

FORMULASI NANOSUSPENSI EKSTRAK KERING RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) DENGAN METODE GELASI IONIK DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Moch Futuchul Arifin^{1*}, Yuslia Noviani¹, Anarisa Budiati¹, Isnaini Hidayanti¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila Jalan Raya Lenteng Agung Srengseng Sawah,
Jagakarsa, Kota Jakarta Selatan, 12630, Indonesia.

*Korespondensi: emefarifin77@gmail.com

ABSTRAK

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) mengandung kurkumin berkhasiat sebagai antioksidan. Rendahnya kelarutan, ketersediaan hayati dan stabilitas menjadi kendala untuk dikembangkan sebagai sediaan oral. Tujuan penelitian adalah memformulasi ekstrak kering menjadi nanosuspensi antioksidan dengan metode gelasi ionik. Dilakukan optimasi nanosuspensi terhadap empat formula yang mengandung konsentrasi ekstrak kering sebesar : 100-700 x IC₅₀. Penetapan formula optimum dari ke-empat formula berdasarkan: stabilitas, ukuran partikel dan indeks polidispersitas. Formula optimum dikarakterisasi meliputi: morfologi, potensial zeta, efisiensi penyerapan dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Formula dengan 100 x IC₅₀ paling stabil, ukuran partikel 300,4 nm dan indeks polidispersitas 0,292 ditetapkan sebagai formula optimum. Hasil karakterisasi nanosuspensi formula optimum: potensial zeta +47,7; efisiensi penyerapan 63,49% dan aktivitas antioksidan IC₅₀, 30,22 bpj. Ekstrak kering dapat diformulasikan sebagai nanosuspensi antioksidan dan berpotensi dikembangkan sebagai sediaan oral.

Kata kunci: temulawak, nanosuspensi, gelasi ionik, antioksidan.

ABSTRACT

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) contains curcumin as an antioxidant. Low solubility, bioavailability and stability are obstacles to be developed as an oral preparation. The research objective was to formulate the dry extract into antioxidant nanosuspension by using the ionic gelation method. Nanosuspension optimization was carried out on four formulas containing dry extract concentrations of: 100-700 x IC₅₀. Determination of the optimum formula based on: stability, particle size and polydispersity index. The optimum formula was characterized including: morphology, zeta potential, absorption efficiency and antioxidant activity using the DPPH method. The formula with the most stable 100 x IC₅₀, particle size of 300.4nm and a polydispersity index of 0.292 was determined as the optimum formula. The results of the characterization: zeta potential +47.7; absorption efficiency 63.49% and antioxidant activity 30.22 ppm. The dry extract can be formulated as an antioxidant nanosuspension and has the potential to be developed as an oral preparation.

Keywords: temulawak, nanosuspension, ionic gelation, antioxidant.

PENDAHULUAN

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) merupakan tumbuhan obat, dan digunakan sebagai bahan baku obat tradisional di Indonesia. Secara empiris diketahui berpotensi sebagai antioksidan [1,2]. Ekstraknya mengandung kurkuminoid, terdiri atas tiga senyawa fenolik utama, yaitu: kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin. Struktur kurkumin terdiri dari 2 gugus hidroksi fenolik sebagai penangkap radikal bebas pada fase pertama dan gugus beta diketon sebagai penangkap radikal pada fase antioksidatif berikutnya [3].

Karakteristik kurkumin dan sifat-sifatnya dipengaruhi secara signifikan oleh metode ekstraksi. Kurkumin dapat diekstraksi dengan berbagai metode maserasi, digesti, infusi dan sokletasi [4,5,6]. Hasil penelitian Kuntorini (2011) melaporkan ekstrak rimpang temulawak yang diekstraksi secara sokletasi memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar 17,70 bpj menggunakan metode DPPH [7]. Pada penelitian ini dipilih metode sokletasi, karena digunakan volume pelarut yang kecil, namun diperoleh jumlah kurkumin yang lebih banyak dibandingkan metode lain [8,9].

Kurkumin memiliki kelarutan rendah, kurang stabil dan mengalami metabolisme sehingga cepat dieliminasi dari tubuh. Akibatnya ketersediaan hayati oral kurkumin sangat rendah. Untuk meningkatkan kelarutan, stabilitas dan ketersediaan hayatinya, maka kurkumin diformulasikan sebagai nanopartikel. Bentuk nanopartikel memiliki beberapa kelebihan, antara lain dapat meningkatkan kelarutan, absorpsi dan kestabilan kurkumin sehingga ketersediaan hayatinya tinggi serta ukuran partikel dengan mudah dimodifikasi sesuai kebutuhan [9,10,11]. Hasil penelitian sebelumnya menggunakan kitosan 1% dan n-tpp 0.4%, dan diperoleh efisiensi penyerapan kurkumin sebesar 40% [12].

