

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Hasil Penelitian Sebelumnya**

Daun Manggis (*G. mangostana* L.) memiliki efek antioksidan alami. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Izzati *et al* (2012) menunjukkan bahwa Ekstrak perasan daun manggis IC<sub>50</sub> sebesar 19,3708 ppm, sebagai pembanding memiliki IC<sub>50</sub> sebesar 2,146 ppm. Daya antioksidan ekstrak perasan daun manggis lebih rendah 9 kali dari daya antioksidan vitamin E (Izzati *et al.*, 2012). Ekstrak etanol daun manggis dan kulit batang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai *Inhibitory concentration* (IC<sub>50</sub>) sebesar 674,947 ug/mL dan 565,759 ug/mL terhadap radikal bebas DPPH (Diniatik *et al.*, 2016). Dimana dari penelitian tersebut membuktikan bahwa potensi efek antioksidan pada daun manggis lebih tinggi dibandingkan pada kulit batang. Pada penelitian Rauhatun dan Iis (2013) yang berhasil membuat nanopartikel kitosan-TPP dengan ekstrak etanol pada daging buah mahkota dewa dengan metode gelasi ionik. Penelitian Saputra (2016) yang membuat nanoenkapsulasi ekstrak etanol 70% daun sirih dengan metode gelasi ionik mendapatkan hasil penelitian bahwa menggunakan formulasi yang digunakan didapatkan hasil dengan pembentukan ukuran partikel 257,8 nm dengan nilai zeta potensial sebesar 30,7 mV.

Berdasarkan dari penelitian tersebut bahwa daun manggis memiliki potensi efek antioksidan. Untuk pengembangan formula, peneliti akan memformulasikan ekstrak daun manggis kedalam formula nanopartikel dengan metode gelasi ionik.

#### **B. Landasan Teori**

##### **1. Tanaman Manggis (*Garciana mangostana* .L)**

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan tanaman tahunan yang masa hidupnya dapat mencapai puluhan tahun. Manggis yang eksotik yaitu manis, asam berpadu dengan sedikit sepat, sudah terkenal di beberapa negara dengan nama yang beragam, antara lain : *mangosteen* (Inggris), *mangoustainer* (Perancis), *manggistan* (Belanda), dan *mangostone*

(Jerman). Di Indonesia manggis disebut dengan berbagai macam nama lokal seperti manggu (Jawa Barat), Manggoita (Aceh), Manggusto (Sulawesi Utara), Manggista (Sumatera Barat). Manggis adalah tanaman buah berupa pohon yang berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara, yaitu hutan belantara Malaysia atau Indonesia (Gambar 2.1). Dari Asia Tenggara, tanaman ini menyebar ke daerah Amerika Tengah dan daerah tropis lainnya seperti Srilanka, Malagasi, Karibia, Hawaii dan Australia Utara. Berikut klasifikasi tanaman manggis (*G. mangostana* L.) adalah :

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliphyta
Classis	: Magnoliphyta
Subclassis	: Dilleniidae
Ordo	: Malphigiales / Theales
Famillia	: Clusiaceae
Genus	: Garcinia
Spesies	: <i>Garcinia mangostana</i> L.

(Steenis, 1947 dalam Dewi, 2011)



**Gambar 2.1. Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* .L)**

Sumber dari <https://www.beauty-heroines.com/topic/ingredient-intel-mangosteen-fruit/>

Tanaman ini tumbuh subur pada daerah yang mendapat banyak sinar matahari, kelembaban tinggi, serta musim kering yang pendek (untuk menstimulasi perbungaan). Pada kondisi kering, diperlukan irigasi untuk menjaga kelembapan tanah. Tanaman ini dapat ditanam hingga ketinggian 1000 m di atas permukaan laut (20-40°C) di daerah tropis, namun biasanya pertumbuhan maksimal berlangsung di daerah dataran rendah (Nugroho, 2009).

Manggis merupakan tanaman yang seluruh bagian tanamannya dapat dimanfaatkan, mulai dari daging buah, kulit buah, daun, batang dan akar. Buah manggis dapat disajikan dalam bentuk segar, sebagai buah kaleng, ataupun dibuat sari buah. Manggis juga dapat dijadikan sebagai obat anti kanker (Suksamrarn *et al.*, 2006).

Manggis termasuk tanaman tahunan yang masa hidupnya dapat mencapai puluhan tahun. Susunan tubuh tanaman manggis terdiri atas organ vegetatif dan generatif. Organ vegetatif tanaman manggis meliputi akar, batang, dan daun yang berfungsi sebagai alat pengambil, pengangkut, pengolah, pengedar, dan penyimpanan makanan.

Batang tanaman manggis berbentuk pohon berkayu, tumbuh tegak ke atas hingga mencapai 25 meter atau lebih. Kulit batangnya tidak rata dan berwarna kecoklat-coklatan. Percabangan tanaman umumnya simetris membentuk tajuk yang rimbun dan rindang. Daun manggis berbentuk bulat-telur sampai bulat-panjang, tumbuhnya tunggal dan bertangkai pendek sekali tanpa daun penumpu. Struktur helai daun tebal dengan permukaan sebelah atas berwarna hijau-mengkilap, sedangkan permukaan bawah warnanya kekuning- kuningan.

