

SINTESIS DAN KARAKTERISASI NANOENKAPSULASI SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) BERBASIS KARBOKSIMETIL KITOSAN

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF SAMBILOTO (*Andrographis Paniculata*) NANOENCAPSULATION BASED ON CARBOXYMETHYL CHITOSAN

Khulud Rihadatul 'Aisy dan Sari Edi Cahyaningrum*

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences

Universitas Negeri Surabaya

Jl. Ketintang, Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

*Corresponding author, email: saricahyaningrum@unesa.ac.id

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis dan mengkarakterisasi nanoenkapsulasi ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) berbasis karboksimetil kitosan guna meningkatkan bioavailabilitas senyawa bioaktif. Ekstrak sambiloto diperoleh melalui maserasi menggunakan metanol dan dienkapsulasi dengan karboksimetil kitosan menggunakan metode ultrasonikasi. Hasil karakterisasi menggunakan Particle Size Analyzer menunjukkan ukuran partikel sebesar 492,19 nm dengan indeks polidispersitas (PDI) 0,3464 sehingga telah memenuhi kriteria nanopartikel yang baik dalam sistem penghantaran obat. Uji stabilitas pH menunjukkan bahwa nanoenkapsulasi sambiloto memiliki stabilitas yang relatif baik. Hal tersebut menunjukkan bahwa nanoenkapsulasi berbasis karboksimetil kitosan berpotensi dalam melindungi senyawa bioaktif dalam sistem pencernaan.

Kata kunci : *Andrographis paniculata*, nanoenkapsulasi, dan karboksimetil kitosan

Abstract. This study aims to synthesize and characterize the nanoencapsulation of sambiloto (*Andrographis paniculata*) extract based on carboxymethyl chitosan to improve the bioavailability of bioactive compounds. The sambiloto extract was obtained by maceration using methanol and subsequently encapsulated with carboxymethyl chitosan using ultrasonication method. Characterization results using a Particle Size Analyzer showed a particle size of 492.19 nm with a polydispersity index (PDI) of 0.3464, thus meeting the criteria for good nanoparticles in drug delivery systems. The pH stability test showed that the encapsulated sambiloto had relatively good stability. This suggests that carboxymethyl chitosan-based nanoencapsulation has the potential to protect bioactive compounds in the digestive system.

Key words: *Andrographis paniculata*, nanoencapsulation, and carboxymethyl chitosan.

PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif telah menjadi salah satu permasalahan kesehatan utama. Penyakit ini meliputi kanker, stroke, diabetes, hipertensi, dan penyakit sendi. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 menunjukkan bahwa prevalensi penyakit degeneratif di Indonesia juga masih tinggi, yaitu mencapai 65,7% [1]. Salah satu pemicu penyakit degeneratif adalah stress

oksidatif yang diakibatkan oleh tingginya jumlah radikal bebas dalam tubuh, sehingga peran antioksidan bagi kesehatan sangatlah penting [2].

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) merupakan salah satu tanaman yang mengandung antioksidan. Penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak metanol sambiloto telah dilakukan oleh Benjamin dan Kayode dengan IC₅₀ sebesar 0,15 mg/mL [3]. Aktivitas antioksidan sambiloto disebabkan adanya berbagai kandungan

senyawa bioaktif seperti fenol, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid [4]. Salah satu golongan senyawa flavonoid dalam sambiloto yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi adalah quercetin. Penelitian oleh Priyanga K dan Vijayalakshmi K menunjukkan bahwa quercetin memiliki IC_{50} sebesar 19,3 $\mu\text{g/mL}$ yang tergolong dalam antioksidan kuat ($<50 \mu\text{g/mL}$) [5, 6].

Senyawa bioaktif termasuk quercetin umumnya diserap secara optimum di usus halus. Namun, adanya pengaruh pH yang cukup ekstrim dalam sistem pencernaan mengakibatkan ketidakstabilan atau pelepasan dini dari senyawa bioaktif [7]. Hal ini menyebabkan senyawa bioaktif sambiloto memiliki bioavailabilitas yang rendah [8]. Upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan bioavailabilitas adalah melalui nanoenkapsulasi. Adanya nanoenkapsulasi juga diharapkan dapat menjaga stabilitas senyawa bioaktif dari pengaruh lingkungan selama masa penyimpanan.