Dalam penelitian ini, ekstrak temulawak diformulasi dalam nanosuspensi metode gelasi ionik, menggunakan polimer kitosan 0,2% dan bahan pentaut silang 0,4% natrium tripolifosfat (na-tpp). Dilakukan modifikasi formula dari penelitian tersebut, untuk meningkatkan efisiensi penyerapannya. Penggunaan kitosan sebagai polimer dapat meningkatkan kelarutan dan ketersediaan hayati kurkumin dalam bentuk nanopartikel, dan na-tpp sebagai bahan pentaut-silang akan menstabilkan nanosuspensi yang terbentuk [13]. Konsentrasi ekstrak kering temulawak dalam formulasi nanosuspensi ini

didasarkan pada nilai IC_{50} . Dibuat empat formula dengan masing-masing formula mengandung 100, 300, 500 dan 700 x IC_{50} , untuk melihat perbedaan karakter: stabilitas, ukuran partikel dan indeks polidispersitas. Berdasarkan pada kestabilan nanosuspensi, ukuran dan indeks polidispersitas, ditentukan formula optimumnya. Terhadap formula optimum dilakukan karakterisasi nanosuspensi meliputi: potensial zeta, efisiensi penyerapan dan aktivitas antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah memformulasi ekstrak kering temulawak dalam nanosuspensi sebagai antioksidan untuk dikembangkan sebagai sediaan peroral.

METODE PENELITIAN

Bahan: rimpang temulawak (Balittro), DPPH (sigma), etanol 96%, kitosan, asam asetat glacial, natrium tripolifosfat, propilen glikol, dimetil sulfoksida, etanol 70%, BP kurkumin, larutan dapar fosfat pH 6,8, metanol, vitamin C, larutan dapar fosfat, maltodekstrin, aquadest

Alat: spray dryer (EYELA FD-700), magnetic stirrer, spektrofotometer UV-Visible (Shimadzu Uvmini-1240), transmission electron microscope (JEOL JEM 1010), zetasizer dan particle size analyzer (Malvern analytical).

Metode

Penetapan Bahan Organik Asing. Simplisia rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO), Bogor. Dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong. Sejumlah 100 g simplisia disebarkan pada lempengan datar, dipisahkan bahan organik asingnya menggunakan kaca pembesar, ditimbang sampai ketelitian 0,05 g dan dihitung kadar BOA-nya per 100 g simplisia yang telah dikeringkan.

Ekstraksi Rimpang Temulawak Metode Sokletasi. Simplisia diserbukkan menggunakan blender. Sejumlah serbuk simplisia diayak dengan pengayak nomer 4. Serbuk yang lolos pengayak nomer 4 kemudian diayak dengan pengayak nomer 18. Ditimbang 2.400 g simplisia rimpang temulawak, disokletasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 6-8 jam, dilakukan resokletasi. Filtrat dikumpulkan, dilakukan evaporasi dengan vacuum rotavapor sehingga diperoleh ekstrak kental rimpang temulawak.

Ekstrak kental ditimbang dan dihitung nilai DER-native dan rendemen. Sebagai contoh lihat persamaan [1].

$$\text{DER} = \frac{\text{Bobot simplisia (g)}}{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}$$

$$\text{Rendemen} = \left(\frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \right) \times 100\%$$

Penetapan Kadar Kurkumin Ekstrak Kental Rimpang Temulawak. Ditimbang seksama ± 10 mg ekstrak kental, dilarutkan dalam campuran pelarut dapar fosfat pH 6,8 : etanol 96% (60 : 40% v/v) pada labu tentukur sampai 10,0 mL sehingga kadarnya 1000 bpj, kemudian dipipet 2,0 mL dan diencerkan hingga 100,0 mL. Larutan diinkubasi dalam ruangan tertutup dan gelap selama waktu stabil (45-50 menit) dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} 420,5 nm. Absorban yang diperoleh digunakan untuk menghitung kadar kurkumin menggunakan persamaan regresi kurva baku kurkumin. Kadar hasil persamaan regresi linear dikonversikan dalam prosentase. Sebagai contoh lihat persamaan [2].

$$\text{Kadar (\%)} = \left(\frac{\text{kadar (mg/mL)} \times \text{vol awal (mL)} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Bobot (mg)}} \right)$$

Pengeringan Ekstrak Kental dan Penetapan Kadar Air Serbuk Kering. Dilakukan pengeringan ekstrak kental menggunakan alat spray dryer dengan penambahan 30-35% maltodekstrin sebagai pengisi. Kemudian dilakukan penetapan kadar air ekstrak kering serbuk temulawak menggunakan moisturemeter Karl Fischer dengan menimbang 3-5 mg serbuk menggunakan microbalance.