Kulit buah manggis yang mengandung senyawa xanthone memiliki fungsi antioksidan tinggi sehingga dapat menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang memicu munculnya penyakit degeneratif, seperti kanker, jantung, arthritis, katarak, hiperurisemia dan diabetes mellitus (Mardiana, 2012). Namun pada penelitian kali ini digunakan daun manggis karena selain bagian manggis yang memiliki

derivate xanthon, pada daun terdapat pula gugus xanthon yang memiliki aktivitas antioksidan. Alasan lain penggunaan daun manggis karena tanaman manggis merupakan tanaman tahunan yang berbuah sewaktu-waktu sedangkan daun selalu tumbuh sehingga peneliti dalam penelitian ini menggunakan daun manggis.

## 2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloida, flavonoida dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (BPOM, 2000).

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh matahari langsung (Kementrian Kesehatan RI, 1979).

Metode ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu :

### a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia yang paling sederhana, menggunakan pelarut yang cocok dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (kamar) (BPOM, 2000). Maserasi digunakan untuk menyari zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung stirik, benzoin dan lain-lain. Maserasi pada umumnya dilakukan dengan cara merendam 10 bagian serbuk simplisia dalam 75 bagian cairan penyari (pelarut) (Kementrian Kesehatan RI, 1986).

### b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prosesnya terdiri dari tahap pengembangan dan perkolasi sebenarnya

(penetasan/penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

c. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

d. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi yang berkelanjutan dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

e. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar) yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

f. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur pemanasan air (bejana infus tercelup dalam air penangas air mendidih), temperatur terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

g. Dekokta

Dekokta adalah infus pada waktu yang lebih lama dengan temperatur titik didih air.

h. Destilasi Uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial. Senyawa menguap akan terikat dengan fase uap air dari ketel secara kontinu dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan

menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian (BPOM, 2000).

Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari yang aman digunakan adalah air, etanol, etanol-air atau eter (Kementrian Kesehatan RI, 1986). Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria berikut :

- 1) Selektivitas
- 2) Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut
- 3) Ekonomis
- 4) Ramah lingkungan
- 5) Keamanan (BPOM, 2000).

Etanol merupakan golongan alkohol dengan jumlah atom karbon dua dan mempunyai nilai kepolaran 0,68 (Ashurst, 1995). Keuntungan penggunaan etanol sebagai pelarut adalah mempunyai titik didih yang rendah sehingga lebih mudah menguap, oleh karena itu, jumlah etanol yang tertinggal di dalam ekstrak sangat sedikit.

Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, mikrobia sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil, dengan demikian zat pengganggu yang terlarut sedikit (Kementrian Kesehatan RI, 1986).

Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lain dari etanol mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Etanol (70%) sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turun kedalam cairan pengestraksi (Kementrian Kesehatan RI, 1986).

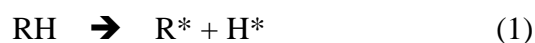
### 3. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang bertugas untuk menetralkan peningkatan radikal bebas, melindungi sel dari efek toksik yang dihasilkan serta berkontribusi dalam pencegahan penyakit (Pham-Huy *et al.*, 2008). Antioksidan dapat dibagi menjadi 2 jenis yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Macam-macam antioksidan endogen yaitu sistem enzim seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *glutathione peroxidase* (GPx), dan *glutathione reductase* (GRx). Sedangkan yang dimaksud antioksidan eksogen adalah antioksidan yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh dan dapat diperoleh melalui buah-buahan, sayur-sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian, dan beberapa daging unggas dan ikan. Makanan-makanan tersebut mengandung Vitamin E, Vitamin C, beta karoten, dan flavonoid (Pham-Huy *et al.*, 2008; Wahyuni *et al.*, 2004; Kurniawan *et al.*, 2010).

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari 3 tahap yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi (Wong, 1989). Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen (reaksi 1). Pada tahap propagasi radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi 2). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan menghasilkan radikal asam lemak baru (reaksi 3). Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang berasal dari pemecahan makanan berlemak. Tanpa adanya antioksidan reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antar radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal (reaksi 4) (Wong, 1989).

Tahapan reaksi:

Inisiasi :



Propagasi :



Terminasi :

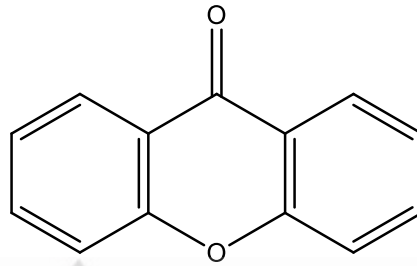


Keadaan ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan dikatakan sebagai keadaan stres oksidatif. Keadaan stres oksidatif dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain adalah kurangnya antioksidan atau kelebihan produksi radikal bebas. Kondisi stres oksidatif yang berakibat pada kerusakan sel, dapat menyebabkan terjadinya percepatan proses penuaan, dan dapat menimbulkan penyakit jantung, kanker, dan diabetes melitus (Wu dan Cederbaum, 2003).

