

## Comparison of antioxidant activities of tespong herbal (*Oenanthe javanica* DC.) extract and nanoextract using DPPH method

### Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak dan nanoekstrak herba tespong (*Oenanthe javanica* DC.) dengan metode DPPH

In Rahmi Fatria Fajar<sup>1\*</sup>, Dewi Rahma Fitri<sup>1</sup>, Nisa Fitriyani<sup>1</sup>, Michael Chuanvin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmacy, Institut Sains dan Teknologi Al-Kamal, Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup> Soochow University, China

\*Corresponding author: [inrahmi14@gmail.com](mailto:inrahmi14@gmail.com)

---

#### Abstract

**Background:** Tespong herbs (*O. javanica* DC.) contain numerous chemical compounds considered beneficial for medications, including flavonoids, phenols, and tannins, which can function as antioxidants. Nanoparticles are materials with a size range of 1-1000 nanometers which can increase the bioavailability of drugs, thus accelerating the drug delivery system in the body.

**Objective:** The aim of this study is to identify the characteristics of herbal extract and nanoextract of Tespong and to compare their antioxidant activity.

**Methods:** Extraction of tespong herbs was done using maceration for three days, nanoextract was formulated using the ionic gelation method with herbal extract of tespong, chitosan, and Na-TPP. Antioxidant activity testing was carried out using the DPPH method.

**Results:** The water content of tespong herbal extract was 1.78%, and the total ash content was 4.95%. The tespong herbal nanoextract was 148.1nm in diameter with a polydispersity index of 0.362 and a zeta potential value of -39.16 mV. The IC<sub>50</sub> values of tespong herbal extract and nanoextract were 65.424 ppm and 97.106 ppm, respectively, which fell into the strong category.

**Conclusion:** Tespong herbal extract had a higher antioxidant activity compared to its nanoextract.

**Keywords:** Tespong herb, nanoextract, chitosan, Na-TPP

#### Intisari

**Latar Belakang:** Herba tespong (*O. javanica* DC.) memiliki banyak kandungan senyawa kimia yang bermanfaat dalam pengobatan diantaranya ialah senyawa flavonoid, fenol dan tanin yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Nanopartikel merupakan material dengan ukuran 1-1000 nanometer yang penggunaannya dapat ditujukan untuk meningkatkan bioavailabilitas obat sehingga mempercepat sistem penghantaran obat dalam tubuh.

**Tujuan:** untuk mengetahui karakteristik ekstrak herba tespong, karakterisasi nanoekstrak herba tespong dan mengetahui perbandingan nilai aktivitas antioksidan ekstrak herba tespong dengan nanoekstrak herba tespong.

**Metode:** Ekstraksi herba tespong menggunakan metode maserasi selama tiga hari, formulasi nanoekstrak menggunakan metode gelasi ionik terdiri dari ekstrak herba tespong, kitosan dan Na-TPP. Pengujian aktifitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

**Hasil:** Pengujian kadar air ekstrak menunjukkan angka 1,78% dan kadar abu total ekstrak sebesar 4,95%. Pada pengujian karakterisasi nanoekstrak herba tespong yang dibuat memiliki diameter rata-rata sebesar 148,1 nm dengan indeks polidispersitas sebesar 0,362 dengan nilai potensial zeta sebesar -39,16 mV. Nilai IC<sub>50</sub> antioksidan ekstrak dan nanoekstrak herba tespong (*O. javanica* DC.) berturut-turut sebesar sebesar 65,424 ppm dan 97,106 ppm termasuk kategori kuat.

**Kesimpulan:** Ekstrak herba tespong memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan nanoekstrak herba tespong.