Dalam nanoenkapsulasi, polimer alami dipilih dikarenakan tidak beracun dan lebih kompatibel [9]. Menurut penelitian Ngadiwiyana *et al.*, kitosan merupakan polimer alami yang memiliki efisiensi enkapsulasi yang tinggi sebesar 84,93% [10]. Kitosan juga memiliki kelebihan yaitu sifat biokompatibel, biodegradabel, tidak beracun, serta antimikroba [11]. Namun, kitosan larut dalam keadaan asam ($\text{pH} < 6,5$) serta tidak larut dalam pH netral atau basa sehingga kurang cocok untuk digunakan dalam penghantaran obat dengan target pelepasan di usus halus. Salah satu turunan dari kitosan yang dapat larut dalam pH netral dan basa ($\text{pH} \geq 7$) adalah karboksimetil kitosan dikarenakan adanya gugus karboksil dalam strukturnya [12, 13]. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan sintesis nanoenkapsulasi sambiloto berbasis karboksimetil kitosan dengan harapan dapat melindungi senyawa bioaktif dari perubahan pH dalam sistem pencernaan dan mampu melepaskan senyawa bioaktif pada target usus halus dengan lebih optimum.

METODE PENELITIAN

Bahan

Beberapa bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia sambiloto, N-karboksimetil kitosan, aquades, metanol, quercetin (Sigma-Aldrich), NaOH, dan HCl 37% Merck, KOH, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck), dan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck).

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas kimia, labu ukur, botol vial, pipet tetes, *rotatory evaporator* (Buchi Rotavapor R-300), *ultrasonicator bath* (Elmasonic S 30/(H)), membran dialisis 14kDa (Carolina Biological USA), *Visking Tubing* (1 m Ward's Science) *magnetic stirrer* (DLAB MS-PA), *spray dryer*, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800), dan *Particle Size Analyzer* (PSA Zetasizer Nano ZS, Malvern, UK)

Prosedur Penelitian

Pembuatan Ekstrak Sambiloto

Sebanyak 1 kg simplisia sambiloto dihaluskan dan dimaserasi menggunakan metanol selama 1x24 jam dengan perbandingan 1:1. Maserasi diulang sebanyak 3 kali. Ekstrak yang sudah disaring kemudian dipekatkan menggunakan evaporator suhu 50°C selama 10 jam. Rendemen dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100$$

Sintesis Nanoenkapsulasi Sambiloto

Sebanyak 100 mg ekstrak metanol sambiloto dilarutkan dalam 5 mL metanol. Kemudian ditambahkan larutan karboksimetil kitosan yang dibuat dengan cara melarutkan 200 mg karboksimetil kitosan dalam 100 mL aquades. Larutan karboksimetil kitosan dan ekstrak sambiloto dihomogenkan selama 15 menit, kemudian disonikasi selama 30 menit. Sampel serbuk diperoleh dengan *spray dry* dengan pada 160°C dan flow rate 20 mL/menit. Sampel kemudian dikarakterisasi menggunakan PSA.

Uji Stabilitas pH

Uji stabilitas pH (2-10) dilakukan pada ekstrak sambiloto dan nanoenkapsulasi sambiloto selama 7 hari pada suhu ruang. Analisis panjang gelombang maksimum dan absorbansi kemudian dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Sambiloto

Simplisia sambiloto yang dimaserasi dengan metanol meliputi bagian daun dan batang. Menurut penelitian Naomi *et al.* metanol mampu mengekstraksi quercetin lebih baik dibandingkan

dengan etanol, sehingga dalam penelitian ini maserasi dilakukan dengan pelarut metanol [14]. Pada penelitian ini, dihasilkan 90 gram ekstrak kental sambiloto dari 1 kg berat simplisia, sehingga diperoleh rendemen sebesar 9%.

Sintesis Nanoenkapsulasi Sambiloto

Sintesis nanoenkapsulasi sambiloto dilakukan menggunakan metode ultrasonikasi. Adanya gelombang ultrasonik akan menciptakan gelembung kecil dalam larutan yang bergerak bebas sehingga mengakibatkan bahan aktif terdispersi ke dalam partikel nano. Sintesis dilakukan dengan melarutkan 100 mg ekstrak ke dalam 5 mL metanol. Selanjutnya, ditambahkan 100 mL larutan karboksimetil kitosan dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Kemudian, dilakukan ultrasonikasi selama 30 menit. Untuk memperoleh sampel dalam bentuk serbuk, larutan kemudian dikeringkan menggunakan metode *spray drying*.

