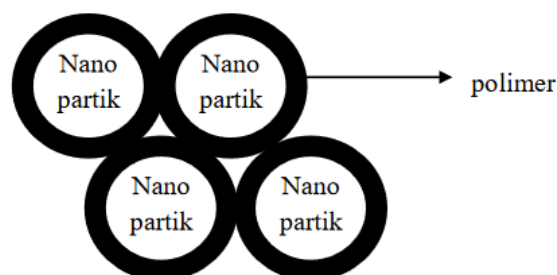
2.1.3. Sodium Lauril Sulfat. *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS) adalah jenis surfaktan anionik tertentu yang memiliki gugus hidrofobik di ekor dan anion sulfonat hidrofilik (NaSO_3^-) di kepala. Struktur ini meningkatkan hidrofilisitas dari sodium laurel sulfat. Zat ini dapat menurunkan tegangan antarmuka dua fase

cair. Sodium lauril sulfat merupakan sejenis bahan kimia tambahan yang dapat digunakan dalam berbagai sistem dispersi partikel, salah satunya adalah *water reducing admixture* (WRA) (Haryana *et al.*, 2023).

2.2. Polimer. Penggunaan polimer adalah untuk meningkatkan viskositas fluida tekanan dan permeabilitas batuan, sehingga meningkatkan *sweeping efficiency* (Oppusunggu *et al.*, 2015). Polimer bekerja dengan cara mencegah agregasi nanopartikel melalui stabilitas elektrostatis, sterik, atau elektrosterik (Priani *et al.*, 2023).

Polimer sebagai stabilisator bekerja melalui mekanisme hambatan sterik. Polimer yang mengandung gugus fungsi seperti karboksilat, hidroksil, amina, dan ester berperan sebagai penstabil dengan cara sterik. Mekanisme stabilisasi sterik ini mengurangi interaksi antar partikel dengan membentuk lapisan polimer yang melingkari permukaan partikel. Dibandingkan dengan stabilisasi melalui hambatan elektrostatis, stabilisasi sterik menawarkan beberapa keuntungan, antara lain: ketahanan yang lebih baik terhadap kehadiran elektrolit, efektif dalam berbagai media baik berair maupun tidak berair, mampu bekerja pada berbagai konsentrasi padatan, dan menyebabkan flokulasi yang dapat dipulihkan (Shi, 2001).

Penstabil yang diterima untuk digunakan meliputi poloxamer (*Pluronic F-68*), Polivinil alkohol (PVA), Polivinil pirolidon (PVP), dan Hidroksipropil metil selulosa (HPMC). Kecepatan adsorpsi penstabil berkurang seiring dengan meningkatnya berat molekul penstabil, sementara laju pelarutan menurun dengan bertambahnya kandungan polimer rantai panjang (Ghosh *et al.*, 2011).



Gambar 6. Mekanisme kerja penstabil (Shi, 2001)

2.2.1. Polyvinylpyrrolidone. Polyvinylpyrrolidone (PVP), juga disebut sebagai Povidone, adalah polimer sintesis yang diperoleh dengan polimerisasi

radikal monomer, *N-vinyl-pyrrolidone*. Polivinil pirolidon berwarna putih sampai putih krem, berbentuk serbuk, tidak berbau dan higroskopis. Mudah larut dalam asam, kloroform, etanol 96%, metanol dan *aquadest*. Praktis tidak larut dalam eter, hidrokarbon dan minyak mineral. Pada tahun 1939, ilmuwan Jerman Walter J. Reppe mematenkan proses ini dari penelitian kimia asetilenanya. Polivinil pirolidon bersifat tidak beracun, non-ionik, lembab, tahan suhu, stabil pH, biokompatibel, dan menunjukkan afinitas kompleks untuk obat hidrofilik dan hidrofobik. Polivinil pirolidon adalah polimer yang larut dalam air yang tersedia dalam berbagai kelas dengan berbagai berat molekul dan viskositas. Polivinil pirolidon digunakan sebagai solubilizer untuk meningkatkan kelarutan, laju disolusi, dan karenanya bioavailabilitas larut dengan buruk obat-obatan dalam formulasi yang berbeda (Kurakula & Rao, 2020). Polivinil pirolidon, atau polyvinylpyrrolidone, merupakan polimer hidrofilik yang efektif dalam menstabilkan nanosuspensi melalui proses adsorpsi pada permukaan partikel, menghasilkan efek penstabilan sterik. Selain itu, polivinil pirolidon juga berperan dalam memberikan efek penstabilan sterik tambahan (Hanayuki *et al.*, 2021).