Pembuatan Larutan DPPH, Larutan Uji dan Larutan Vit C. Dibuat larutan DPPH (0,4 mM), dengan menimbang 4,0 mg DPPH (BM=394,2) dilarutkan dalam metanol pro analisis hingga 25,0 mL ditempatkan dalam botol gelap, mulut labu ditutup dengan aluminium foil. Larutan blanko dibuat dengan menambahkan 1 mL larutan DPPH dalam labu tentukur 5,0 mL, ditambahkan metanol pro analisis hingga tanda, mulut labu ditutup dengan aluminium foil. Larutan uji dibuat dengan menimbang 10,0 mg sampel, dilarutkan dalam metanol pro analisis sampai 10 mL (1000 bpj). Larutan ini merupakan larutan induk. Dipipet 25, 50, 75, 100, dan 125 μL larutan induk ke dalam tabung reaksi. Pada masing-masing tabung,

ditambahkan 1,0 mL larutan DPPH dan ditambahkan metanol pro analisis sampai tanda 5,0 mL, dihomogenkan. Larutan vitamin C dibuat dengan menimbang 10 mg vitamin C, dilarutkan dalam metanol pro analisis sampai 10 mL. Larutan ini merupakan larutan induk. Dipipet 5, 10, 15, 20, dan 25 μL ke dalam tabung reaksi yang telah ditara 5,0 mL sehingga konsentrasinya masing-masing 1, 2, 3, 4, dan 5 $\mu\text{g/mL}$. Pada masing-masing tabung (blanko, larutan uji dan larutan Vit C) ditambahkan 1,0 mL larutan DPPH dan metanol pro analisis sampai tanda 5,0 mL, dihomogenkan.

Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH dan Perhitungan IC_{50} . Larutan blanko, larutan uji, dan larutan Vit C diinkubasi di atas penangas air suhu 37 °C selama *operating time* yang telah ditentukan. Serapan larutan diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} 515,5 nm. Serapan DPPH yang diperoleh dari hasil pengukuran dihitung persen penghambatannya. Sebagai contoh lihat persamaan [3]

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \left(\frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \right) \times 100\%$$

Data persen penghambatan (IC_{50}) dihitung menggunakan persamaan garis regresi yang diperoleh dari kurva hubungan antara konsentrasi larutan uji ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu x dengan nilai persen peredaman radikal bebas (%) sebagai sumbu y. Kemudian didapatkan persamaan $y = \beta x + \alpha$ untuk menghitung nilai IC_{50} .

Preparasi Nanosuspensi Ekstrak Kering Temulawak. Sejumlah 1 g kitosan dilarutkan dalam 100 mL asam asetat glasial 1%. Sejumlah x mg ekstrak kering ditambahkan pelarut campur (20 mL propilen glikol : 20 mL etanol 70% : 20 mL DMSO 10%) dan 100 mL aquadest. Kemudian ditambahkan larutan kitosan 1% sebanyak 40 mL sehingga konsentrasi kitosan menjadi 0,2%. Campuran tersebut diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 10 menit. Selanjutnya diteteskan 20 mL natrium tripolifosfat 0,4% dengan kecepatan 1 tetes per 3 detik di atas magnetic stirrer pada rpm 300 selama 15 menit hingga terbentuk nanosuspensi dengan kekeruhan yang stabil. Dilakukan pengamatan kestabilan nanosuspensi ekstrak temulawak selama 5 hari meliputi warna, kekeruhan dan endapan.

Optimasi Formula Nanosuspensi Ekstrak Kering Temulawak. Dilakukan optimasi formula sesuai dengan metode yang dilakukan oleh Galih, 2019 [14]. Sampel disimpan selama 5 hari pada suhu 25 – 30 °C. Dilakukan pengamatan selama waktu simpan terhadap terjadinya perubahan warna dan pengendapan. Karakterisasi ukuran partikel dan indeks polidispersitas dilakukan dengan teknik *Dynamic Light Scattering* (DLS) menggunakan alat Malvern. Sejumlah 2 tetes nanosuspensi ekstrak rimpang temulawak diencerkan dengan 20mL air suling untuk menghasilkan intensitas hamburan yang sesuai. Diameter rata-rata dan indeks polidispersitas sampel diperoleh dari rata-rata tiga pengukuran sudut 173° dalam sel polystyrene plastik berdiameter 10 mm. Dibuat 4 formula nanosuspensi dengan 4 konsentrasi ekstrak kering yang berbeda berdasar nilai IC₅₀, yaitu: F1= 100 x IC₅₀ (600 mg); F2= 300 x IC₅₀ (1.800 mg); F3= 500 x IC₅₀ (3.000 mg), dan F4= 700 x IC₅₀ (4.200 mg). Formula yang menunjukkan kestabilan selama 7 hari pada suhu kamar tidak menunjukkan pengendapan, ukuran partikel terkecil dan indeks polidispersitas mendekati 0 (nol) ditetapkan sebagai formula optimum.

Karakterisasi Nanosuspensi Formula Optimum. Karakterisasi formula optimum meliputi: morfologi, potensial zeta, efisiensi penjerapan dan aktivitas antioksidan. Morfologi nanosuspensi menggunakan alat *Transmission Electron Microscope* (TEM) dengan meneteskan 10 µL nanosuspensi pada *support grid mesh* 400, ditambahkan 0,5% Fomvar Film sebagai pelapis grid, setelah satu menit ditetaskan pewarna negatif uranil asetat untuk memperbesar kontras antara preparat yang akan diamati dengan

lingkungan sekitarnya. Potensial zeta. Karakterisasi potensial zeta menggunakan alat zetasiser (Malvern tipe 1203893), dengan memasukkan sejumlah volume cuplikan dalam kuvet yang terdapat elektroda.

