

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cempaka (*Magnolia alba.*) adalah jenis pohon tropis yang dapat digunakan untuk berbagai keperluan. Selain bunganya, bagian kayu dan daun dari pohonnya dapat digunakan untuk bahan obat herbal. Bunga cempaka putih cukup dikenal di kalangan masyarakat, karena dipercaya dapat untuk mencegah penuaan dini. Di samping itu, tanaman cempaka putih dipercaya dapat menyembuhkan berbagai penyakit (Cheng *et al.*, 2022). Manfaat lain dari bunga cempaka ini yakni dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, antikanker dan masih banyak lagi (Lee *et al.*, 2011). Bunga cempaka putih memiliki kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, tannin, glikosida, karbohidrat, asam amino, flavonoid, dan sterol (Geetha *et al.*, 2011). Kandungan flavonoid yang terdapat pada bunga cempaka dapat bereaksi dengan radikal bebas untuk menstabilkan dan menghentikan reaksi berantai radikal bebas sehingga dapat digunakan sebagai agen antioksidan (Sinha *et al.*, 2019). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak cenderung tidak stabil dan mudah mengalami reaksi oksidasi yang diakibatkan oleh adanya pengaruh lingkungan seperti suhu, logam berat, dan cahaya sehingga menyebabkan penurunan manfaat dari flavonoid tersebut. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk melindungi keaktifan flavonoid dalam ekstrak adalah melalui teknologi nanoenkapsulasi (Novita *et al.*, 2013).

Nanoenkapsulasi adalah teknik untuk melapisi senyawa yang berupa padatan, cairan, atau gas dengan polimer berukuran 10-1000 nm. Nanoenkapsulasi dapat dibuat dengan berbagai metode, salah satunya metode gelasi ionik. Keuntungan nanoenkapsulasi meliputi adanya lapisan dinding polimer yang melindungi zat inti dari lingkungan luar, mencegah perubahan warna dan bau, mempertahankan stabilitas zat inti dalam jangka waktu lama, dan memungkinkan pencampuran dengan komponen lain yang tidak berinteraksi dengan zat inti (Jain, 2013).

Menurut penelitian sebelumnya, nanoenkapsulasi ekstrak berpengaruh terhadap kapasitas antioksidan. Ekstrak yang mengalami proses enkapsulasi

memiliki kapasitas antioksidan yang lebih tinggi (Samanez *et al.*, 2020). Teknologi nanoenkapsulasi dapat membantu menstabilkan kandungan flavonoid dalam ekstrak, sehingga kadar meningkat (Wandani *et al.*, 2020). Variasi bahan penyalut seperti kitosan dan natrium tripolifosfat (Na-TPP), memiliki pengaruh signifikan terhadap kadar flavonoid total (TFC) dan kapasitas antioksidan dalam sistem nanoenkapsulasi. Kitosan, yang dikenal karena sifatnya yang biokompatibel dan *biodegradable*, mampu membentuk partikel nano dengan Na-TPP melalui gelasi ionik. Rasio antara kitosan dan Na-TPP sangat menentukan efisiensi enkapsulasi, di mana rasio yang tepat akan menghasilkan partikel dengan ukuran yang lebih kecil, stabilitas yang lebih baik, dan peningkatan TFC serta kapasitas antioksidan (Adiletta *et al.*, 2021). Selain itu, mekanisme kedua bahan ini bekerja melalui interaksi elektrostatis, di mana ion tripolifosfat dari Na-TPP mengikat gugus amina kitosan, membentuk struktur nanopartikel yang lebih terorganisir dan stabil, yang membantu menjaga kandungan flavonoid dan mencegah degradasi akibat paparan lingkungan (Aisyah *et al.*, 2022).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa variasi konsentrasi kitosan dan Na-TPP dalam nanoenkapsulasi berpengaruh signifikan terhadap TFC dan kapasitas antioksidan. Pada rasio kitosan 1% dan Na-TPP 1%, terjadi peningkatan signifikan dalam kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan, di mana interaksi ionik antara kedua bahan ini membentuk partikel nano yang stabil dan menjaga aktivitas antioksidan lebih lama (Adiletta *et al.*, 2021). Dalam penelitian lain, rasio optimal kitosan 2% dan Na-TPP 1% menghasilkan efisiensi enkapsulasi yang lebih tinggi, dengan peningkatan TFC sebesar 15% dan kapasitas antioksidan meningkat sebesar 20% dibandingkan dengan tanpa enkapsulasi (Munoz *et al.*, 2023). Rasio ini terbukti memberikan ukuran partikel nano yang lebih kecil dan distribusi yang lebih seragam, yang sangat memengaruhi stabilitas dan efektivitas antioksidan. Selain itu, penelitian pada tanaman *Centella asiatica* yang menggunakan variasi rasio kitosan dan Na-TPP 1:1,5 menunjukkan bahwa rasio ini meningkatkan aktivitas penangkapan radikal bebas sebesar 25%, dengan efisiensi enkapsulasi mencapai 80%, yang mencerminkan pentingnya rasio yang tepat untuk hasil optimal dalam enkapsulasi (Sabaragamuwa *et al.*, 2023).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total dan kapasitas antioksidan nanoenkapsulasi ekstrak bunga cempaka putih (*Magnolia alba*) dengan variasi bahan penyalut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Manakah formula nanoenkapsulasi ekstrak cempaka putih dengan variasi bahan penyalut yang memiliki kadar flavonoid total tertinggi?
2. Apakah terdapat perbedaan kapasitas antioksidan nanoenkapsulasi ekstrak cempaka putih dengan variasi bahan penyalut?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan permasalahan dalam penelitian ini, maka tujuan dilakukan penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui formula nanoenkapsulasi ekstrak cempaka putih dengan variasi bahan penyalut yang memiliki kandungan flavonoid total nanoenkapsulasi tertinggi.
2. Untuk mengetahui perbedaan kapasitas antioksidan nanoenkapsulasi ekstrak cempaka putih dengan variasi bahan penyalut.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Memberikan kontribusi signifikan dalam pengembangan ilmu farmasi, terutama dalam bidang formulasi obat. penelitian ini juga menguatkan konsep stabilitas senyawa flavonoid dan antioksidan dalam kondisi yang tidak stabil akibat faktor lingkungan. Melalui teknologi nanoenkapsulasi, flavonoid menjadi lebih stabil dan dapat mempertahankan efektivitas antioksidan lebih lama. Hal ini memberikan wawasan tambahan tentang bagaimana senyawa bioaktif dapat dilindungi dan disalurkan secara lebih efisien melalui metode nanoenkapsulasi. Dengan demikian, penelitian ini berpotensi menjadi rujukan teoritis untuk pengembangan formulasi farmasi yang melibatkan senyawa alami dengan stabilitas rendah.