*Xanthone* merupakan bagian dari flavonoid yaitu senyawa polifenol. Polifenol tersebar di alam, mekanisme antioksidan senyawa polifenol berdasarkan atas kemampuan mendonorkan atom hydrogen dan kemampuan melekat ion-ion logam, lalu senyawa fenolik menstabilkan radikal secara resonansi, yang tidak mudah berpartisipasi dalam reaksi radikal lain (Muchtadi, 2011).

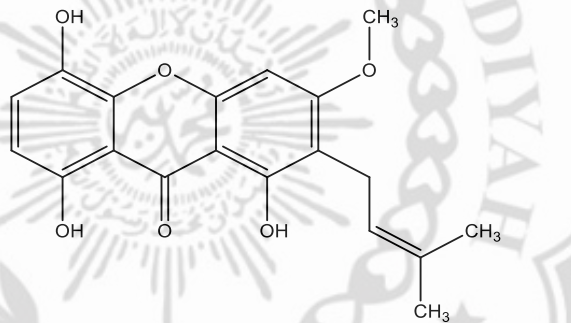
Manggis sangat bermanfaat untuk kesehatan tubuh karena diketahui mengandung *xanthone* sebagai antioksidan, antivirus, antijamur, antiinflamasi dan antibakteri. Sifat antioksidan manggis melebihi vitamin E dan vitamin C. *Xanthone* yang terdapat di manggis merupakan substansi kimia alami yang tergolong senyawa polyphenolic. Peneliti dari Universitas Taichung di Taiwan telah mengisolasi *xanthone* dan derivatnya dari kulit buah manggis (*pericarp*) di antaranya diketahui adalah *3-isomangoestein*, *alpha mangostin*, *Gamma- mangostin*, *Garcinone A*, *Garcinone B*, *C*, *D* dan *Garcinone E*, *Maclurin*, *Mangostenol*. Sebuah penelitian di Singapura menunjukkan bahwa sifat antioksidan pada buah manggis jauh lebih

efektif bila dibandingkan dengan antioksidan pada rambutan dan durian (Iswari *et al.*, 2010).

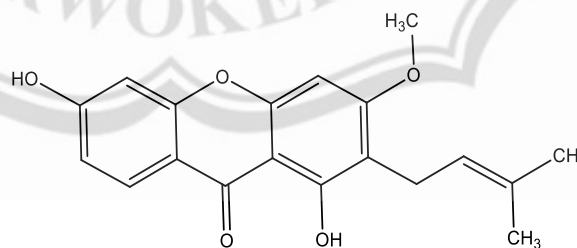


**Gambar 2.4. Struktur Senyawa Xanthone (Mardiana, 2012)**

Menurut Obolskiy *et al.* (2009) daun manggis mengandung 2 senyawa xanthon yaitu 1,5,8-Trihydroxy-3methoxy-2-(3-methylbut-2-enyl) xanthone dan 1,6-Dihydroxy-2-(2hydroxy-3-methylbut-3-enyl)-3,7-dimethoxy-8-(3methylbut-2-enyl)-xanthone.



**Gambar 2.5. Struktur 1,5,8-Trihydroxy-3methoxy-2-(3-methylbut-2-enyl) xanthone**



**Gambar 2.6. Struktur 1,6-Dihydroxy-2-(2hydroxy-3-methylbut-3-enyl)-3,7-dimethoxy-8-(3methylbut-2-enyl)-xanthone**

#### 4. Nanopartikel

Nanopartikel adalah partikel koloid atau padatan dengan diameter berkisar dari 10-100 nm. Nanopartikel dengan menggunakan polimer

dapat dimanfaatkan untuk sistem penghantaran tertarget, meningkatkan bioavailabilitas, pelepasan obat terkendali, atau melarutkan obat untuk penghantaran sistemik. Juga dapat digunakan untuk melindungi agen terapeutik akibat adanya degradasi enzim (*nuklease* dan *protease*) (Rauhatun dan Iis, 2013).

Menurut Tiyaboonchai (2003), secara sederhana nanopartikel yang terbuat dari suatu polimer dapat dibedakan menjadi dua tipe yaitu nanosphere dan nanokapsul. Nanosphere merupakan nanopartikel dengan sistem matriks dimana obat terdispersi seluruhnya di dalam matriks tersebut, sedangkan nanokapsul merupakan nanopartikel dengan sistem reservoir yang terbuat dari membran polimer yang mengelilingi intinya. Pada awalnya, nanopartikel dibuat menggunakan polimer non-biodegradable, namun jenis polimer ini segera tergantikan oleh polimer yang biodegradable. Nanopartikel yang terbuat dari polimer biodegradable banyak dikembangkan sebagai sistem penghantaran obat.