Penentuan Efisiensi Penjerapan. Disiapkan 50 mL nanosuspensi, disentrifugasi pada kecepatan 15.000 rpm selama 45 menit, residu dipisahkan dari supernatan. Supernatan dihomogenkan dengan alat vortex selama 1 menit, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420,5 nm. Serapan digunakan untuk menghitung konsentrasi kurkumin yang tidak terjerap menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi baku kurkumin. Dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Efisiensi penjerapan dihitung dengan persamaan [4] :

$$\text{Efisiensi penjerapan (\%)} = \left(\frac{C_t - C_b}{C_t} \right)$$

Keterangan: C_t = konsentrasi kurkuminoid total dalam nanosuspensi, C_b = Konsentrasi kurkumin yang tidak terjerap [15].

Aktivitas Antioksidan. Penentuan aktivitas antioksidan nanosuspensi, dilakukan sama seperti pada penentuan terhadap ekstrak kental dan ekstrak kering

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan Organik Asing Simplisia (BOA). Hasil penetapan BOA simplisia rimpang temulawak dapat dilihat pada Tabel 1. Bahan organik asing dari tanaman temulawak antara lain berupa kulit, akar, tanah-tanah yang menempel pada simplisia sehingga diperoleh hanya bagian rimpangnya saja.

Tabel 1. Penetapan Bahan Organik Asing

Bobot simplisia (g)	Bobot BOA (g)	% BOA (%)	Rata-rata BOA (%)
100,58	0,53	0,53	
100,49	0,41	0,41	0,52 ±0,09
100,67	0,63	0,63	

Setelah diperiksa, diperoleh bagian yang tidak termasuk dalam rimpang sebesar 0,52%. Syarat BOA tidak lebih dari 2% (sesuai dengan syarat pada MMI Edisi VI, 1995) maka hasil ini memenuhi syarat, sehingga dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut.

Serbuk Simplisia Rimpang Temulawak. Simplisia dibuat menjadi serbuk simplisia dengan menggunakan blender, agar diperoleh derajat kehalusan tertentu sehingga proses ekstraksi lebih efektif. Syarat untuk derajat halus simplisia adalah semua serbuk harus melewati

ayakan nomor 4 dan tidak lebih dari 40% melewati ayakan nomor 18.

Diperoleh hasil yang memenuhi persyaratan derajat halus serbuk simplisia seperti yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil ayakan serbuk simplisia

Bobot serbuk simplisia (g)	Bobot melewati ayakan nomor			
	4		18	
	(g)	(%)	(g)	(%)
100,47	100,47	100	37,12	36,95
100,33	100,33	100	39,68	39,55
100,20	100,20	100	39,93	39,85
100,34	100,34	100	35,69	35,57
100,56	100,56	100	32,85	32,67
100,71	100,71	100	39,49	39,21
100,62	100,62	100	38,73	38,49

Ekstraksi Rimpang Temulawak Metode Sokletasi. Serbuk seberat 2.400 g disokletasi dengan etanol 96% selama 6 - 8 jam. Filtrat disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary rotavapor* pada suhu ± 50 °C, tekanan 100 mmHg dan kecepatan 70 rpm. Sokletasi merupakan metode yang hemat pelarut dan dihasilkan ekstrak lebih kental. Dengan pelarut etanol 96%, kurkumin mudah terekstraksi. Setelah dipekatkan dengan *rotary rotavapor* diperoleh ekstrak kental rimpang temulawak sebanyak 291,76 g dengan demikian diperoleh nilai DER 8,23 dan rendemen sebesar 12,61.

Hasil Penetapan Kadar Kurkumin Secara Spektrofotometri UV-Vis. Kadar kurkumin dalam ekstrak kental, ditetapkan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada λ 420,5 nm, dan hasil penetapan waktu stabil reaksi adalah pada menit ke-45. Selanjutnya dibuat kurva baku kurkumin dengan konsentrasi dari 2 - 7 bpj untuk menetapkan kadar terukur berdasarkan persamaan regresi linear, seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Data Kurva Baku Kurkumin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2	0,2023
3	0,3010
4	0,4118
5	0,5205
6	0,6326
7	0,7438

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi larutan seri konsentrasi kurkumin, maka persamaan kurva kalibrasi kurkumin $y = 0,1089$

$x - 0,0213$, dengan koefisien determinasi, $r^2 = 0,999$. Persamaan ini, selanjutnya digunakan untuk menghitung konsentrasi kurkumin dalam ekstrak kental maupun yang terjerat dalam nanosuspensi. Senyawa kurkuminoid merupakan salah satu senyawa *marker* dalam ekstrak rimpang temulawak. Menurut Farmakope Herbal Indonesia edisi I, syarat kandungan kurkuminoid total yang dihitung sebagai kurkumin adalah tidak kurang dari 14,20% [16]. Berdasarkan penetapan kadar dengan tiga kali replikasi pada panjang gelombang 420,5 nm dalam medium LDF pH 6,8-etanol 96% (60:40%v/v), diperoleh kadar kurkumin ekstrak kental sebesar $14,34 \pm 0,26\%$. Kadar yang diperoleh akan digunakan dalam perhitungan kesetaraan kurkuminoid dalam ekstrak untuk perhitungan efisiensi penyerapan dalam formula nanosuspensi.