1.4.2 Manfaat praktis

Secara praktis, penelitian ini dapat diaplikasikan dalam pengembangan produk farmasi dan kosmetik yang berbasis bahan alami. Dengan nanoenkapsulasi, ekstrak bunga cempaka putih dapat digunakan dalam sediaan topikal seperti krim anti-aging atau produk kosmetik antioksidan lainnya, yang lebih stabil dan memiliki durasi aktivitas yang lebih panjang. Selain itu, hasil penelitian ini juga dapat diterapkan dalam suplemen kesehatan yang dirancang untuk meningkatkan aktivitas antioksidan dalam tubuh, membantu pencegahan penyakit degeneratif yang berhubungan dengan radikal bebas, seperti penuaan dini, penyakit jantung, dan kanker. Teknologi nanoenkapsulasi juga membuka peluang bagi produksi massal sediaan herbal dengan kontrol pelepasan yang lebih baik, sehingga meningkatkan efisiensi terapeutik dari bahan alami seperti flavonoid dalam ekstrak *Magnolia alba*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bunga Cempaka (*Magnolia alba*)



Gambar 2.1 Pohon Cempaka dan Bunga Cempaka

2.1.1 Klasifikasi bunga cempaka putih (*Magnolia alba*)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Angiosperm
Kelas	: Magnoliids
Bangsa	: Magnoliales
Suku	: Magnoliaceae
Marga	: Michelia
Jenis	: <i>Magnolia alba</i> (Cheng et al., 2022)

2.1.2 Deskripsi tanaman

Bunga cempaka putih (*Magnolia alba*) tergolong dalam famili Magnoliaceae yang hampir seluruh bagian tanaman seperti kulit kayu, daun, dan bunga dapat dimanfaatkan. Tanaman bunga cempaka putih memiliki tinggi pohon mencapai 30 m dan lebar 80-100 cm. Bunga cempaka putih cukup dikenal di kalangan masyarakat, sehingga banyak masyarakat yang menggunakan bunga cempaka karena dipercaya dapat untuk mencegah penuaan dini. Di samping itu, tanaman cempaka putih dipercaya dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Daunnya berbentuk telur taji, pada bagian bawah daun memiliki bulu-bulu halus.

Bunga berwarna putih, kuning dan krem, buahnya berbentuk jantung, kulit kayu berwarna coklat dengan panjang rantai atau tangkai daun sekitar 15-50 mm. Bunga cempaka putih (*Magnolia alba*) merupakan tanaman berbunga tahunan yang dapat tumbuh di daerah dengan kelembaban tinggi. Tanaman bunga cempaka putih mulai menghasilkan bunga pada ketinggian berkisar antara 10 hingga 15 m dan waktu berbunga biasanya dimulai pada malam hari (8–9 malam). Aroma bunganya konon menyebar dengan cepat dan luas yang akan memudar pada sore hari. Umumnya dibudidayakan di daerah tropis dan subtropis (Cheng *et al.*, 2022).