**Kata Kunci:** Herba tespong, nanoekstrak, kitosan, Na-TPP

---

## 1. Pendahuluan

Senyawa atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dinamakan radikal bebas. Senyawa tersebut sangat reaktif dan dapat mengikat senyawa seperti karbohidrat, lipid, protein dan DNA untuk menetralkan dirinya. Radikal bebas dapat menyebabkan sel-sel yang sehat menjadi rusak dan dapat kehilangan fungsi dan struktur apabila masuk ke dalam tubuh. Kerusakan sel tersebut dapat mengakibatkan beberapa penyakit dan penuaan dini (Liochev, 2013).

Antioksidan dapat mencegah efek negatif dari radikal bebas pada tubuh. Transport kemampuan memberikan elektron, pengikatan dan pengakhiran rantai radikal bebas dimiliki oleh antioksidan (Halliwell, 2012). Penggunaan antioksidan alami menjadi pilihan yang tepat untuk menangkal radikal bebas dikarenakan bahan yang udah didapat serta harga yang terjangkau, serta mudah diaplikasikan bahkan dengan penggunaan teknologi.

Sifat kimia dan fisika dari teknologi nanopartikel kajian yang cukup menarik dimana nanopartikel merupakan partikel berukuran nano (1-1000 nm) lebih baik dibandingkan dengan partikel berukuran besar (*bulk*). Teknologi nanopartikel sangat berperan dalam sistem penghantaran obat karena partikel berukuran nano lebih mudah masuk ke dalam tubuh manusia sehingga lebih cepat sampai ke reseptor. Tiga faktor terapi farmasis dalam perkembangan teknologi nanopartikel yaitu menciptakan sistem yang efektif (*effectiveness*), menekan efek bahaya pada sistem jika diaplikasikan (*safety*), dan membuat agar sistem dapat diterima dengan baik oleh pasien (*acceptability*) (Martien *et al.*, 2012).

Herba tespong selain biasa digunakan sebagai lalap juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang baik untuk tubuh manusia. Herba tespong memiliki kandungan flavonoid, fenol dan tanin yang dapat berfungsi sebagai antioksidan (Hwang *et al.*, 2011). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak herba tespong dapat dibuat nanopartikel yang memenuhi persyaratan serta untuk mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan antara ekstrak dengan nanoekstrak herba tespong dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH.

## 2. Metode

### 2.1. Alat dan bahan

Alat yang digunakan antara lain neraca analitik (Shimadzu), *rotary evaporator*, *ultrasonic* (Branson-2510), *homogenizer* (IKA T-25), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu-1800), *Particle size analyzer*, dan alat-alat gelas (Pyrex).

Bahan yang digunakan antara lain ekstrak herba tespong, kitosan (Biochitosan), Natrium Tripolifosfat (Sigma), etanol 70% (Bratako), akuades (Bratako), asam asetat, DPPH (Sigma), metanol pro analisa (Sigma), vitamin C (Sigma).

## 2.2. Preparasi ekstrak herba tespong

Herba yang telah diperoleh disortasi untuk menghilangkan bagian pengotor kemudian dilakukan pencucian, perajangan dan pengeringan tidak langsung dibawah sinar matahari. Setelah simplisia kering dilakukan proses ekstraksi menggunakan etano 70% dengan rasio 1:10 selama tiga hari dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental (Rostinawati, 2010).

## 2.3. Karakteristik ekstrak herba tespong

Karakterisasi ekstrak meliputi parameter spesifik dan non spesifik yaitu uji organoleptis, uji kadar air, uji kadar abu total dan skrinning fitokimia. Uji organoleptis ekstrak meliputi pengujian terhadap bau, warna, dan rasa ekstrak dengan menggunakan panca indera (Kemenkes RI, 2017).