2.2.2. Polyvinyl Alcohol (PVA). Polivinil alkohol atau PVA adalah polimer sintetik yang aman, larut dalam air, memiliki kemampuan pembentukan film yang baik, serta mampu meningkatkan stabilitas termal dan mekanik. Polivinil alkohol berwujud serbuk putih yang dapat larut dalam air namun tidak larut dalam pelarut organik, dengan stabilitasnya optimal pada rentang pH 5-8. Karakteristik polivinil alkohol seperti kemampuan larut dalam air, stabilitas mekanik dan fleksibel, kemudahan pembentukan film, serta sifat tidak beracun, menjadi alasan utama dalam penggunaannya di bidang medis (Pamela *et al.*, 2016).

Saat ini, polivinil alkohol telah dikembangkan untuk aplikasi dalam formulasi obat pelepasan terkontrol, khususnya dalam bentuk sediaan oral. Polivinil alkohol sering digunakan sebagai *stabilizer* atau agen pengatur (0,25-3,0% b/v), karena kemampuannya dalam menurunkan tegangan permukaan antara fase pelarut organik dan air, serta menghasilkan mikrosfer yang berbentuk sferis (Pamela *et al.*, 2016).

3. Metode Pembuatan Nanosuspensi

Nanosuspensi dapat dibuat dengan menggunakan dua metode: “*top-down*” dan “*bottom-up*”. Metode *bottom-up* melibatkan komponen kecil, seperti atom atau molekul, menjadi struktur yang lebih besar, lebih fungsional dan kompleks (Chinthajjala *et al.*, 2022). Teknik sonopresipitasi melibatkan beberapa parameter proses, seperti intensitas sonikasi, frekuensi sonikasi, kondisi suhu dan laju penambahan fasa pelarut menjadi fasa anti pelarut; dan beberapa parameter formulasi, seperti obat konsentrasi, jenis polimer, jenis surfaktan, konsentrasi polimer, dan konsentrasi surfaktan (Gajera *et al.*, 2019).

Metode *bottom-up* dilakukan dengan cara melarutkan zat aktif dalam pelarut organik yang sesuai, diikuti dengan penambahan surfaktan atau stabilisator polimer untuk mengendapkan campuran melalui penambahan non-pelarut (Dzakwan, 2020). Tantangannya terletak pada kebutuhan untuk mengontrol perkembangan kristal selama prosedur pengendapan dengan menambahkan surfaktan untuk mencegah pembentukan partikel mikro (Berlian & Budiman, 2017). Hidrosol (pengendapan), *sonoprecipitation*, *flash nanoprecipitation*, emulsifikasi-evaporasi, dan fluida superkritis adalah beberapa variasi teknik *bottom-up* yang telah dikembangkan. Tujuan dari metode *sonoprecipitation* adalah untuk mencapai derajat ukuran partikel yang lebih konsisten dalam kisaran ukuran 10-1000 nm dengan menggabungkan hidrosol (pengendapan) dengan ultrasonikasi. Teknik ini mempunyai kelebihan yaitu membutuhkan alat yang sederhana dan langkah pembuatan yang mudah (Dzakwan, 2020). Kelemahan dari metode ini yaitu pertumbuhan kristal dan stabilitas dalam jangka waktu panjang (Berlian & Budiman, 2017).