Nanopartikel terbukti mampu membawa obat (antibiotik, sitostatik, peptida, dan protein) ke target jaringan yang spesifik. Nanopartikel juga diyakini mampu melindungi obat agar tidak mengalami degradasi baik secara kimia maupun enzimatis. Nanopartikel juga mampu mengurangi efek samping yang mungkin ditimbulkan dari beberapa zat aktif.

Menurut Rawat *et al* (2006), nanopartikel yang digunakan sebagai sistem penghantaran obat memiliki banyak keuntungan. Salah satu keuntungannya yaitu, ukuran partikel dan sifat permukaannya dapat diatur dengan mudah. Nanopartikel dapat mengontrol pelepasan zat aktif selama perjalanannya menuju lokasi obat tersebut bekerja, sehingga dapat meningkatkan efek terapi obat dan mengurangi efek sampingnya. Sistem pelepasan obat dalam bentuk nanopartikel dapat diatur dengan jalan memilih matriks yang tepat sehingga nantinya dapat dihasilkan sistem pelepasan obat yang berbeda-beda. Nanopartikel dapat digunakan untuk banyak rute pemberian obat, seperti oral, nasal, parental, intra-okular, dan lainnya.

Menurut Martien *et al* (2012), kemampuan nanopartikel untuk meningkatkan ketersediaan hayati obat dengan kelarutan yang rendah dalam sirkulasi sistemik telah banyak dibuktikan. Kemampuan ini berlaku umum pada berbagai aplikasi penghantaran oral, intravena, pulmonar, dan transdermal. Peningkatan jumlah obat dalam darah pada penghantaran sistemik juga akan meningkatkan resiko munculnya efek samping maupun efek balik, hingga pada resiko tercapainya batas kadar toksik. Pada banyak kasus, peningkatan kadar obat dalam darah ini sangat diperlukan bagi obat untuk dapat menimbulkan efek farmakologis. Oleh karena itu, nanopartikel memberikan solusi yang baik karena dapat memberikan efek farmakologis pada dosis yang lebih kecil (efisien). Kesesuaian bentuk sediaan nanopartikel dengan jaringan target dan penyakit diperlukan untuk memperoleh sistem yang dapat memberikan hasil terapi yang optimal. Jaminan akan tercapainya tujuan terapi merupakan syarat mutlak yang diperlukan untuk dapat memperkenalkan produk sistem penghantaran obat baru yang dapat diandalkan.

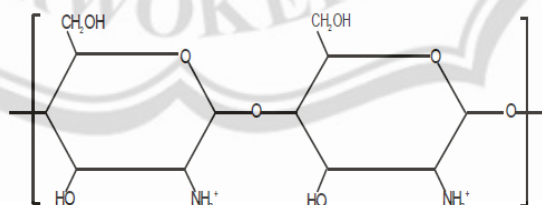
## 5. Gelasi Ionik

Beberapa metode telah digunakan untuk membuat sistem partikulat kitosan. Penentuan metode yang digunakan tergantung faktor-faktor seperti ukuran partikel yang diinginkan, stabilitas kimia dan panas dari bahan aktif, reproduktibilitas profil kinetik pelepasan produk akhir dan toksisitas residu yang terkait dengan produk akhir (Agnihotri *et al.*, 2004). Menurut Agnihotri *et al* (2004) dan Tiyaboonchai (2003), metode yang dapat digunakan untuk memproduksi mikro dan nanopartikel kitosan dari kitosan adalah metode ikatan silang emulsi (*emulsion cross-linking*), presipitasi (*precipitation*), pengeringan semprot (*spray drying*), metode penggabungan droplet emulsi (*emulsion-droplet coalescence method*), gelasi ionik (*ionic gelation*), *reverse micellar method*, dan kompleks polielektrolit (*polyelectrolyte complex*).

Salah satu metode yang digunakan untuk pembuatan nanopartikel adalah dengan gabungan kompleks koaservasi atau gelasi ionik. Kompleks koaservasi atau gelasi ionik dapat diinduksi dalam sistem yang mempunyai dua dispersi koloid hidrofilik dan mempunyai muatan yang berlawanan. Netralisasi muatan positif oleh muatan negatif menyebabkan pemisahan kompleks (Rauhatun dan Iis, 2014). Mekanisme terbentuknya formulasi nanopartikel kitosan ini berdasarkan pada interaksi elektrostatis antar gugus amina kitosan dengan gugus bermuatan negatif dari suatu polianion (Tiyaboonchai, 2003). Menurut penelitian yang dilakukan Dustgania *et al* (2008), nanopartikel yang dibuat dengan metode gelasi ionik dengan komposisi kitosan dan natrium tripolifosfat di dalamnya akan menghasilkan nanopartikel dengan ukuran 250-350 nm dengan efisiensi penjerapan zat aktif sekitar 72,2%.

Mekanisme pembentukan nanopartikel berdasarkan interaksi elektrostatis antara gugus amin dari kitosan dan gugus negatif dari polianion seperti tripolifosfat. Mekanisme kerja yang diawali dengan melarutkan kitosan didalam asam asetat glasial ini kemudian dilanjutkan dengan penambahan natrium tripolifosfat sedikit demi sedikit dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer*.