Metode *spray drying* dipilih dikarenakan kemampuannya menguapkan pelarut metanol secara efisien. Berbeda dengan metode konvensional seperti evaporator yang memerlukan pemanasan dalam waktu lama, *spray drying* hanya memaparkan bahan pada suhu tinggi dalam waktu singkat sehingga senyawa bioaktif lebih terjaga dari kerusakan.

Karakteristik Nanoenkapsulasi Sambiloto

Karakterisasi nanoenkapsulasi sambiloto diukur menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Pada sistem penghantaran obat, semakin kecil ukuran partikel dapat mempermudah penyerapan obat. Nanopartikel obat yang baik memiliki ukuran pada kisaran 1-500 nm [15]. Selain ukuran partikel, dari PSA juga diperoleh data indeks polidispersitas (PDI). Nilai PDI 0 menunjukkan sampel memiliki ukuran yang sama, sedangkan nilai PDI >0,7 menunjukkan distribusi ukuran partikel yang luas [16].

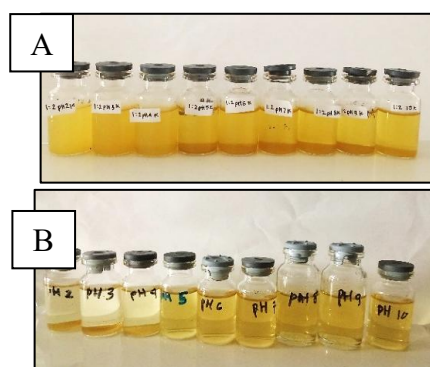
Data ukuran partikel dan PDI dari nanoenkapsulasi sambiloto dituliskan dalam tabel 1. Nanoenkapsulasi sambiloto memiliki ukuran partikel dibawah 500 nm sehingga masih termasuk ke dalam nanopartikel yang baik. Selain itu, nanoenkapsulasi sambiloto juga memiliki indeks polidispersitas <0,7 yang menunjukkan bahwa sampel memiliki keseragaman ukuran yang relatif baik.

Tabel 1. Hasil ukuran partikel dan PDI nanoenkapsulasi sambiloto.

Parameter	Nilai
Ukuran Partikel (nm)	492,19
Indeks Polidispersitas (PDI)	0,3464

Stabilitas pH Nanoenkapsulasi Sambiloto

Uji stabilitas dilakukan untuk mengetahui pengaruh pH terhadap stabilitas ekstrak dan nanoenkapsulasi sambiloto. Uji stabilitas penting dilakukan untuk mengetahui keadaan sampel pada kondisi lingkungan pencernaan dan penyimpanan. Pada uji ini pH yang digunakan berada pada rentang 2-10, larutan kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.



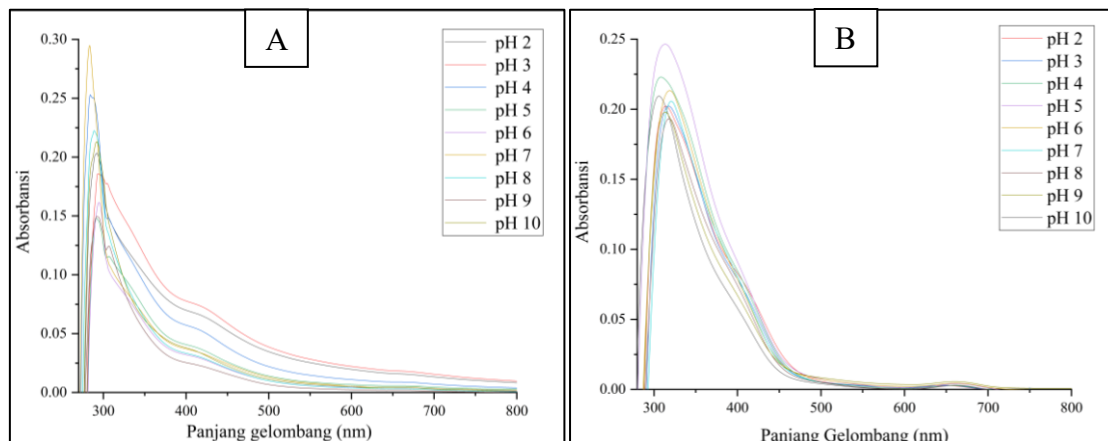
Gambar 1. Stabilitas pH (A) nanoenkapsulasi sambiloto (B) Ekstrak sambiloto