2.1.3 Kandungan kimia bunga cempaka putih

Pada hasil analisis fitokimia tanaman cempaka putih memiliki kandungan kimia antara lain alkaloid (bunga dan daun), tannin (bunga dan daun), glikosida (bunga dan daun), karbohidrat (bunga dan daun), asam amino (bunga dan daun), flavonoid (bunga dan daun) dan sterol (bunga dan daun) (Geetha *et al.*, 2011)

Tabel 2.1 Skrining Fitokimia Tanaman Cempaka

Senyawa Fitokimia	Bunga	Daun
Alkaloid	+	+
Saponin	-	-
Tannin	+	+
Glikosida	+	+
Karbohidrat	+	+
Asam Amino	+	+
Flavonoid	+	+
Sterol	+	+

Sumber: (Geetha *et al.*, 2011)

2.1.4 Manfaat bunga cempaka putih

Penelitian yang telah dilakukan oleh Ananthi *et al.*, (2013) membuktikan bahwa bunga cempaka memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan senyawa fenolik terutama disebabkan oleh sifat redoksnya, yang berperan penting dalam menyerap danmenetralkan radikal bebas. Bunga cempaka yang kaya akan kandungan flavonoid merupakan senyawa polifenol dengan susunan C6-C3-C6 sebagai kerangka dasar yang berfungsi antioksidan

(Maulida *et al.*, 2018). Penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak *Magnolia alba* menunjukkan bahwa ekstrak ini kaya akan flavonoid dan polifenol, yang merupakan senyawa antioksidan utama. Flavonoid memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas melalui donasi atom hidrogen atau elektron, sehingga dapat mengurangi potensi kerusakan oksidatif pada sel (Chaves *et al.*, 2020). Pada penelitian lain juga yang telah dilakukan oleh Pratiwi, (2023) membuktikan bahwa sediaan krim ekstrak bunga cempaka putih memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dilihat dari hasil pengujiannya memperoleh hasil nilai IC_{50} yakni pada formula I sebesar 29,721 ppm, pada formula II sebesar 25,499 ppm, dan pada formula III sebesar 25,046 ppm.

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan secara kimia dan fisika kandungan zat simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, yaitu perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Meigaria *et al.*, 2016). Pemilihan pelarut didasarkan pada kemampuan polaritas yang besar atau bersifat semipolar sehingga dapat melarutkan berbagai komponen kimia dalam sampel yang bersifat polar hingga nonpolar dalam jumlah yang maksimum (Handoyo, 2020)

Cara ekstraksi sangat mempengaruhi konsentrasi atau hilangnya efek terapi dari simplisia karena beberapa simplisia bersifat relatif stabil dan juga dapat terurai tergantung dari cara ekstraksi yang digunakan. Adapun metode-metode ekstraksi yaitu dengan metode maserasi, perkolasi, sokhletasi, reflux, dan destilasi. Jenis ekstraksi dapat digolongkan menjadi dua yakni ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas.

2.2.1 Ekstraksi cara dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai

selama tiga hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya (Destria *et al.*, 2017). Prinsip kerja dari maserasi yaitu terjadinya proses pemecahan dinding sel dan membrane sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Secara umum larutan yang digunakan dalam metode maserasi yaitu metanol dan etanol karena memiliki tingkat polaritas yang besar (Handoyo, 2020).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan salah satu metode ekstraksi dingin yang bisa dilakukan dengan cepat dan mudah. Metode perkolasi dilakukan dengan mengalirkan pelarut secara terus menerus pada serbuk. Kelebihan lain dari metode perkolasi adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut yang senantiasa baru sehingga proses ekstraksi lebih maksimal serta mencegah kerusakan senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan (Wigati *et al.*, 2018).

2.2.2 Ekstraksi cara panas

1. Soxhlet

Metode Soxhlet adalah proses ekstraksi yang kontinyu dan sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga rendemen yang dihasilkan lebih banyak. Pemanasan dapat meningkatkan kemampuan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang tidak larut dalam suhu kamar, sehingga aktivitas penarikan senyawa lebih maksimal (Wathan *et al.*, 2020).

2. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi seperti metode maserasi dengan bantuan pemanasan. Prinsip dari metode refluks adalah pelarut yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi dan didinginkan oleh kondensor sehingga pelarut dalam bentuk uap akan mengembun dan turun ke dalam wadah reaksi dalam bentuk cairan. Hal ini akan mengakibatkan pelarut yang digunakan akan tetap segar selama proses ekstraksi sehingga menghindari terjadinya kejenuhan pelarut. Selanjutnya setelah proses ekstraksi selesai, larutan disaring menggunakan kertas saring untuk

memisahkan ampasnya (Wathan *et al.*, 2020).

3. Destilasi

Destilasi adalah suatu metode pemisahan campuran yang didasarkan pada perbedaan tingkat volatilitas (kemudahan suatu zat untuk menguap) pada suhu dan tekanan tertentu. Destilasi merupakan proses fisika dan tidak terjadi adanya reaksi kimia selama proses berlangsung. Dasar utama pemisahan dengan cara destilasi adalah perbedaan titik didih cairan pada tekanan tertentu. Proses destilasi biasanya melibatkan suatu penguapan campuran dan diikuti dengan proses pendinginan dan pengembunan (Dewi *et al.*, 2018).