## 6. Kitosan



**Gambar 2.2. Struktur Kimia Kitosan**

(Rismana *et al*, 2014)

Senyawa yang biasanya digunakan untuk menstabilkan ukuran nanopartikel adalah polimer (Tatang *et al.*, 2011). Menurut Tiyaboonchai (2003), kitosan adalah suatu polimer dari sakarida (polisakarida) yang didapatkan dari proses deasetilasi senyawa kitin

yang terkandung di dalam kulit luar hewan golongan Crustacea contohnya udang, kepiting, dan lainnya. Kitosan merupakan salah satu polimer yang banyak dikembangkan dan diteliti untuk aplikasinya dalam bidang farmasetika karena memiliki sifat *biocompatible*, *biodegradable*, dan tidak memiliki efek toksik. Struktur kimia kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.2 (Rismana *et al*, 2014).

Sumber utama untuk produksi kitosan adalah kitin dan bahan baku yang digunakan untuk mengolahnya tersedia dalam jumlah yang cukup melimpah di Indonesia, terutama cangkang kepiting dan rajungan serta kulit udang. Kitosan merupakan modifikasi polimer karbohidrat alami yang diproses melalui N deasetilasi parsial kitin. Unit utama pada polimer kitin adalah 2-deoksi-2-(asetilamino) glukosa. Walaupun kitin tidak larut dalam sebagian besar pelarut, kitosan larut dalam sebagian besar larutan asam organik pada pH kurang dari 6,5 termasuk asam format, asetat, tartrat, dan sitrat. Kitosan tidak larut dalam asam fosfat dan asam sulfat. Kitosan tersedia dalam rentang berat molekul dan derajat deasetilasi yang luas. Berat molekul (BM) dan derajat deasetilasi (DD) adalah faktor utama yang mempengaruhi ukuran partikel, pembentukan partikel, dan agregasi (Tiyaboonchai, 2003).

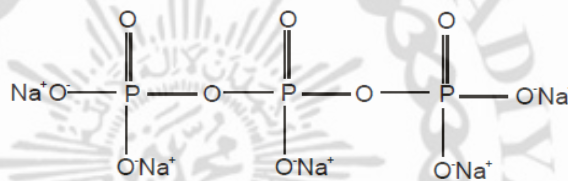
Kitosan memiliki sifat-sifat yang ideal sebagai polimer nanopartikel, sifat-sifat tersebut yaitu: mudah disintesis, murah, biokompatibel, *biodegradable*, *non-immunogenic*, *non-toxic*. Pada pembuatan nanopartikel menggunakan kitosan tidak melibatkan panas, tekanan tinggi, ataupun pelarut organik. Kitosan dapat diaplikasikan untuk obat dengan molekul kecil, protein, dan polinukleotida (Tiyaboonchai, 2003).

Kitosan merupakan biopolimer alami yang menarik disebabkan adanya gugus amino reaktif dan grup fungsional hidroksil. Kitosan memiliki karakteristik biokompatibilitas yang diinginkan serta kemampuan untuk meningkatkan permeabilitas membran. Oleh karenanya, kitosan merupakan salah satu matriks imobilisasi yang paling menjanjikan karena memiliki kemampuan membentuk membran,

sifat adesi yang baik, harga murah, tidak beracun, kekuatan mekanis dan hidrofilisitas yang tinggi serta perbaikan stabilitas (Nakorn, 2008; Erdawati, 2008).

Kitosan sangat sukar larut dalam air dan tidak larut dalam etanol 95%, pelarut organik lain, dan larutan netral atau basa pada pH di atas 6,5. Kitosan mudah larut dalam larutan asam organik encer maupun pekat (Rowe, 2009). Menurut Tiyaboonchai (2003), salah satu aplikasi kitosan yang banyak diteliti adalah kemampuannya sebagai polimer dalam membentuk nanopartikel dan telah banyak diteliti bahwa nanopartikel kitosan sebagai pembawa obat untuk penghantaran obat secara oral maupun topikal.

## 7. Na-TPP



**Gambar 2.3. Struktur Kimia (NaTPP) Natrium Tripolifosfat**  
(Rismana *et al*, 2014)

Tripolifosfat dalam nanopartikel sambung silang multi ion digunakan sebagai pasangan ion dari kitosan. Sifatnya sebagai anion multivalen yang dapat membentuk ikatan sambung silang dengan kitosan menjadi alasan penggunaan tripolifosfat. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Yu Shin *et al* (2008) menyebutkan bahwa penggunaan tripolifosfat sebagai salah satu pasangan ion kitosan akan memberikan hasil nanopartikel yang dapat lebih stabil dan memiliki karakter penembusan membran yang lebih baik. Yu Shin *et al* (2008) mengungkapkan bahwa pada nanopartikel sambung silang multi ion, tripolifosfat berperan sebagai komponen anion multivalen yang dapat membentuk ikatan sambung silang dengan kitosan yang memiliki sifat kationik. Struktur kimia NaTPP dapat dilihat pada Gambar 2.3 (Rismana *et al.*, 2014).