Hasil Pengeringan Ekstrak Kental Menggunakan Spray Dryer.

Agar diperoleh ekstrak kering yang tidak menempel pada alat spray dryer dan memiliki kadar air yang rendah, maka terlebih dahulu ditetapkan nilai konsentrasi padatan total dari 2.400 g ekstrak kental tersebut. Dari hasil penelitian diperoleh, konsentrasi padatan total ekstrak kental hanya sebesar 6,22%. Menurut Adhikari, 2004, agar ekstrak dapat dikeringkan dengan spray dryer, maka harus memiliki padatan total 30 - 50% [17]. Oleh karena itu perlu ditambahkan maltodekstrin sebesar 720 g sebagai pengisi. Hasil pengeringan pada suhu inlet 160 °C dan suhu outlet 80 °C diperoleh bobot ekstrak kering sebanyak 961,0355 g, berwarna kuning kecoklatan dengan kadar air $3,25 \pm 0,14\%$.

Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan Vit C, Ekstrak kental dan Ekstrak Kering. Hasil uji nilai IC_{50} Vit C, ekstrak kental dan ekstrak kering ditunjukkan pada Tabel 4. Pada uji aktivitas antioksidan vitamin C sebagai senyawa

pembanding diperoleh rata-rata nilai IC_{50} sebesar $3,89 \pm 0,024$ bpj artinya pada konsentrasi tersebut kandungan antioksidan vitamin C dapat meredam 50% radikal bebas dan masuk ke dalam kategori antioksidan yang sangat kuat.

Tabel 4. Aktivitas antioksidan Vit C (IC_{50}), ekstrak kental dan ekstrak kering temulawak.

Bahan	Rata-rata \pm SD (bpj)
Vitamin C	$3,89 \pm 0,03$
Ekstrak kental	$19,55 \pm 0,40$
Ekstrak kering	$27,33 \pm 3,83$

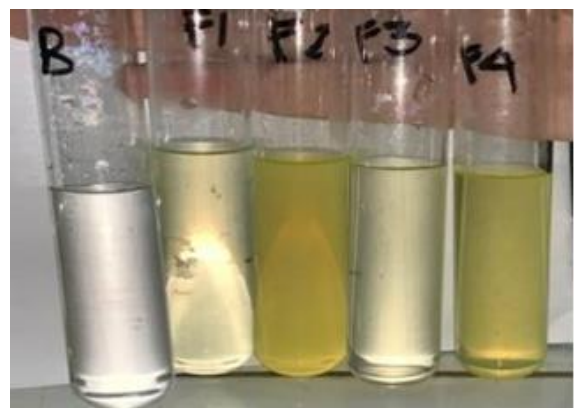
Nilai IC_{50} ekstrak kental rimpang temulawak sebesar $19,55 \pm 0,40$ bpj. Dengan demikian ekstrak kental rimpang temulawak memiliki aktivitas antioksidan dalam kategori sangat kuat (<50 bpj). Dibandingkan dengan baku pembanding vitamin C, aktivitas antioksidan ekstrak kental rimpang temulawak lebih kecil dibandingkan vitamin C. Hal ini disebabkan ekstrak kental rimpang temulawak bukan senyawa murni, tetapi masih mengandung senyawa-senyawa lain yang dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Dibandingkan dengan aktivitas antioksidan dari vitamin C maupun ekstrak kental, ekstrak kering memiliki aktivitas yang lebih rendah, yakni sebesar $27,33 \pm 3,83$ bpj, meskipun masih dalam katagori sangat kuat. Penurunan aktivitas ini disebabkan adanya penambahan maltodekstrin sebagai pengisi pada saat pengeringan menggunakan alat spray dryer, sehingga menurunkan efek penghambatan radikal bebas DPPH.

Hasil Formulasi dan Optimasi Nanosuspensi Ekstrak Kering Rimpang Temulawak.

Nanosuspensi diformulasi menggunakan metode gelasi ionik, terbentuk karena interaksi elektrostatik secara spontan antara kitosan 0,2% dengan natrium tripolifosfat (na-tpp) 0,4%. Proses tautsilang akan meningkatkan kekuatan mekanis nanopartikel dan menurut Yu Shin et al, penggunaan na-tpp sebagai pasangan ion kitosan dapat menghasilkan nanopartikel yang lebih stabil dan memiliki kemampuan penembusan membran yang lebih baik [13].

Dibuat 4 formula nanosuspensi berdasarkan nilai IC_{50} ekstrak kering. Nilai IC_{50} ekstrak kering adalah 27,33 bpj. Oleh karena

berat yang kecil, maka dalam formulasi ini ditingkatkan menjadi 100, 300, 500 dan 700x IC_{50} , sehingga F1, F2, F3 dan F4 masing-masing mengandung ekstrak kering 600, 1.800, 3.000 dan 4.200 mg. Dihasilkan nanosuspensi berwarna kuning dengan kepekatan warna yang berbeda dari tiap formula. Hasil nanopartikel diperlihatkan pada Gambar 1, diamati kestabilannya selama 5 hari. Suspensi nanopartikel F1 memiliki kekeruhan yang stabil dan tidak ditemukan adanya endapan dari hari ke-1 hingga hari ke-5 pengamatan. Pada nanosuspensi F2, F3 dan F4, ditemukan adanya pengendapan di hari ke-3. Seperti ditunjukkan pada Tabel 5, bahwa peningkatan bobot ekstrak menyebabkan peningkatan ukuran partikel dari 300,4-538,8 dan indeks polidispersitas dari 0,292-0619.