4. Karakterisasi Nanosuspensi

Mengevaluasi bahan nano terutama nanosuspensi, penting untuk memahami sifat dan kegunaannya yang unik. Strategi ini berguna untuk membandingkan formulasi secara efisien dan mengoptimalkan pengembangan produk. Hal yang perlu diperhatikan dalam karakterisasi nanosuspensi adalah ukuran partikel, morfologi permukaan, pengukuran zeta potensial, karakterisasi dalam keadaan kristal dan stabilitas penyimpanan (Goel *et al.*, 2019).

Hal pertama yang harus diperhatikan adalah ukuran partikel, metode ini adalah salah satu dari beberapa metode fisikokimia untuk menentukan stabilitas nanosuspensi. Ada berbagai pendekatan untuk menganalisis ukuran partikel. Metode yang paling sering digunakan untuk mengukur ukuran nanopartikel adalah hamburan cahaya dinamis, hamburan cahaya statis, dan mikroskop (Keck, 2010).

Hal kedua yaitu mengukur zeta potensial. Metode ini mengukur muatan permukaan dari nanosuspensi yang terdispersi nanopartikel. Zeta potensial menentukan bagaimana molekul berinteraksi dengan lingkungan biologis dan bahan kimia bioaktif. Dapat digunakan untuk memprediksi stabilitas nanopartikel terdispersi, baik koloid maupun tersimpan. Hal ini dapat mengungkapkan informasi tentang bahan yang tertutup atau terlapis pada permukaan partikel (Singare *et al.*, 2010). Potensial zeta lebih dari +30 mV atau kurang dari -30 mV mengindikasikan suspensi yang stabil (Xu *et al.*, 2014).

Hal ketiga yaitu polidispersi digunakan untuk melihat partikel yang terdistribusi pada nanosuspensi. Polidispersitas atau homogenitas yang baik dilihat dari ukuran partikel, digambarkan dengan masing-masing memunculkan satu puncak sempit dan tinggi. Indeks polidispersitas (PDI) digunakan untuk mengukur distribusi dan homogenitas ukuran nanopartikel. Nilai indeks polidispersitas yang baik adalah dalam rentang $<0,7$ (Nugroho *et al.*, 2020).

Hal keempat yaitu morfologi dengan menggunakan (*Transmission Electron Microscope*) TEM dan (*Scanning Electron Microscope*) SEM. Pengujian TEM berfungsi untuk menganalisis morfologi, struktur kristal, dan komposisi sampel. TEM menawarkan resolusi yang lebih unggul dibandingkan dengan SEM dan memungkinkan pemeriksaan fitur skala atom (dalam kisaran nanometer) dengan energi elektron berkisar antara 60 hingga 350 keV, sedangkan pengujian SEM berfungsi untuk menganalisis morfologi, ukuran partikel, struktur pori, dan bentuk partikel material (Julianto *et al.*, 2017).

Hal kelima yaitu mengukur pH, untuk mengukur digunakan alat pH meter untuk mengetahui keasaman atau basa suatu larutan. Macam alat pH meter yaitu type PH108, type HI98107, dan HI 5521/HI 5522 (Haryana *et al.*, 2023).

Hal keenam yaitu dari viskositas, metode ini menggunakan alat viskometer *Ostwald* untuk mengukur viskositas waktu alir larutan. Metode pipa kapiler viskometer membutuhkan sampel yang lebih sedikit daripada metode viskometer konvensional (Oktavia *et al.*, 2022). Keuntungan menggunakan viskometer *Ostwald* untuk pengujian viskositas nanosuspensi adalah dapat memonitor waktu alir sediaan cairan dan memberikan hasil viskositas yang lebih tepat.

Hal ketujuh yaitu stabilitas penyimpanan, mekanisme *Ostwald* menjelaskan ukuran partikel yang tidak seragam menyebabkan difusi zat terlarut dari partikel kecil ke partikel besar, yang menyebabkan agregasi (Dzakwan, 2020).

F. Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat berinteraksi dengan radikal bebas reaktif, kemudian menghasilkan radikal bebas yang tidak stabil dan tidak reaktif, sehingga menghambat proses oksidasi. Semua substansi yang diklasifikasikan sebagai antioksidan memiliki kapasitas untuk menunda atau menghentikan kerusakan molekuler akibat oksidasi. Secara kimia, antioksidan menyediakan elektron, tetapi dalam konteks biologis, konsep ini lebih luas, mencakup zat-zat seperti protein pengikat logam dan enzim yang mampu mengurangi dampak negatif dari oksidasi. Enzim yang dihasilkan oleh tubuh, seperti glutathione peroksidase, katalase, dan *superoksida dismutase* (SOD), disebut antioksidan endogen. Antioksidan eksogen berasal dari sumber di luar tubuh dan dibagi menjadi dua jenis: yang larut dalam air (seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme) dan yang larut dalam lemak (termasuk tokoferol, karotenoid, kuinon, dan bilirubin) (Astuti *et al.*, 2008). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa stres oksidatif yang dipicu oleh radikal bebas berkontribusi pada berbagai penyakit serius seperti kanker, penyakit jantung, dan kondisi degeneratif. Oleh karena itu, antioksidan dapat memiliki potensi sebagai terapi dalam pengobatan penyakit tertentu, sesuai dengan temuan-temuan ini (Handito *et al.*, 2022).

Antioksidan tersedia dalam dua bentuk, yaitu alami dan sintetis. Antioksidan sintetis seperti *tert-butylated hydroxyquinone* (TBHQ), *buthylated hydroxytoluene* (BHT), dan *buthylated hydroxyanisole* (BHA) efektif dalam menghambat oksidasi. Namun, keamanan antioksidan sintetis menjadi perhatian karena potensinya untuk menghasilkan senyawa beracun dalam tubuh dan memiliki sifat karsinogenik. Oleh karena itu, antioksidan alami yang terdapat dalam tanaman, seperti flavonoid, isoflavon, flavon, vitamin C, dan antosianin, dianggap lebih aman (Handito *et al.*, 2022).

Terdapat empat metode berbeda di mana antioksidan dapat menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas yang timbul dari oksidasi lemak: melalui pengeluaran hidrogen ke dalam radikal bebas, dengan mengeluarkan elektron ke dalam radikal bebas, dengan menambahkan molekul lemak ke dalam cincin aromatik antioksidan, atau dengan membentuk kompleks antara molekul lemak dan cincin aromatik pada antioksidan (Fang *et al.*, 2002).

G. Radikal Bebas

Atom yang memiliki energi tinggi dan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dikenal sebagai radikal bebas, yang bersifat sangat reaktif. Karena reaktivitasnya, radikal bebas dengan mudah membentuk ikatan dengan atom lain. Mereka menghantarkan elektron yang tidak berpasangan kepada molekul di sekitarnya untuk menurunkan energi mereka yang tinggi, karena sifat mereka yang tidak stabil dan reaktif. Sebagai contoh, ketika radikal bebas terbentuk dalam tubuh, mereka dapat merusak membran lipid, protein seluler, dan DNA, yang mengakibatkan kerusakan pada sel dan jaringan di sekitarnya (Smith *et al.*, 2005).

Radikal bebas adalah produk sampingan dari metabolisme aerobik dan berasal dari sumber seperti energi cahaya, rokok, lemak jenuh dalam makanan digoreng, alkohol, radiasi, serta stres fisik yang mengurangi sistem kekebalan tubuh melalui modifikasi protein oleh perubahan ekspresi gen. Sumber-sumber radikal bebas mencakup internal seperti fagosit, xantin oksidase, dan reaksi logam seperti besi, serta eksternal seperti rokok, polusi, radiasi, dan obat-obatan (Fang *et al.*, 2002).

Namun, radikal bebas memiliki dampak negatif yang berbahaya pada tubuh dalam lebih dari satu cara. Di sisi lain, mereka juga memiliki efek yang bermanfaat yang dapat dimanfaatkan oleh organisme. Tubuh membutuhkan keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas, yang menunjukkan pentingnya mempertahankan kadar radikal bebas yang tidak terlalu tinggi agar dapat menjalankan fungsi-fungsi yang penting. Radikal bebas dapat memberikan manfaat dengan memfasilitasi proses seperti fosforilasi oksidatif, apoptosis sel, dan mengatur kematian mikroba (Fang *et al.*, 2002).