2.3 Nanoenkapsulasi

2.3.1 Definisi nanoenkapsulasi

Enkapsulasi merupakan teknologi yang memiliki banyak potensi untuk diaplikasikan di berbagai bidang seperti industri farmasi dan makanan. Enkapsulasi molekul bioaktif dalam skala nano disebut nanoenkapsulasi. Nanoenkapsulasi adalah teknik untuk melapisi senyawa yang bisa berupa padatan, cairan, atau gas dengan polimer berukuran 10-1000 nm. Teknik ini terutama digunakan untuk melindungi senyawa bioaktif seperti polifenol, mikronutrien, enzim, antioksidan, dan nutrasetikal dari kondisi lingkungan ekstrem selama proses dan penanganan serta untuk pelepasan terkontrol di sel target. Keuntungan nanoenkapsulasi meliputi perubahan bentuk dari cairan menjadi padat yang mudah mengalir (serbuk), peningkatan stabilitas (melindungi dari oksidasi atau reaksi lingkungan), menutupi sifat organoleptik seperti warna, rasa, dan bau bahan; menangani bahan-bahan beracun, serta *controlled release* dan *targeted release* senyawa aktif. Selain itu, nanoenkapsulasi dapat dimodifikasi untuk mekanisme pelepasan berkelanjutan (mempertahankan konsentrasi), pelepasan jangka panjang (meningkatkan efek), pelepasan terarah (meningkatkan adhesi, penetrasi, atau pengenalan jaringan dan sel), atau pelepasan yang dipicu oleh perubahan pH dan suhu lingkungan. Metode pada nanoenkapsulasi ada bermacam-macam diantaranya yakni gelasi

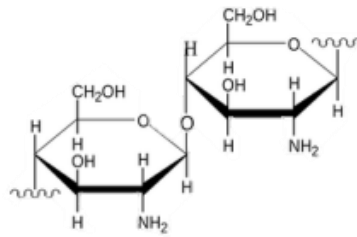
ionik, *freeze drying*, *emulsi-solvent evaporation* (Novita *et al.*, 2013).

2.3.2 Bahan Penyalut

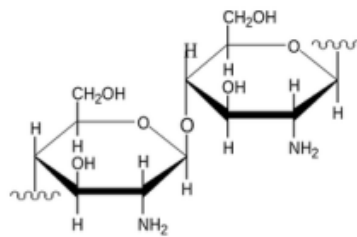
Bahan penyalut adalah suatu bahan yang dapat bercampur secara kimia dengan bahan inti (zat yang disalut), tidak bereaksi terhadap bahan inti serta dapat membentuk lapisan di sekitar bahan inti (Agustin *et al.*, 2023). Polimer atau lapisan penyalut yang digunakan, seperti kitosan, memiliki karakteristik yang menguntungkan. Kitosan, sebagai contoh, bersifat mudah terdegradasi dalam tubuh karena sifatnya yang *biodegradable*. Selain itu, kitosan juga bersifat biokompatibel dengan jaringan tubuh, tidak bersifat toksik, dan mampu mengatur pelepasan bahan obat. Kitosan berperan sebagai polimer kationik yang dapat berinteraksi dengan anion multivalen seperti natrium alginat (Aisyah *et al.*, 2022).

Natrium tripolifosfat juga dapat digunakan sebagai polianion penyambung silang untuk kitosan. Senyawa ini, yang merupakan agen penyambung silang yang tidak bersifat toksik, berinteraksi dengan gugus kationik pada kitosan melalui gaya elektrostatis. (Wandani *et al.*, 2020).

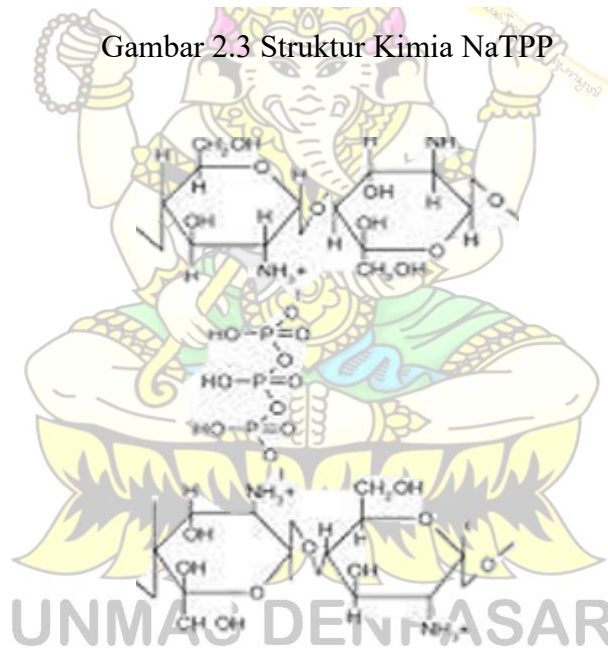
Menurut penelitian dari Ramadhia *et al.*, (2012), menyatakan bahwa pemakaian kitosan sebagai salah satu bahan penyalut, dapat melapisi serta melindungi senyawa utama seperti senyawa fenol yang dapat berkurang dengan suhu pemanasan yang tinggi. Prinsip kerja dari kitosan ialah membentuk lapisan dan memiliki kemampuan pengikatan fenol yang baik. Mekanisme interaksi antara kitosan dan natrium tripolifosfat (Na-TPP) melibatkan proses gelasi ionik, di mana ion Na-TPP bertindak sebagai agen penyambung silang dengan kitosan. Ion tripolifosfat (TPP) berikatan dengan gugus amina pada rantai kitosan melalui gaya elektrostatis, membentuk struktur nanopartikel yang stabil. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa penggunaan Na-TPP sebagai agen *cross-linking* pada serat kitosan meningkatkan kekuatan mekanik dan stabilitas struktur yang dihasilkan, sehingga sesuai untuk aplikasi dalam formulasi farmasi dan biomedis, seperti sistem penghantaran obat dan bahan penutup luka (Hernandez *et al.*, 2024).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Kitosan