## 8. PSA (*Particle Size Analyzer*)

Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel merupakan suatu karakteristik khusus dalam sistem nanopartikel. Suatu materi dikatakan nanopartikel jika memiliki ukuran partikel di bawah 100 nm. Ada banyak cara atau metode yang digunakan untuk menentukan ukuran partikel dari nanopartikel. Cara yang paling sering digunakan untuk menentukan ukuran suatu partikel adalah dengan metode PCS (*Photon Correlation Spectroscopy*) dan DLS (*Dynamic Light Scattering*). PCS dapat digunakan untuk menentukan ukuran partikel dengan cara mendispersikan sampel dalam medium cair. Pada kondisi ini, partikel-partikel sampel akan bergerak secara acak mengikuti aturan gerak Brown. PCS akan mengukur ukuran partikel dengan cara menembakkan partikel-partikel yang bergerak acak dengan menggunakan laser. PCS akan menentukan distribusi ukuran partikel rata-ratanya, sedangkan DLS digunakan untuk menentukan ukuran partikel dengan cara memasukkan partikel kecil di dalam suspensi yang bergerak dalam pola acak. Pengukuran dilakukan dengan prinsip bahwa partikel yang lebih besar akan bergerak dengan lambat dibandingkan dengan partikel yang lebih kecil (Jahanshahi *et al.*, 2008).

PSA merupakan suatu alat yang digunakan untuk menentukan ukuran partikel yang berbasis PCS (*Photon Correlation Spectroscopy*) dan menggunakan metode LAS (*Laser Diffraction*). Metode LAS ini dibagi menjadi 2 metode, yaitu:

- a. Metode basah (*Wet Dispersion Unit*), metode ini menggunakan media pendispersi untuk mendispersikan material uji.
- b. Metode kering (*Dry Dispersion Unit*), metode ini memanfaatkan udara atau aliran udara untuk melarutkan partikel dan membawanya ke sensing zone. Metode ini baik digunakan untuk ukuran yang kasar, dimana hubungan antar partikel lemah dan kemungkinan untuk beraglomerasi kecil.



**Gambar 2.4. Alat *Particle Size Analyzer* (PSA)**

Sumber dari <https://www.beckman.com/particle-characterization>

Pengukuran partikel dengan menggunakan PSA-DLS biasanya menggunakan metode basah. Metode ini dinilai lebih akurat jika dibandingkan dengan metode kering ataupun pengukuran partikel dengan metode ayakan dan analisa gambar. Terutama untuk sampel-sampel dalam orde nanometer dan submicron yang biasanya memiliki kecenderungan aglomerasi yang tinggi. Hal ini dikarenakan partikel didispersikan ke dalam media sehingga partikel tidak saling beraglomerasi (menggumpal). Ukuran partikel yang terukur adalah ukuran dari *single particle*. Selain itu, hasil pengukuran dimunculkan dalam bentuk distribusi, sehingga hasil pengukuran dapat diasumsikan sudah menggambarkan keseluruhan kondisi sampel.

Hal yang diharapkan dari analisis ini adalah, distribusi ukuran nanopartikel kitosan yang dihasilkan berada pada rentang nano (<1000nm) dan memiliki keseragaman (homogenitas) ukuran yang baik.

Keunggulan penggunaan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk mengetahui ukuran partikel adalah sebagai berikut:

- a. Lebih akurat dan mudah digunakan, pengukuran partikel dengan menggunakan PSA lebih akurat jika dibandingkan dengan pengukuran partikel dengan alat lain seperti TEM ataupun SEM. Hal ini dikarenakan partikel dari sampel yang akan diuji

didispersikan ke dalam sebuah media sehingga ukuran partikel yang terukur adalah ukuran dari single particle.

- b. Hasil pengukuran dalam bentuk distribusi, sehingga dapat menggambarkan keseluruhan kondisi sampel, yang berarti penyebaran ukuran rata-rata partikel dalam suatu sampel.
- c. Rentang pengukuran dari 0,6 nanometer hingga 7 mikrometer (Rusli, 2011).

### **9. Zeta Nano Sizer**

Potensial zeta menggambarkan stabilitas nanopartikel karena perbedaan muatan antar partikel akan mempengaruhi gaya tolak menolak antar partikel. Untuk memperoleh koloid nanopartikel yang stabil, nanopartikel harus memiliki nilai zeta potensial lebih dari 30 mV (Akhtar *et al.*, 2012).

Potensial zeta dari sebuah nanopartikel biasanya digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan partikel yang berkaitan dengan interaksi elektrostatis nanopartikel. Potensial zeta juga mencerminkan potensi muatan dari partikel yang dipengaruhi oleh komposisi dari partikel dan medium tempat nanopartikel terdispersi. Potensial zeta juga berkaitan dengan stabilitas fisik permukaan yang mencegah terjadinya agregasi partikel, dengan menurunkan potensial zeta akan menyebabkan terjadinya agregasi atau sedimentasi (Jahanshahi dan Babaei, 2008).