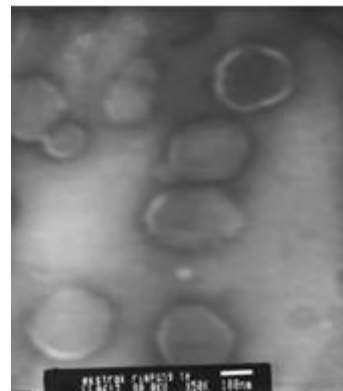
Gambar 1. Hasil uji stabilitas fisik nanosuspensi setelah disimpan selama 5 hari pada suhu kamar.

Tabel 5. Nilai ukuran partikel dan indeks polidispersitas berdasarkan nilai IC₅₀, F1-F4.

Formula	Ukuran Partikel (nm)	Indeks Polidispersitas
F1 (100xIC ₅₀)	300,4	0,292
F2 (300xIC ₅₀)	360,9	0,394
F3 (500xIC ₅₀)	433,8	0,416
F4 (700xIC ₅₀)	538,8	0,619

Peningkatan bobot ekstrak menyebabkan proses gelasi menjadi lebih lambat akibat semakin kentalnya medium, interaksi kitosan dengan na-ttp menjadi lemah, yang pada akhirnya menyebabkan semakin besarnya ukuran partikel dan indeks polidispersitas. Semakin besar ukuran partikel, semakin cepat menyebabkan terjadinya pengendapan [18]. Partikel dengan ukuran kurang dari 400nm memiliki sifat sebagai penghantaran obat yang baik [19]. Ukuran partikel sangat berguna untuk memahami sifat-sifat nanopartikel, khususnya dalam sistem dispersi, agregasi, juga berpengaruh terhadap absorpsi dalam tubuh. Oleh karena itu ukurannya harus kecil untuk memperbaiki penghantaran obat, menurunkan toksisitas dan memperlama kerja obat di sel target. Dengan indeks polidispersitas yang mendekati 0, menggambarkan bahwa distribusi ukuran partikelnya homogen, sehingga tidak menyebabkan terjadinya agregasi dan terakumulasi lebih lama di sisi target [20]. Berdasarkan pada kestabilan nanosuspensi selama penyimpanan pada suhu kamar, ukuran partikel dan indeks polidispersitasnya, maka F1 ditetapkan sebagai formula optimum untuk penelitian selanjutnya.

Karakterisasi Formula Optimum. Morfologi nanopartikel. Pemeriksaan morfologi nanosuspensi perlu dilakukan untuk mengetahui kaitannya dengan sifat pelepasan obat. Bentuk sferis dan permukaan yang halus cenderung lebih stabil dan tidak mudah beragregasi karena kecilnya gaya gesek antar partikel. Karakterisasi morfologi dilakukan menggunakan alat TEM. Hasil morfologi nanosuspensi menunjukkan bahwa partikelnya berbentuk sferis dengan warna dari tiap butir partikel abu-abu dibagian dalam dan gelap dibagian permukaan, dapat dilihat pada Gambar 2. Kesimpulan dari hasil TEM adalah nanosuspensi berbentuk sferis.



Gambar 2. Morfologi nanosuspensi menggunakan TEM, perbesaran 50.000 kali.

Interaksi kurkumin-kitosan terjadi akibat interaksi elektrostatis antara gugus amin kitosan kationik dengan gugus karbonik kurkumin. Kekuatan interaksinya dipengaruhi pH media, semakin besar pH, semakin lemah interaksinya. Hal ini menunjukkan bahwa tidak sepenuhnya kurkumin terenkapsulasi [19].

Potensial Zeta. Hasil pengukuran potensial zeta nanosuspensi seperti diperlihatkan pada Gambar 3, adalah +47,7mV. Potensial zeta mengukur derajat tolak-menolak diantara partikel berdekatan dalam sistem dispersi. Dalam formulasi nanopartikel, tingginya potensial zeta menjadi tujuan utama karena berhubungan dengan kestabilan dan kemanjuran sistem penghantaran obat. Semakin kecil ukuran partikel dengan potensial zeta tinggi, di atas ± 30 mV, gerak Brown semakin tinggi, akan menghalangi terjadinya pengendapan partikel, sehingga sistem dispersi lebih stabil. Dalam penelitian ini digunakan kitosan 0,2% dan na-ttp 0,4%. Besarnya rasio antara konsentrasi kitosan terhadap na-ttp berpengaruh terhadap kerapatan muatan nanopartikel sehingga meningkatkan nilai potensial zeta. Selain itu adanya kelebihan na-ttp akan menstabilkan nanopartikel melalui pembentukan lapisan na-ttp dengan stabilisasi keruangan (*steric stabilization*). Dengan

demikian dihasilkan nanosuspensi yang stabil [14].