Gambar 2.3 Struktur Kimia NaTPP



Gambar 2.4 Struktur Kimia Ikatan Silang Kitosan-NaTPP

2.4 Monografi Bahan

2.4.1 Metanol

Cairan tidak berwarna, jernih, mudah menguap dan mudah bergerak, bau khas rasa panas, mudah terbakar dan memberikan nyala biru yang tidak berasap. Dapat disimpan dalam wadah tertutup rapat, terhindar dari cahaya, ditempatkan sejuk jauh dari nyala api (Rowe *et al.*, 2006).

Metanol dipilih sebagai pelarut karena merupakan pelarut polar yang umum digunakan untuk mengekstraksi senyawa fenolik dari tumbuhan dan tanaman herbal serta dapat menarik senyawa polar, non polar, dan semi polar (Rifai *et al.*, 2018). Metanol juga dapat melarutkan senyawa golongan fenol (asam fenolik, flavonoid, alkaloid, tannin dan lignin) (Yuliarni *et al.*, 2022). Pada penelitian yang dilakukan (Vivek Kumaret *et al.*, 2011) dengan membandingkan beberapa pelarut seperti eter, benzena, kloroform, etanol, dan metanol menunjukkan bahwa kadar flavonoid total tertinggi diperoleh dari ekstrak yang menggunakan pelarut metanol. Penelitian lain yang dilakukan sebelumnya yang dilakukan Pratiwi (2023), penggunaan pelarut metanol pada ekstrak bunga cempaka memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan pelarut etanol dan eter. Dimana ditunjukkan dengan hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak dengan pelarut metanol yakni nilai IC_{50} sebesar 117,15 $\mu\text{g/ml}$.

2.4.2 Kitosan

Kitosan berbentuk serpihan putih kekuningan, tidak berbau, dan tidak berasa. Kitosan tidak larut dalam air, aseton, larutan basa kuat, asam sulfat, dan pelarut organik seperti alkohol, aseton, dimetilformamida, dan dimetilsulfoksida, sedikit larut dalam asam klorida dan asam asetat, serta larut dalam larutan asam organik pada pH 4. Kitosan disimpan dalam wadah tertutup baik dan terlindungi dari cahaya (Rowe *et al.*, 2006). Kitosan sebagai biopolimer memiliki peran penting dalam meningkatkan stabilitas dan pelepasan terkontrol flavonoid melalui proses nanoenkapsulasi. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa variasi konsentrasi kitosan dapat mempengaruhi efisiensi enkapsulasi flavonoid, di mana peningkatan konsentrasi kitosan umumnya meningkatkan stabilitas dan aktivitas antioksidan ekstrak yang dihasilkan. Kombinasi antara kitosan dengan Na-TPP sebagai agen penyambung silang, menyebabkan terbentuknya nanopartikel yang lebih stabil secara struktur dan meningkatkan TFC serta kapasitas antioksidannya. Penggunaan metode gelasi ionik ini juga menghasilkan partikel dengan ukuran yang lebih kecil dan distribusi yang lebih merata (Vazquez *et al.*, 2024).

2.4.3 Natrium Tripolifosfat

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 Shin *et al.*, (2008) menyatakan 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.

Berdasarkan penelitian Purwandari *et al.*, (2022), menunjukkan bahwa ukuran partikel pada semua formula terus meningkat seiring dengan penambahan jumlah NaTPP. NaTPP berperan sebagai agen pengikat silang, dimana semakin banyak NaTPP yang ditambahkan, maka semakin banyak kitosan yang terikat silang. Selanjutnya penelitian yang dilakukan oleh Dewayanti *et al.*, (2023), menunjukkan semua formula memiliki ukuran nanopartikel berada dalam rentang 1-1000 nm. Pada F1, ukuran yang diperoleh adalah $142,3 \pm 8,76$ nm, F2 menghasilkan ukuran $163,13 \pm 15,82$ nm, dan F3 menghasilkan ukuran $724,97 \pm 51,58$ nm.