### **10. KLT (Kromatografi Lapis Tipis)**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan yang paling populer, memiliki banyak kegunaan yang memberikan keuntungan seperti peralatan yang dibutuhkan sederhana, murah, waktu yang digunakan untuk analisis singkat, sampel yang dibutuhkan sedikit, dan memiliki daya pisah yang cukup baik (Sudjadi, 2008). Pemisahan komponen-komponen berdasarkan perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam dipisahkan oleh gerak pelarut pengembang. Pemilihan eluen (fase gerak) yang tepat merupakan langkah penting dalam keberhasilan analisis

menggunakan KLT. Pemilihan eluen berdasarkan pada prinsip “*like dissolve like*”. Eluen yang dipilih hendaknya merupakan campuran pelarut yang mempunyai polaritas serendah mungkin, hal ini dimaksudkan untuk mengurangi serapan dari setiap komponen dari campuran eluen pelarut. Jika komponen-komponen yang mempunyai sifat polar tinggi (misalnya air) dalam campuran, maka akan mengubah sistem menjadi partisi. Campuran yang baik memberikan fasa gerak yang mempunyai kekuatan bergerak sedang, tetapi sebaiknya dihindari mencampur lebih dari dua komponen, karena campuran yang lebih kompleks cepat mengalami perubahan-perubahan fasa terhadap perubahan suhu (Sastrohamidjojo, 1995).

Identitas noda pada plat dinyatakan dengan harga  $R_f$  (*Retardation factor*).  $R_f$  merupakan rasio jarak noda terhadap titik awal dibagi jarak eluen terhadap titik awal.

Secara sistematis dapat dituliskan :

$$R_f = \frac{l}{h}$$

dengan,  $l$  = jarak noda dari titik awal ke titik akhir setelah proses pengembangan (cm) dan  $h$  = jarak eluen dari titik awal ke batas akhir eluen (cm). Harga  $R_f$  berkisar antara 0-0,999.

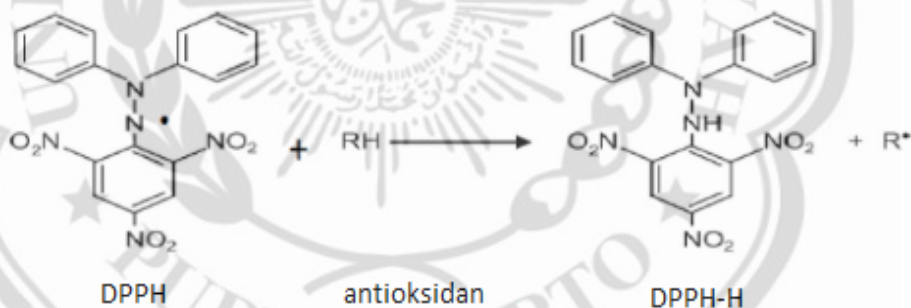
Keuntungan yang pasti dari KLT adalah biaya yang sangat rendah dan kemudahannya. KLT juga mempunyai kemampuan sebagai suatu metode rutin untuk penyaringan awal sampel-sampel polimer atau untuk memonitor proses-proses polimerisasi (Stevens, 2001).

#### **11. Uji Aktifitas penangkapan radikal bebas menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

Pengukuran aktivitas penangkap radikal bebas dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain dengan metode lipid peroksida, tiobarbiturat, malonaldehid, 8-karoten bleaching, DPPH, dan tiosianat. Metode DPPH adalah salah satu yang paling populer karena praktis dan sensitif (Molyneux, 2004). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan apabila digunakan sebagai pereaksi cukup dilarutkan.

Senyawa ini jika disimpan dalam keadaan dan kondisi penyimpanan yang baik akan tetap stabil selama bertahun-tahun (Winarsi, 2007).

Prinsip dari uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah terjadinya perubahan warna ungu menjadi ungu pudar dan kuning. Perubahan warna tersebut dikarenakan adanya penurunan absorptivitas molar dari molekul DPPH. Perubahan warna tersebut berdasarkan jumlah elektron yang tertangkap. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu. Perubahan warna yang terjadi disebabkan adanya ikatan antara elektron DPPH dengan atom hydrogen yang mengindikasikan adanya peningkatan kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang. Dengan demikian, semakin besar konsentrasi larutan, maka semakin memudar warna larutan dan absorbansinya semakin kecil (Koleva *et al.*, 2002).



**Gambar 2.5. Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan (Prakash *et al.*, 2001)**

Keterangan: Larutan DPPH berwarna ungu tua bertemu dengan senyawa antioksidan akan memudarkan warna DPPH menjadi ungu muda. Hal ini karena elektron radikal pada DPPH di terminasi dengan suatu senyawa antioksidan.