Gambar 3. Potensial zeta nanosuspensi ekstrak kering temulawak.

Efisiensi Penjerapan. Efisiensi penjerapan ditetapkan untuk mengetahui rasio kandungan

zat aktif yang termuat dalam partikel nano terhadap total zat aktif yang diformulasi. Rasio yang diperoleh dan dikonversi dalam persentase menggambarkan keberhasilan basis kitosan untuk memerangkap zat aktif. Persentase efisiensi penjerapan yang diharapkan adalah lebih dari 50%. Efisiensi penjerapan dapat ditentukan dengan mengukur intensitas serapan bagian supernatan dari nanosuspensi yang telah dipusingkan pada kecepatan tinggi (14000 rpm). Nanopartikel yang berisi zat aktif akan diendapkan di dasar wadah, sedangkan supernatan akan mengandung zat aktif bebas yang tidak terperangkap dalam struktur nanopartikel.

Jumlah kuantitatif zat aktif yang terjerap dalam nanopartikel dinyatakan sebagai selisih kadar zat aktif nanosuspensi dan kadar zat aktif bebas yang dibandingkan dengan kadar zat aktif nanosuspensi.

Tabel 6. Hasil penetapan efisiensi penjerapan kurkuminoid dalam nanosuspensi.

Replikasi	Efisiensi Penjerapan (%)
1	57,14
2	64,71
3	68,63
Rata-rata	63,49 ± 4,77

Seperti dapat dilihat pada Tabel 6, nanosuspensi dapat menjerap kurkumin 63,49±4,77%. Efisiensi penjerapan sangat dipengaruhi oleh rasio konsentrasi kitosan dengan na-tpp. Pada konsentrasi 0,2%, viskositas larutan menjadi lebih kental sehingga mencegah efektivitas interaksi ionik antara tripolifosfat dengan larutan kitosan akibatnya meningkatkan ukuran partikel, sehingga prosentase kurkumin yang terjerap dapat di atas 60% [20]. Pada pH rendah, gugus amina terprotonasi sehingga menghasilkan polimer dengan muatan positif yang besar. Demikian juga dengan kurkumin yang menghasilkan muatan negatif yang besar sehingga akan terbentuk ikatan polimer dengan kurkumin membentuk kompleks partikel yang besar [19].

Aktivitas Antioksidan Nanosuspensi Ekstrak Kering Temulawak. Telah dilakukan penetapan aktivitas antioksidan, IC₅₀ dari nanosuspensi ekstrak kering temulawak, dengan 3 kali perulangan, menggunakan metode DPPH (diphenylpicrylhydrazil). Ditunjukkan pada Tabel 7, nilai rata-rata IC₅₀ sebesar 30,22 bpj. Dengan demikian aktivitas antioksidan nanopartikel ekstrak kering rimpang temulawak termasuk dalam kategori sangat kuat (<50 bpj). Jika dibandingkan dengan baku pembanding vitamin C, nanosuspensi ekstrak rimpang temulawak memiliki aktivitas antioksidan lebih kecil. Hal ini karena pada nanosuspensi rimpang temulawak terdapat sejumlah bahan tambahan yang dapat mempengaruhi penghambatan radikal bebas DPPH.

Tabel 7. Nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) nanosuspensi ekstrak kering temulawak.

Kadar (bpj)	% Inhibisi			IC ₅₀ (bpj)		
	1	2	3	1	2	3
5	4,11	4,32	4,54			
10	13,02	12,32	12,97			
15	20,99	22,90	19,28	30,53	28,94	31,19
20	29,49	33,24	28,96			
25	41,31	42,27	40,84			
Rata-rata ± SD				30,22 ± 0,94		

DPPH memiliki satu elektron tidak berpasangan, yang menyebabkan terjadinya delokalisasi elektron. Pada keadaan radikal, DPPH berwarna ungu. Bila larutan DPPH bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, menyebabkan DPPH tereduksi dan akan kehilangan warna ungu menjadi kuning [21]. Karakterisasi secara fisika dan kimia, nanosuspensi ekstrak kering temulawak dengan metode gelasi ionik, dapat dikembangkan sebagai sediaan oral. Hal ini merujuk pada hasil penelitian Varuna Kumara, 2015, bahwa kurkumin yang dienkapsulasi dalam partikel nanosuspensi metode gelasi ionik, terbukti aman, tidak menyebabkan terjadinya hemolisis sehingga dapat dipertimbangkan untuk penghantaran oral [22].

SIMPULAN

Ekstrak kering rimpang temulawak dapat diformulasi sebagai nanosuspensi metode gelasi ionik, dengan formula : kitosan 0,2%, na-tpp 0,4% dengan konsentrasi ekstrak sebesar 100xIC₅₀. Nanosuspensi berbentuk sferis; berukuran 300,4 nm; indeks polidispersitas 0,292; potensial zeta +47,7; efisiensi penjerapan 63,49% dan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan IC₅₀ 30,22 bpj. Dengan demikian nanosuspensi ekstrak kering temulawak berpotensi untuk dikembangkan sebagai sediaan oral.