Berdasarkan penelitian Rofiqah *et al.*, (2021) mengenai enkapsulasi, senyawa flavonoid dengan Na-TTP menunjukkan hasil bahwa nilai TFC tertinggi diperoleh pada konsentrasi etanol 50% selama proses ekstraksi selama dua jam, dengan nilai TFC mencapai 2,888 gram/mL. Hal ini menunjukkan bahwa proses enkapsulasi dengan Na-TTP efektif dalam melindungi senyawa flavonoid, sehingga dapat mempertahankan kapasitas antioksidan selama penyimpanan. Pada spektrum FT-IR, hasil menunjukkan adanya kelompok fenol yang mengindikasikan keberadaan flavonoid dalam ekstrak. Dengan demikian, Natrium Tripolifosfat tidak hanya membantu dalam proses enkapsulasi tetapi juga berperan penting dalam stabilitas dan efektivitas aktivitas antioksidan dari flavonoid dalam biji Kepel yang dienkapsulasi.

2.4.4 Asam Klorida

Cairan tidak berwarna, berasap, bau merangsang, jika diencerkan dengan 2 bagian volume air, asap hilang. Bobot jenis lebih kurang 1,18. Dapat disimpan dalam wadah tertutup rapat (Rowe *et al.*, 2006).

2.4.5 Asam Asetat Glasial

Asam Asetat Glasial mengandung tidak kurang dari 99,5% dan tidak lebih dari 100,5% b/b $C_2H_4O_2$. Cairan jernih, tidak berwarna; bau khas, menusuk; rasa asam jika diencerkan dengan air. Mendidih pada suhu lebih kurang 118° . Bobot jenis lebih kurang 1,05. Dapat bercampur dengan air, dengan etanol dan dengan gliserol. Disimpan dalam wadah tertutup rapat, pada suhu ruang (Rowe *et al.*, 2006).

2.4.6 Akuadest

Cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak mempunyai rasa. Larut dalam pelarut polar. Dapat disimpan dalam wadah yang tertutup baik dan terlindungi dari Cahaya (Rowe *et al.*, 2006).

2.5 Flavonoid

Flavonoid adalah metabolit sekunder dari polifenol yang banyak ditemukan dalam tanaman dan makanan, dengan berbagai efek bioaktif seperti antivirus, anti-inflamasi, kardioprotektif, antidiabetes, antikanker, antipenuaan, dan antioksidan. Flavonoid adalah senyawa polifenol dengan 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, yaitu dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) yang dihubungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Flavonoid termasuk dalam keluarga polifenol yang larut dalam air dan bersifat polar, sehingga larut dengan baik dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dan dimetilformamida. Karena flavonoid sering terikat dalam bentuk glikosida, campuran pelarut tersebut dengan air adalah pelarut yang baik untuk flavonoid glikosida. Sedangkan dalam bentuk aglikon seperti flavon, flavonol, dan flavanon, flavonoid lebih mudah larut dalam pelarut seperti kloroform dan eter (Arifin *et al.*, 2018).

Penentuan kadar flavonoid total (TFC) penting dilakukan untuk memaksimalkan penggunaan senyawa flavonoid sebagai bahan pengobatan dalam

penyembuhan berbagai penyakit. Pengukuran ini dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid memiliki sistem aromatik terkonjugasi yang menghasilkan pita serapan kuat di spektrum ultraviolet dan cahaya tampak, memungkinkan identifikasi kadar flavonoid dengan akurat (Roskiana *et al.*, 2015).

Pengukuran kadar flavonoid total biasanya dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri yang berbasis pada reaksi kompleksasi flavonoid dengan aluminium klorida ($AlCl_3$). Prosedurnya melibatkan ekstraksi flavonoid dari sampel menggunakan pelarut seperti metanol atau etanol, diikuti oleh pengukuran absorbansi larutan pada panjang gelombang tertentu (biasanya sekitar 415 nm). Penambahan $AlCl_3$ dalam sampel dapat membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa-senyawa flavonoid, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visibel (tampak) yang ditandai dengan larutan berwarna lebih kuning (Haeria, Hermawati, 2016). Dalam nilai absorbansi tersebut kemudian dibandingkan dengan kurva standar dari senyawa flavonoid murni, seperti kuersetin, untuk menentukan kadar flavonoid dalam sampel (Ghafar *et al.*, 2017).

Hasil pengukuran TFC biasanya dinyatakan dalam satuan mg QE (Kuersetin Ekuivalen) per gram sampel. Makin tinggi nilai TFC, makin besar potensi antioksidan yang dimiliki oleh sampel tersebut (Ghafar *et al.*, 2017).

2.6 Kapasitas Antioksidan

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat besarnya kapasitas antioksidan dari ekstrak. Pengukuran kapasitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan reagen DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), yang merupakan radikal bebas yang menerima sebuah elektron atau hidrogen untuk diubah menjadi molekul diamagnetik. Prinsip kerja pada metode ini yaitu penangkapan radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen dari senyawa antioksidan pada radikal bebas DPPH (Kina *et al.*, 2018).