## 2.4. Preparasi nanoekstrak herba tespong

Pembuatan nanoekstrak dengan menggunakan metode gelasi ionik. Bahan yang digunakan ekstrak herba tespong : kitosan 1%: Na TPP 1% (0,1 : 0,4 : 0,1). Prosedur pembuatan dengan penyiapan larutan induk kitosan 1% dan larutan induk Na-TPP 1%. Lakukan pengenceran terhadap larutan induk kitosan 1% hingga didapatkan larutan kitosan konsentrasi 0,4% dan larutan Na-TPP sampai konsentrasi 0,1%. Sebanyak 100 mg ekstrak kental herba tespong dilarutkan menggunakan DMSO 1 tetes kemudian dicampurkan kedalam larutan Na-TPP 0,1% sebanyak 12 ml menggunakan pengaduk magnetik hingga homogen ( $M_1$ ). Larutan kitosan 0,4% 24 ml dihomogenkan dengan pengaduk magnetik dengan kecepatan 100 rpm kemudian diteteskan campuran larutan Na-TPP dan ekstrak herba tespong ( $M_1$ ) hingga didapat suspensi nanopartikel yang homogen. Suspensi nanopartikel kemudian disimpan di dalam kulkas hingga dilakukan uji karakterisasi (Taurina *et al.*, 2013).

## 2.5. Karakteristik nanoekstrak herba tespong

Karakterisasi nanoekstrak herba tespong meliputi pengukuran, distribusi ukuran partikel serta zeta potensial menggunakan PSA. Karakteristik yang paling penting dalam sistem nanopartikel adalah ukuran dan distribusi partikel. Distribusi *in vivo*, biologis, toksisitas dan kemampuan membidik dari sistem nanopartikel dapat diperkirakan dari ukuran dan distribusi partikel dalam sistem sediaan (Mohanraj & Chen, 2007). Penentuan ukuran dan distribusi ukuran nanopartikel harus dilakukan karena mempengaruhi secara langsung keunikan sifat nanopartikel (Desmiaty *et al.*, 2016). Setelah sampel diukur dengan perhitungan beberapa jenis menghasilkan representasi dari distribusi ukuran partikel. Partikel distribusi ukuran dapat dihitung sebagai angka atau volume distribusi massa. Analisis memberikan nilai ukuran untuk setiap partikel yang diperiksa (Haskell, 2006; Horiba, 2010).

Pengukuran Zeta Potensial bertujuan untuk mengetahui sifat muatan permukaan nanopartikel dan potensial distribusi antarmuka dilakukan pengukuran potensial zeta

menggunakan alat *Zetasizer*. Sifat muatan partikel berkaitan dengan interaksi elektrostatis nanopartikel hal tersebut dapat dikarakterisasi dengan menggunakan potensial zeta. Zeta potensial adalah ukuran permukaan partikel yang tersebar dalam medium pendispersi. Idealnya, muatan potensial zeta partikel harus lebih tinggi daripada medium pendispersi untuk mencegah agregasi (Eichenfield *et al.*, 2014). Potensial zeta harus dapat dikendalikan agar agregat yang terbentuk tidak berkumpul menjadi partikel yang besar (Eichenfield *et al.*, 2014). Nanopartikel memiliki stabilitas lebih tinggi dengan nilai potensial zeta lebih kecil dari -30 mV dan lebih besar dari +30 mV (Murdock *et al.*, 2008). Sistem dispersi dengan nilai zeta potensial yang rendah lebih mudah membentuk agregat seiring dengan gaya Van der Waals dalam interaksi partikel (Murdock *et al.*, 2008).

### 2.6. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dan nanoekstrak herba tespong dengan menggunakan metode DPPH

Reaksi penangkapan hidrogen pada radikal bebas oleh antioksidan merupakan prinsip dari pengujian menggunakan metode DPPH. Proton dan radikal bebas diberikan oleh antioksidan sehingga terbentuk senyawa yang tidak radikal (Desmiaty *et al.*, 2016). Sampel ditimbang sebanyak 150 mg, diteteskan 1 tetes DMSO kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. sampai 100 ml dalam labu ukur dan dibuat variasi larutan konsentrasi. Konsentrasi yang dibuat 25, 30, 35, 40, dan 45 µg/ml dengan cara pipet masing-masing 416, 500, 583, 666 dan 750 µl lalu masukkan dalam labu dan ditambahkan metanol p.a. sampai 25 ml (Desmiaty *et al.*, 2016). Inkubasi selama 30 menit pada ruangan gelap, Pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang maksimum 517,0 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Desmiaty *et al.*, 2016).