Spektrum UV-Vis nanoenkapsulasi sambiloto dapat diamati pada gambar 2A. Larutan memiliki pH dasar 5 (292 nm). Pergeseran hipsokromik diamati terjadi pada pH 4 serta 7 yang berada pada 284 nm, namun secara umum panjang gelombang relatif stabil pada 290-294 nm. Perubahan intensitas absorbansi juga memunculkan efek hiperkromik pada pH 4, 7, serta 8. Pada gambar 2B dapat diamati spektrum UV-Vis dari ekstrak sambiloto. Spektrum menunjukkan perubahan panjang gelombang maksimum dari 306-321 nm. Larutan memiliki pH dasar 6 (319 nm). Efek hipsokromik yang signifikan terjadi pada pH 4 (308 nm), 9 (313 nm), dan 10 (306 nm). Pergeseran panjang gelombang maksimum ini disebabkan karena pada pH 4 quercetin berada dalam bentuk protonasinya, sedangkan pada pH 9 dan 10 quercetin mengalami deprotonasi [17].

Adanya pergeseran panjang gelombang tersebut dikaitkan dengan adanya degradasi atau aglomerasi yang menunjukkan ketidakstabilan [18, 19]. Pergeseran panjang gelombang pada

ekstrak sambiloto secara signifikan lebih besar apabila dibandingkan dengan nanoenkapsulasi sambiloto. Oleh karena itu, nanoenkapsulasi sambiloto dinilai cukup efektif dalam melindungi senyawa bioaktif dalam berbagai keadaan pH. Nanoenkapsulasi sambiloto menunjukkan

kestabilan yang baik terutama pada lingkungan yang sangat asam (pH 2-3) dan basa. Hal ini dikarenakan adanya matriks karboksimetil kitosan mampu melindungi senyawa bioaktif dari pengaruh lingkungan secara langsung, sehingga tidak mengalami degradasi secara signifikan.



Gambar 2. Pengaruh pH terhadap (A) nanoenkapsulasi sambiloto (B) Ekstrak sambiloto

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah nanoenkapsulasi sambiloto yang disintesis memiliki ukuran partikel 429,19 nm dan indeks polidispersitas (PDI) 0,3464 sehingga memenuhi kriteria nanopartikel yang ideal dalam sistem penghantaran obat. Selain itu, uji stabilitas pH telah menunjukkan bahwa nanoenkapsulasi memiliki stabilitas yang relatif baik dibandingkan dengan ekstrak sehingga cocok digunakan dalam penghantaran obat dengan target usus halus. Nanoenkapsulasi juga menunjukkan stabilitas yang baik pada kondisi asam dan basa, ditandai dengan tidak adanya pergeseran signifikan pada panjang gelombang maksimum. Hal ini mengindikasikan bahwa sistem ini mampu melindungi senyawa bioaktif dari kerusakan akibat pengaruh lingkungan baik selama proses pencernaan maupun penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fatmasari et al. (2021) 'Peningkatan Derajat Kesehatan Dan Pembinaan Umkm di Kelurahan Gunung Anyar Lor Surabaya', *Jurnal Penamas Adi Buana*, 5(01), pp. 79–88.
2. Bakheit, A.H. et al. (2024) 'Theoretical study of the antioxidant mechanism and structure-activity relationships of 1,3,4-

oxadiazol-2-ylthieno[2,3-d]pyrimidin-4-amine derivatives: a computational approach', *Frontiers in Chemistry*, 12. Available at:

<https://doi.org/10.3389/fchem.2024.1443718>.