Uji DPPH menjadi sangat populer karena metode ini sederhana, cepat, dan relatif murah dibandingkan dengan metode lain yang digunakan untuk menilai kapasitas antioksidan. Namun, meskipun banyak digunakan, hasil dari uji DPPH sangat bergantung pada kondisi percobaan, seperti waktu reaksi dan konsentrasi

larutan, yang sering kali belum distandardisasi dengan baik di berbagai penelitian (Yamauchi *et al.*, 2024). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa struktur dan jumlah gugus hidroksil dalam molekul senyawa fenolik memiliki korelasi yang signifikan dengan kapasitas penangkap radikal DPPH. Semakin banyak gugus hidroksil yang ada, biasanya semakin tinggi kapasitas antioksidan senyawa tersebut, meskipun ada pengecualian tertentu yang bergantung pada struktur kimia senyawa itu sendiri (Yamauchi *et al.*, 2024).

DPPH dikarakterisasi sebagai radikal bebas yang stabil karena adanya delokalisasi elektron cadangan yang tersebar merata di seluruh molekul. Delokalisasi ini memberikan kestabilan pada molekul, sehingga molekul DPPH tidak mengalami proses dimerisasi, yang umumnya terjadi pada sebagian besar radikal bebas lainnya. Selain itu, delokalisasi elektron ini juga menyebabkan molekul DPPH memiliki warna ungu tua yang khas, yang diidentifikasi melalui pita serapan dalam larutan etanol pada panjang gelombang sekitar 517 nm. Ketika larutan DPPH dicampur dengan larutan yang mengandung zat yang mampu menyumbangkan atom hidrogen, DPPH akan mengalami reaksi reduksi yang mengakibatkan hilangnya warna ungu tersebut. Meskipun demikian, setelah reduksi, larutan mungkin masih menampilkan sedikit warna kuning pucat yang berasal dari gugus pikril yang masih ada dalam struktur molekul (Molyneux, 2004).

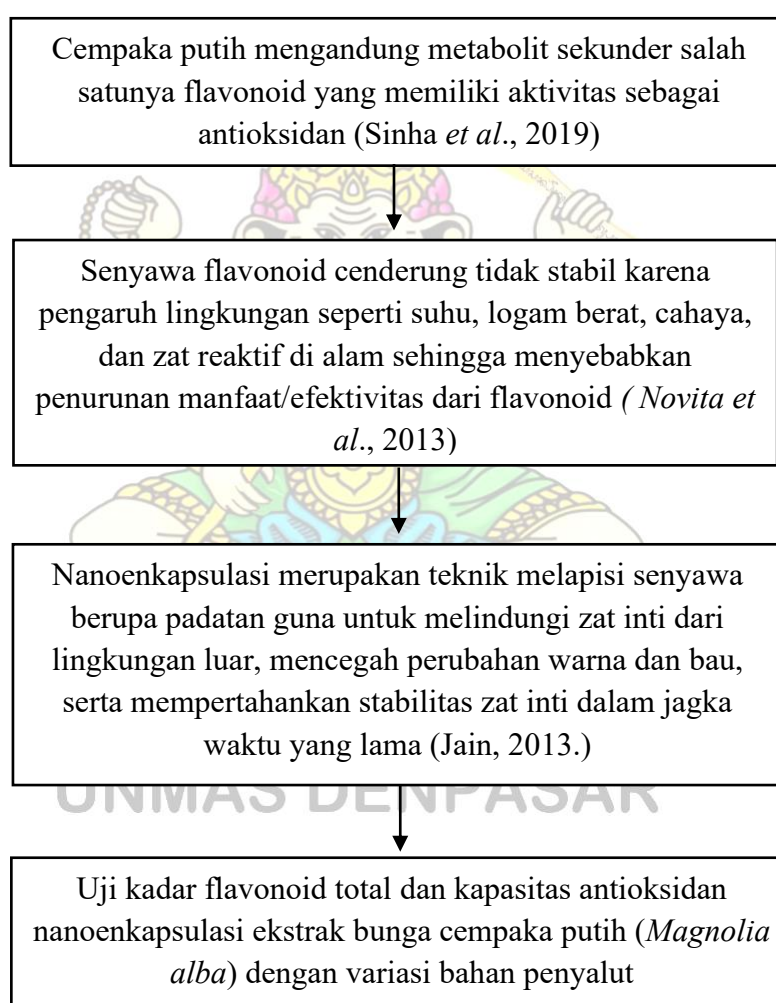
2.7 Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah *One Way Anova*. Uji *One Way Anova* adalah teknik analisis multivariat yang dapat menganalisis data eksperimen yang dirancang untuk membandingkan 2 kelompok data atau lebih. Uji *One Way Anova* biasanya dapat dikenal dengan nama lain seperti sidik ragam, analisis ragam, dan analisis varian. Uji *One Way Anova* termasuk ke dalam kategori statistik parametrik, yang sebelum menggunakannya harus melalui uji normalitas terlebih dahulu. *Homogeneity of variance* merupakan variabel dependen yang harus memiliki varian yang sama dalam setiap kategori variabel independen (Gozali *et al.*, 2019). Pada analisis statistik H1 menyatakan terdapat perbedaan signifikan rata-rata sampel yang ada, sedangkan H0 tidak terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata sampel yang ada. Apabila H0 ditolak