$$\text{Perhitungan aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi uji}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\% \quad (1)$$

Persamaan garis linier  $y = ax + b$  didapat setelah diperoleh persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi. Nilai  $IC_{50}$  tiap sampel dinyatakan dengan nilai  $y$  sebesar 50 dan  $x$  diperoleh dari  $IC_{50}$  yang didapatkan dari persamaan garis linear tersebut. Nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi efektif yang dibutuhkan untuk merendam 50% dari total DPPH sehingga nilai  $IC_{50}$  disubstitusikan untuk nilai  $y$  (Desmiaty *et al.*, 2016).

### 3. Hasil dan pembahasan

Standardisasi adalah proses penentuan spesifikasi bahan berdasarkan parameter tertentu untuk mencapai tingkat kualitas standar berdasarkan dua parameter yaitu parameter spesifik dan parameter nonspesifik. Penentuan parameter spesifik meliputi identitas, organoleptik serta kandungan kimia. Hasil pengujian spesifik ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil pengujian spesifik ekstrak

No	Pengujian	Hasil
1	Identitas	Nama Latin : <i>Oenanthe javanica</i> DC. Bagian tanaman : Seluruh bagian diatas tanah
2	Organoleptik	Ekstrak kental, berwarna hijau pekat berbau khas dengan rasa yang agak sedikit pahit
3	Kandungan kimia	Alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenolik, triterpenoid, Steroid dan glikosida

Identitas ekstrak merupakan pengujian pendahuluan dalam standarisasi. Hal ini sangat penting dan digunakan sebagai pengenalan awal dan bagian tanaman yang digunakan. Pengamatan organoleptis didapatkan hasil ekstrak berbentuk kental, berwarna hijau pekat, berbau khas tespong dan rasa yang agak sedikit pahit. Hasil pengujian kandungan kimia terhadap ekstrak herba tespong melalui analisa kualitatif dengan identifikasi warna. Adanya aktifitas antioksidan pada ekstrak herba tespong ditandai dengan kandungan flavonoid dan tanin. Fenol sederhana, flavonoid, dan tanin merupakan kelompok dari fenolik dan diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Dewi *et al.*, 2018).

Berdasarkan perhitungan terhadap rendemen ekstrak didapatkan hasil sebesar 7,86% dimana hasil tersebut masih memenuhi persyaratan rendemen ekstrak yang baik <10% (Kemenkes RI, 2017). Parameter nonspesifik yang ditetapkan meliputi kadar air dan kadar abu total. Hasil pengujian ditunjukkan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil pengujian nonspesifik ekstrak

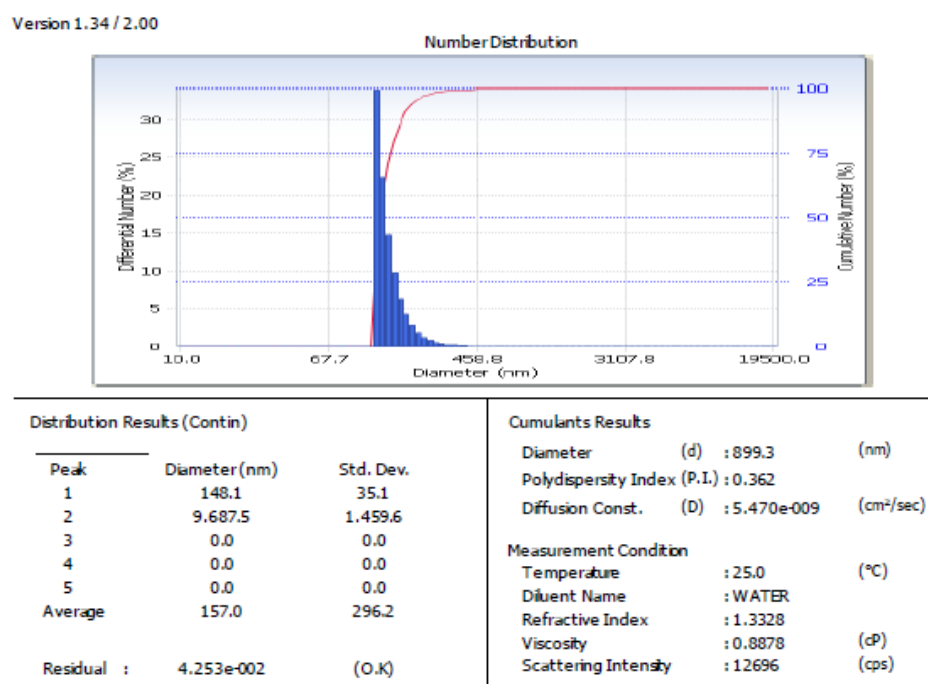
No	Pengujian	Hasil (%)	Standar Baku (%)
1	Kadar Air	1,78	10
2	Kadar Abu Total	4,95	5