H. Uji Aktivitas Antioksidan

1. Metode ABTS

ABTS atau 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) merupakan metode lain untuk mengukur aktivitas antioksidan. ABTS dapat dioksidasi menggunakan kalium persulfat. Sebelum digunakan, ABTS diinkubasi dalam kegelapan pada suhu ruang selama enam jam. Hasil akhir dari reaksi ini adalah pembentukan radikal ABTS yang berwarna hijau kebiruan. Selanjutnya, sampel yang akan diuji akan bereaksi dengan radikal ABTS ini. Enam menit kemudian, hasil reaksi dievaluasi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 743 nm (Pourmorad *et al.*, 2006).

2. Metode Deoksiribosa

Deoksiribosa yang terkena paparan oleh radikal hidroksil yang dihasilkan dari reagen Fenton akan mengakibatkan oksidasi deoksiribosa. Dalam proses pemanasan, dampak dari interaksi ini dapat diamati. TBA (*asam 2-thiobarbiturat*) digunakan sebagai senyawa yang dipanaskan dalam suasana asam. Kromogen dari TBA akan mengalami perubahan menjadi warna merah muda, dan kemudian pada panjang gelombang 532 nm, absorbansi dari hasil reaksi ini diukur (Pourmorad *et al.*, 2006).

3. Metode DPPH

Radikal bebas yang stabil yang digunakan dalam pengukuran aktivitas antioksidan adalah *2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*, disingkat sebagai DPPH, dengan massa molar relatif $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ($M = 394,33$). DPPH menyerap cahaya pada panjang gelombang 517 nm, sehingga absorbansi pada panjang gelombang ini dapat diamati. Kapasitas antioksidan untuk menghambat radikal bebas DPPH diukur dalam bagian per juta (ppm). Metode yang paling umum digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan DPPH. Ekstrak atau komponen lainnya dicampurkan dengan larutan DPPH, kemudian setelah inkubasi selama 30-40 menit, absorbansi larutan diukur (Pourmorad *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini menggunakan metode *in vitro* untuk melihat aktivitas antioksidan menggunakan metode uji DPPH. Prinsip uji DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) akan bereaksi berdasarkan ketika larutan DPPH bergabung dengan komponen antioksidan, senyawa antioksidan menyumbangkan atom hidrogen ke DPPH. Jika terjadi perubahan warna (dari ungu tua ke kuning/kuning pucat), yang diukur dengan menggunakan UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Pergeseran warna menunjukkan kemampuan sampel atau ekstrak untuk menyerap aktivitas radikal bebas DPPH. Metode DPPH menggunakan parameter IC_{50} , yang menunjukkan bahwa konsentrasi uji yang mampu menangkap radikal bebas adalah 50% dan ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi. Kemampuan antioksidan bahan uji berbanding terbalik dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik (Hasriyani *et al.*, 2023).

Tabel 1. Klasifikasi aktivitas antioksidan menurut Blois (Pratiwi & Pasca, 2023)

Nilai IC_{50}	Kategori Antioksidan
< 50 ppm	Sangat Kuat
50 – 100 ppm	Kuat
101 – 150 ppm	Sedang
151 – 200 ppm	Lemah
> 200 ppm	Sangat Lemah

Metode DPPH adalah cara yang efisien dan umum digunakan untuk menilai kandungan antioksidan dalam berbagai jenis makanan dengan berbagai pelarut seperti metanol dan etanol. Keunggulannya terletak pada kemampuan DPPH untuk bereaksi dengan berbagai sampel makanan, bahkan yang memiliki

aktivitas antioksidan yang rendah. Namun, kelemahannya adalah DPPH rentan terhadap degradasi, sehingga proses pengujian harus dilakukan dengan cepat dan teliti (Pourmorad *et al.*, 2006).

Senyawa DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan umumnya digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan dari berbagai bahan kimia atau ekstrak bahan alami dengan hasil akhir adalah molekul yang bersifat magnetis dan stabil. Ketika bereaksi dengan bahan kimia ini, molekul antioksidan menetralkan radikal bebas yang dihasilkan oleh DPPH (Pratiwi *et al.*, 2021).