yang ditandai dengan nilai $p < 0,05$, maka dilakukan analisis lanjutan untuk mengetahui formula mana yang memiliki perbedaan signifikan dengan analisis yang disebut dengan *Post Hoc*. Namun apabila data tidak terdistribusi normal, maka digunakan analisis uji alternatif yang disebut dengan *Kruskal Wallis* (Tarigan *et al.*, 2021).

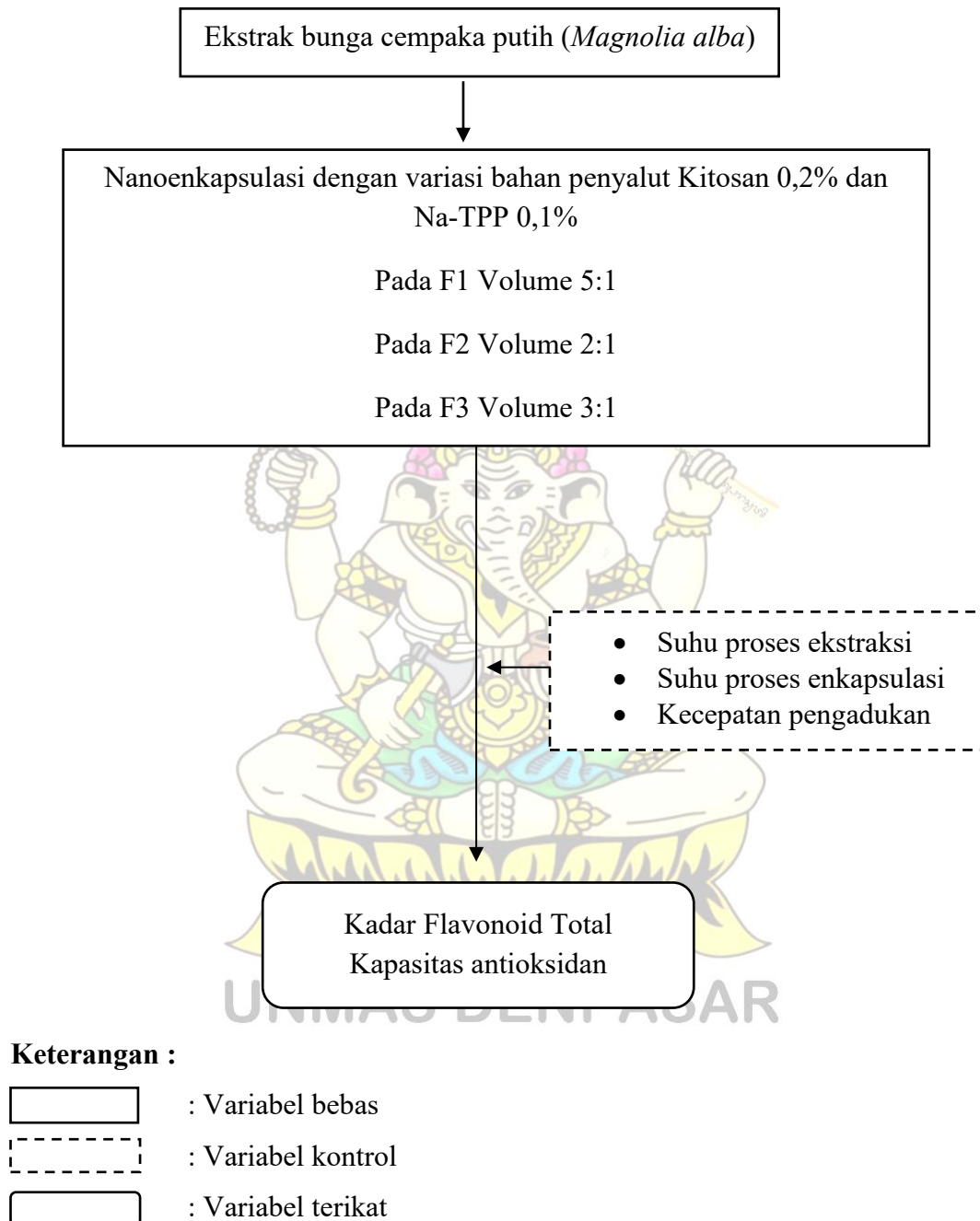
2.8 Kerangka Konseptual

2.8.1 Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka Teori

2.8.2 Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis

1. Diduga nanoenkapsulasi formula I memiliki kadar flavonoid total tertinggi.
2. Diduga terdapat perbedaan kapasitas antioksidan nanoenkapsulasi ekstrak bunga cempaka putih dengan variasi bahan penyalut.