Hasil kadar air ekstrak herba tespong didapatkan 1,78% kurang dari 10% menandakan bahwa hasil dari pengujian memenuhi persyaratan mutu. Aktivitas biologi ekstrak dapat berkurang, mudah terkontaminasi mikroorganisme seperti jamur bakteri dan kapang selama penyimpanan apabila ekstrak tidak memenuhi standar mutu. Pertumbuhan jamur pada ekstrak dapat disebabkan kadar air yang tinggi (Kemenkes RI, 2017). Tujuan dari penetapan kadar air untuk mendapatkan ekstrak yang bermutu termasuk batas minimal atau rentang besarnya kandungan air.

Kadar abu total didapatkan sebesar 4,95% menunjukkan bahwa kadar abu total yang terkandung memenuhi persyaratan (Kemenkes RI, 2017). Kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai akhir pembuatan ekstrak dapat diketahui dari

hasil pengujian kadar abu total. Sifat fisik bahan atau ekstrak dapat dipengaruhi oleh adanya kadar senyawa anorganik atau mineral yang terdapat pada ekstrak (Kemenkes RI, 2017).

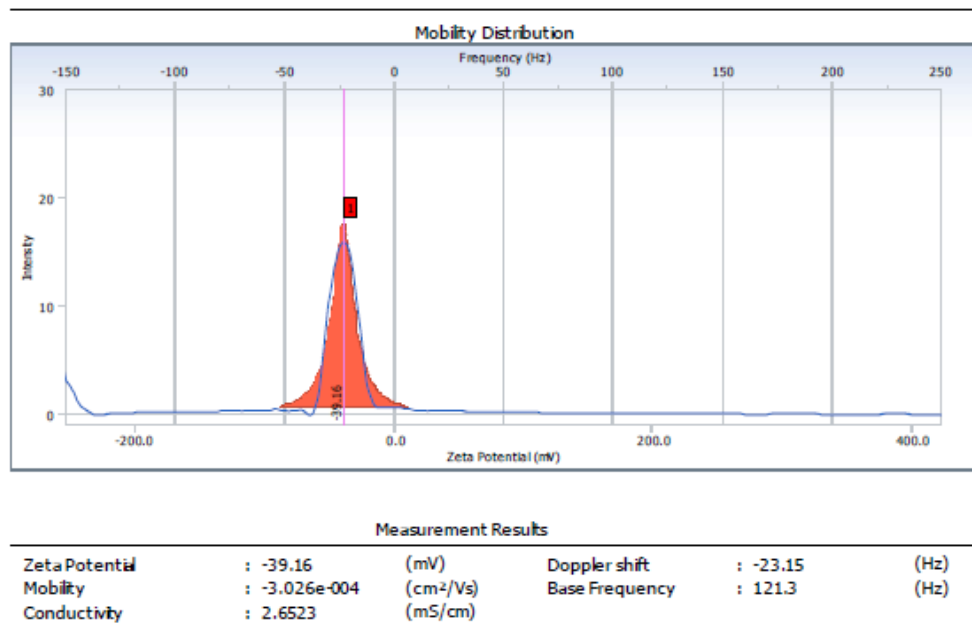
Hasil organoleptis nanoekstrak herba tespong berupa cairan transparan berwarna hijau. Hasil uji ukuran dan distribusi nanopartikel dapat dilihat pada Gambar 1, diameter nanopartikel yang didapatkan dari hasil pengukuran sebesar 148,1 nm dengan nilai indeks polidispersitas sebesar 0,362. Berdasarkan hasil data distribusi D (10%) rata-rata distribusi ukuran nanopartikel sebesar 118,4 nm. Pada D (50%) terhitung rata-rata distribusi sebesar 132,0 nm, dan pada konsentrasi D (90%) rata-rata ukuran distribusi ukuran nanopartikel sebesar 178,6 nm. Hasil pengukuran zeta potensial nanoekstrak herba tespong sebesar -39,16 mV dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Pengujian ukuran partikel nanoekstrak herba tespong