Pengukuran aktivitas antioksidan ditandai dengan penurunan serapan larutan DPPH yang disebabkan adanya penambahan sampel. Untuk memperoleh nilai serapan larutan DPPH terhadap sampel

(ekstrak) tersebut dihitung sebagai persen inhibisi (% inhibisi) dengan rumus sebagai berikut: (Zuhra *et al.*, 2008)

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A \text{ kontrol} - A \text{ sampel})}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

% inhibisi = presentase hambat antioksidan

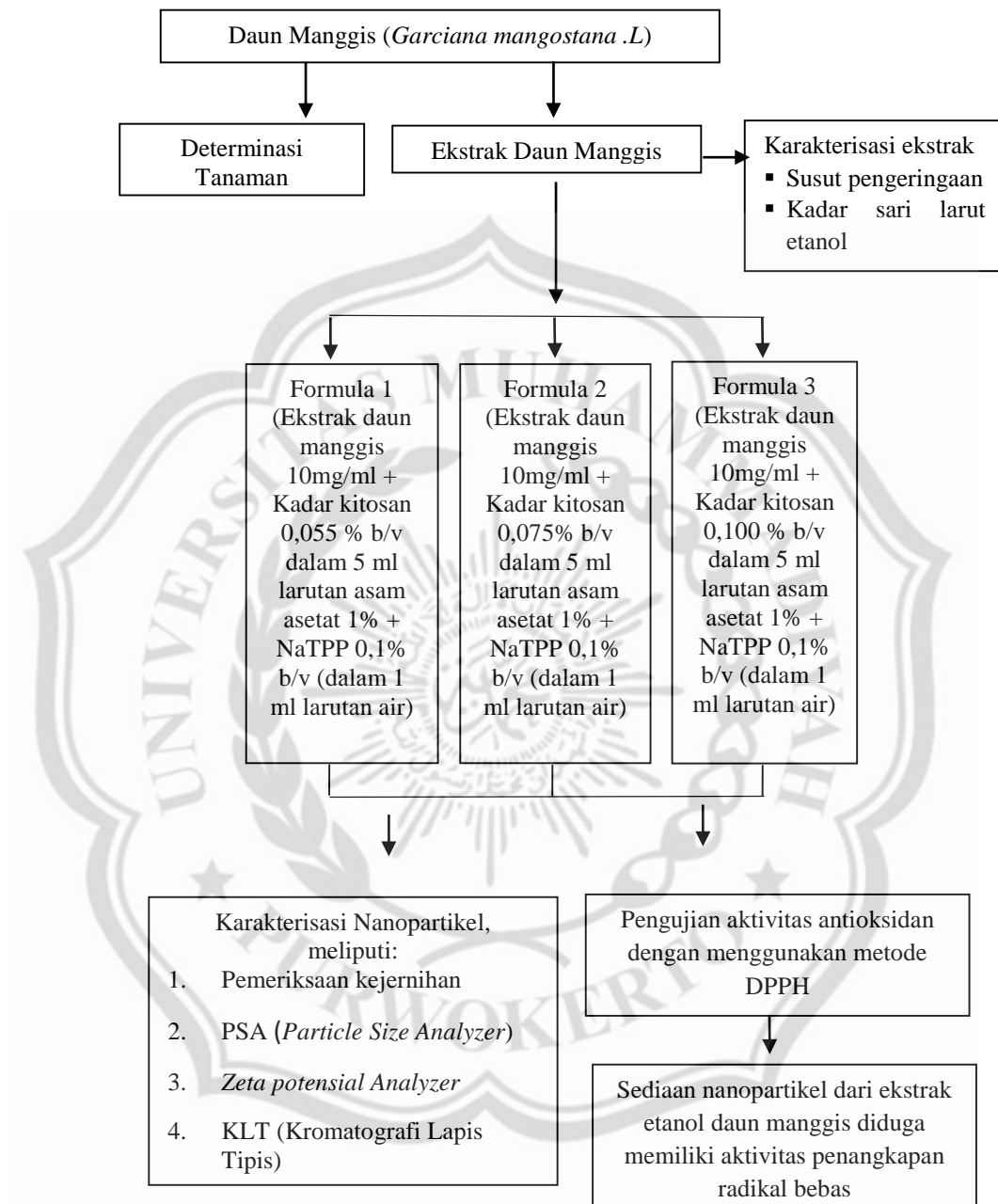
A kontrol = absorbansi DPPH

A sampel = Absorbansi larutan uji

Kemudian hasil yang diperoleh dimasukan kedalam persamaan regresi dengan konsentrasi sampel atau ekstrak (ppm) sebagai basis (sumbu X) dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu Y). Nilai IC<sub>50</sub> dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50% dengan  $Y = Ax + b$  (Zuhra *et al.*, 2008).

### C. Kerangka Konsep

Kerangka konseptual penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6. Diagram kerangka konseptual

#### D. Hipotesis

1. Menghasilkan sediaan nanopartikel dari ekstrak etanol daun manggis yang dibuat dengan metode gelasi ionik dengan TPP sebagai *cross-linker*.
2. Sediaan nanopartikel ekstrak etanol daun manggis memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas yang poten sebagai antioksidan ditunjukkan dengan adanya nilai IC<sub>50</sub>.
3. Sediaan nanopartikel ekstrak etanol daun manggis memiliki komponen senyawa sama dengan ekstrak, dan memiliki ukuran nanopartikel stabil.