I. Landasan Teori

Nanosuspensi dapat digunakan untuk meningkatkan kelarutan dari beberapa senyawa aktif yang larut dalam air atau permeabel yang buruk, meningkatkan laju disolusi dan ketersediaan hayati. Ada beberapa contoh sediaan bahan alam yang diproses sebagai nanosuspensi. Misalnya, Wang dkk. nanosuspensi kurkumin yang diformulasikan dengan beberapa penstabil seperti tokoferol polietilen glikol-1000 suksinat, Brij 78, dan Pluronic F-68 dalam bentuk sediaan nanosuspensi menunjukkan peningkatan laju disolusi dan ketersediaan hayati (Wang *et al.*, 2022). Dari penelitian yang sudah diteliti pada nanosuspensi kurkumin sebelumnya menghasilkan dispersi yang dapat menimbulkan tantangan untuk penyimpanan jangka panjang (Elbaz *et al.*, 2021).

Komponen bioaktif yang paling umum ditemukan pada bunga nasturtium adalah asam fenolik, karotenoid, dan flavonoid. Warna bunga dikaitkan dengan karotenoid dan flavonoid, yang menunjukkan tingginya kandungan antioksidan. Zat bioaktif dalam nasturtium seperti polifenol. Menurut berbagai penelitian, bunga ini dapat memberikan manfaat bagi kesehatan yaitu sebagai antioksidan, hipoglikemik, anti-kanker, anti-diabetes, anti-obesitas, saraf, hepatoprotektif, antibakteri, dan sebagai antikolagenase (Raharjo *et al.*, 2022).

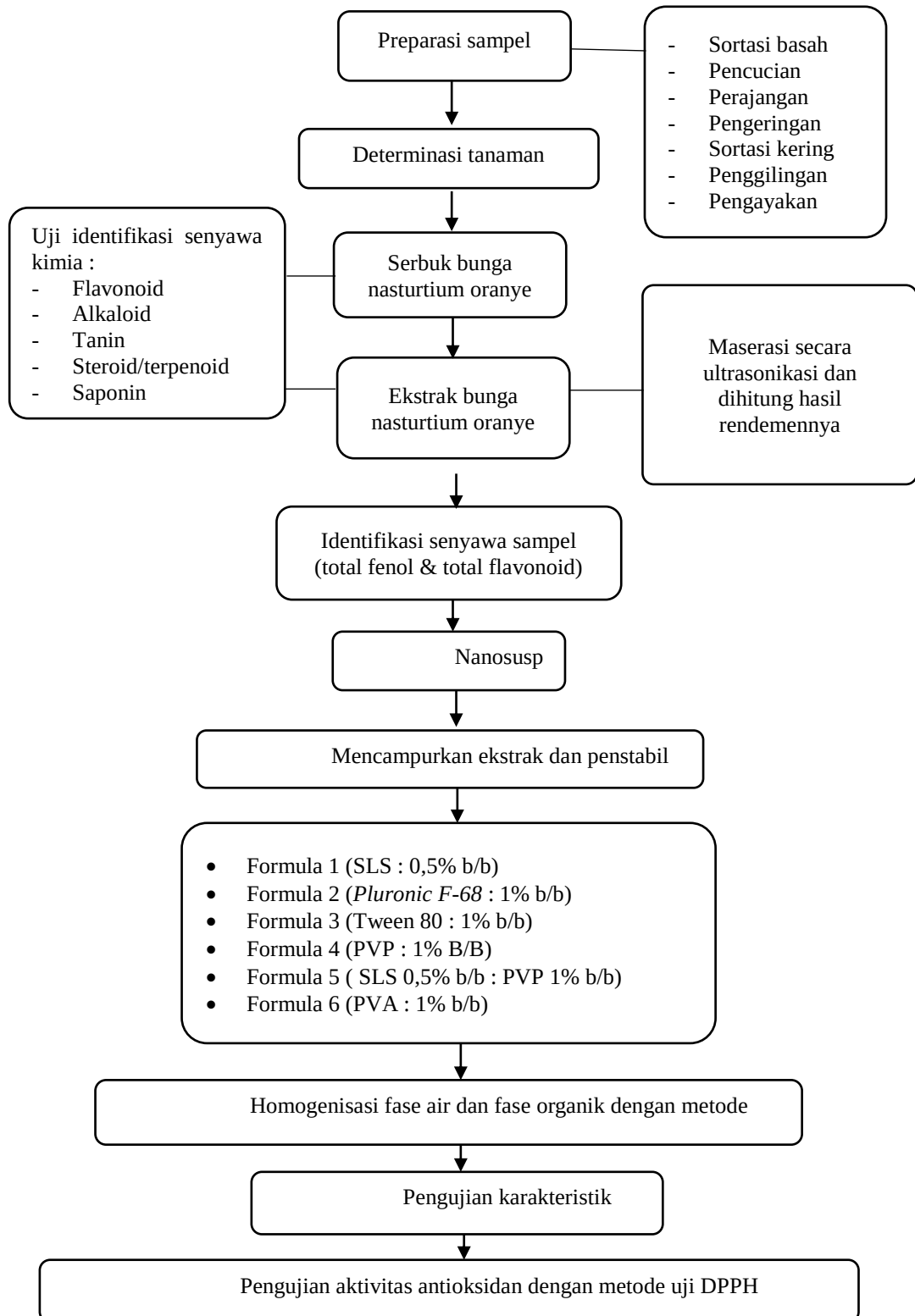
Surfaktan dan polimer berperan sebagai agen penstabil untuk mencegah agregasi partikel pada skala nanometer serta untuk mengurangi tegangan permukaan atau meningkatkan kelarutan. Surfaktan yang digunakan meliputi