REFERENSI

- [1] Sidik, Moelyono MW, Muhtadi A, Siarit M, Moesdarsono. Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica; 1995.
- [2] World Health Organization. Monograph on Selected Medicinal Plant. Vol I. Jenewa: WHO; 1999.
- [3] Rosidi A. Potensi temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) sebagai antioksidan. Semarang: Universitas Muhammadiyah; 2014.
- [4] Tønnesen H, de Vries H, Karlsten J, Van Henegouwen G. Studies on curcumin and curcuminoids IX: investigation of the photobiological activity of curcumin using bacterial indicator systems. *J Pharm Sci.* 1987; 76(5): 371-73.
- [5] Schieffer G. Pressurized liquid extraction of curcuminoids and curcuminoid degradation products from turmeric (*Curcuma longa*) with subsequent HPLC assays. *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 2002; 25(19): 3033-44.
- [6] Mahkam M, Kafshboran H, Nabati M. Synthesis and characterization of novel colored polymers based on lawsone natural compound. *Des Monomers Polym.* 2014; 17(8): 172-8.
- [7] Kuntorini EM, Astuti MD, Milina N. Struktur anatomi dan kerapatan sel sekresi serta aktivitas antioksidan ekstrak etanol dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) asal Kecamatan Pengaron Kabupaten Banjar Kalimantan Selatan. *Bioscientiae.* 2011; 8(1): 28-37.
- [8] Mehdi N, Mehrdad M, Hassan H. Isolation and characterization of curcumin from powdered rhizomes of turmeric plant marketed in Maragheh City of Iran with soxhlet technique. Iran: Azarbaijan Shahid Madani University; 2019.
- [9] Anand P, Kunnumakkara A, Newman R, Aggarwal B. Bioavailability of

- curcumin: problems and promises. *Mol Pharm.* 2007; 4(6): 807-18.
- [10] Wahlang B, Pawar Y, Bansal A. Identification of permeability-related hurdles in oral delivery of curcumin using the CaCo-2 cell model. *Eur J Pharm Biopharm.* 2011; 77(2): 275-82.
- [11] Mukherjee S, Ray S, Thakur R. Solid Lipid Nanoparticles: a modern formulation approach in drug delivery system. *Indian J Pharm Sci.* 2009; 71(4): 349.
- [12] Hidayat M, Kusmayadi A, Wati A. Preferensi konsumen terhadap daging ayam broiler yang diberi nanoenkapsulasi ekstrak kunyit cair dalam air minum. Purwokerto: Universitas Jenderal Soedirman; 2018.
- [13] Tajik H, Tamaddonfard E, Hamzeh-Gooshchi N. Interaction between curcumin and opioid system in the formalin test of rats. *Pakistan J Bio Sci.* 2007; 10(15): 2583-86.
- [14] Galih Pratiwi, Ronny Martien, Retno Murwanti, Chitosan nanoparticle as a delivery system for polyphenols from meniran extract (*Phyllanthus niruri* L.): formulation, optimization, and immunomodulatory activity, *International Journal of Applied Pharmaceutics*, Vol 11, Issue 2, 2019.
- [15] Suryani, Wahyuni, Ariastika D, Rahmanipu. Formulasi Nanopartikel Kurkumin dengan Teknik Gelasi Ionik menggunakan Kitosan, Tripolifosfat, dan Natrium Alginat serta Uji Stabilitasnya Secara InVitro. *Kendari: Pharmauho Volume 2, No. 1; 2016. h. 17 – 21.*
- [16] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan; 2008. h.150-5.
- [17] Adhikari, B.; Howes, T.; Bhandari, B.R.; Truong, V. Effect of addition of maltodextrin on drying kinetics and stickiness of sugar and acid-rich foods during convective drying: experiments and modelling. *Journal of food Engineering* 2004, 62, p.53-68.
- [18] Manmode, A.S., Sakarkar, D., Mahajan, N., 2009, Nanoparticles Tremendous Therapeutic Potential: a Review, *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, 1(4) 1020-1027.
- [19] Lutfi Chabib, Ronny Martien, Hilda Ismail, Formulation of nanocurcumin using low viscosity chitosan polymer and its cellular up take study into T47D cells, *Indonesian J. Pharm.* Vol. 23 No. 1, 2012: 27-35.
- [20] Ganesh S Bangale, GV Shinde and Rajesh KS, Formulation and optimization of nanoparticle by 32 factorial design for colon targeting, *Global J Pharmaceu Sci*, Vol 7. Issue 1-January 2019.
- [21] Tomoko Yamaguchi, Hitoshi Takamura, Teruyoshi Matoba & Junji Terao. HPLC Method for Evaluation of the Free Radicals scavenging Activity of Foods by Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Journal Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. Vol 62, Issue 6, 2014.
- [22] Varuna Kumara JB, Basavaraj Madhusudhan. Synthesis, characterization and hemocompatibility evaluation of curcumin encapsulated chitosan nanoparticles for oral delivery. *International Journal of advance research* 2015, Vol 3, issue 4, p. 605-611.