3. Benjamin, O.O. and Kayode, O.K. (2023) 'Antioxidant activities and GC-MS profiling of fractions of methanol extract of *Andrographis paniculata*', *African Journal of Biotechnology*, 22(8), pp. 138–145. Available at: <https://doi.org/10.5897/AJB2023.17545>.
4. Bhatnagar, A. (2023) 'Phytochemical screening of *Andrographis paniculata* (Burm.F.) Nees Leaf and Stem Extract', *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 12(4), pp. 05–08. Available at: <https://doi.org/10.22271/phyto.2023.v12.i4c.14686>.
5. Priyanga K, S. and K, V. (2017) 'Investigation of Antioxidant Potential of Quercetin and Hesperidin: an In Vitro Approach', *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(11), p. 83. Available at: <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i11.20260>.
6. Sukandar, D. et al. (2017) 'Isolation and Structure Determination of Antioxidants

- Active Compounds from Ethyl Acetate Extract of Heartwood Namnam (*Cynometra cauliflora* L.)', *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 19(1), pp. 11–17. Available at: <https://doi.org/10.14203/jkti.v19i1.325>.
7. Chen, J. *et al.* (2020) 'Antioxidant activity and stability of the flavonoids from *Lycium barbarum* leaves during gastrointestinal digestion in vitro', *International Journal of Food Engineering*, 16(7). Available at: <https://doi.org/10.1515/ijfe-2019-0315>.
8. Loureiro Damasceno, J.P. *et al.* (2022) 'Andrographis paniculata Formulations: Impact on Diterpene Lactone Oral Bioavailability', *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 47(1), pp. 19–30. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13318-021-00736-7>.
9. Remiro, P. de F.R. *et al.* (2022) 'Polymeric Biomaterials for Topical Drug Delivery in the Oral Cavity: Advances on Devices and Manufacturing Technologies', *Pharmaceutics*, 15(1), p. 12. Available at: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010012>.
10. Ngadiwiyana *et al.* (2017) 'Cinnamomum casia Extract Encapsulated Nanochitosan as Antihypercholesterol', *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 172, p. 012035. Available at: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/172/1/012035>.
11. Yadav, M. *et al.* (2023) 'Advances and challenges in the use of chitosan and its derivatives in biomedical fields: A review', *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 5, p. 100323. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100323>.
12. Kalliola, S. *et al.* (2018) 'Carboxymethyl Chitosan and Its Hydrophobically Modified Derivative as pH-Switchable Emulsifiers', *Langmuir*, 34(8), pp. 2800–2806. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b03959>.
13. Agarwal, T. *et al.* (2023) 'Chitosan and its derivatives in 3D/4D (bio) printing for tissue engineering and drug delivery applications', *International Journal of Biological Macromolecules*, 246, p. 125669. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125669>.
14. Naomi, R. *et al.* (2022) 'Mechanisms of Natural Extracts of *Andrographis paniculata* That Target Lipid-Dependent Cancer Pathways: A View from the Signaling Pathway', *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), p. 5972. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms23115972>.
15. Nugroho, B. *et al.* (2025) 'Biopolymer Nanoencapsulation of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and Carboxymethyl Chitosan for Dengue Therapy', *Tropical Journal of Natural Product Research*, 9(1). Available at: <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v9i1.24>.
16. Wardana, A.P. *et al.* (2023) 'Nano *Uncaria gambir* as Chemopreventive Agent Against Breast Cancer', *International Journal of Nanomedicine*, Volume 18, pp. 4471–4484. Available at: <https://doi.org/10.2147/IJN.S403385>.
17. Chebotarev, A.N. and Snigur, D. V. (2015) 'Study of the acid-base properties of quercetin in aqueous solutions by color measurements', *Journal of Analytical Chemistry*, 70(1), pp. 55–59. Available at: <https://doi.org/10.1134/S1061934815010062>.
18. González, A.L. *et al.* (2014) 'Size, Shape, Stability, and Color of Plasmonic Silver Nanoparticles', *The Journal of Physical Chemistry C*, 118(17), pp. 9128–9136. Available at: <https://doi.org/10.1021/jp5018168>.
19. Mulenos, M.R. *et al.* (2020) 'Silver Nanoparticles Agglomerate Intracellularly Depending on the Stabilizing Agent: Implications for Nanomedicine Efficacy', *Nanomaterials*, 10(10), p. 1953. Available at: <https://doi.org/10.3390/nano10101953>.