Tween 80, Sodium lauril sulfat (SLS), dan *Pluronic F-68*. Sementara itu, polimer yang diterapkan adalah Polivinil alkohol (PVA) dan Polivinil pirolidon (PVP), yang masing-masing digunakan secara individual sebagai penstabil.

Stabilitas penyimpanan sangat penting untuk sediaan nanosuspensi karena berpengaruh akan peningkatan efek terapi farmakologi sehingga pemilihan *stabilizer* dan suhu memiliki peran penting dalam stabilitas masa penyimpanan (Dzakwan, 2020). Pemilihan *stabilizer* yang tepat berdampak pada stabilitas sediaan nanosuspensi. Obat-obatan yang bersifat hidrofobik atau lipofilik, seperti morin, dapat di-nanonisasi dengan meningkatkan luas permukaan partikel dengan mengurangi ukurannya hingga kisaran nanometer, yang akan meningkatkan difusivitas obat (Da Silva *et al.*, 2020). Kelarutan dan laju pelarutan partikel nano dalam cairan akan meningkat dengan luas permukaan yang besar (Fan *et al.*, 2018).

Menurut penelitian sebelumnya, *T. majus* terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik dengan kandungan fenolik dan asam askorbat yang tinggi dari bunga nasturtium menunjukkan bahwa dapat menjadi sumber pigmen dan antioksidan alami (Garzon, 2008). Untuk saat ini masih terbatasnya informasi dan pengetahuan tentang aktivitas biologis ekstrak bunga nasturtium oranye, terutama yang berkaitan dengan bagaimana zat ini mempengaruhi aktivitas antioksidan. Namun, temuan ini dapat membantu pengembangan ekstrak bunga sebagai komponen aktif dalam produk perawatan kulit yang melawan radikal bebas.

J. Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka konsep pembuatan nanosuspensi estrak bunga nasturtium

K. Hipotesis

1. Nanosuspensi ekstrak bunga nasturtium warna oranye memiliki aktivitas antioksidan.
2. Ekstrak bunga nasturtium oranye dapat diinovasikan dalam bentuk sediaan nanosuspensi menggunakan metode sonopresipitasi.
3. Formula dengan kandungan campuran SLS dengan *Pluronic F-68* memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik diantara semua formula.