Ukuran partikel rata-rata yang didapatkan dari hasil pengukuran adalah sebesar 148,1 nm. Ukuran partikel sangat dipengaruhi dari kecepatan pengadukan pada saat pencampuran ion positif dan ion negatif. Berdasarkan hasil data distribusi ukuran partikel D (10%) rata-rata sebesar 118,4 nm, D (50%) rata-rata sebesar 132,0 nm dan D (90%) rata-rata ukuran distribusi ukuran nanopartikel sebesar 178,6 nm. Hal tersebut menunjukkan bahwa nanopartikel terdistribusi secara merata (Haskell, 2006). Nilai potensial zeta dari nanoekstrak herba tespong sebesar -39,16 mV dimana hal tersebut menunjukkan bahwa nanoekstrak herba tespong memiliki muatan ion negatif, hal tersebut disebabkan karena dalam formulasi nanoekstrak herba tespong menggunakan polimer Na-TPP sebagai *crosslinker* yang bermuatan negatif. Nilai yang lebih kecil dari -30 mV dan lebih besar dari +30 mV pada potensial zeta menunjukkan bahwa nanopartikel

memiliki stabilitas yang tinggi (Murdock *et al.*, 2008). Hal tersebut menunjukkan bahwa nanoekstrak yang dibuat memiliki stabilitas yang baik.



**Gambar 2.** Hasil pengujian potensial zeta nanoekstrak herba tespong

Pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak herba tespong didapatkan hasil perhitungan  $IC_{50}$  untuk vitamin C sebesar 8,374 ppm yang masuk kedalam golongan antioksidan sangat kuat (<50  $\mu\text{g/ml}$ ). Nilai  $IC_{50}$  ekstrak herba tespong sebesar 65,424 ppm dan pada nanoekstrak herba tespong didapatkan hasil  $IC_{50}$  sebesar 97,106 ppm. Berdasarkan hasil yang tertera, nilai aktivitas antioksidan ekstrak herba tespong lebih tinggi dibandingkan dengan nanoekstrak herba tespong. Hasil keduanya termasuk kedalam golongan kategori kuat (50–100  $\mu\text{g/ml}$ ). Gugus karboksil pada kandungan flavonoid berperan sebagai pendonor atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas sehingga bersifat sebagai antioksidan dan dapat menstabilkan oksigen reaktif (Arnanda & Nuwarda, 2019).

#### 4. Kesimpulan

Ekstrak herba tespong dapat dibuat sediaan nanopartikel dengan nilai ukuran nano partikel sebesar 148,1 nm dan nilai zeta potensial sebesar -39,16 mV. Aktivitas antioksidan ekstrak dan nanoekstrak herba tespong didapatkan nilai yang kuat yaitu sebesar 65,921 ppm dan 97,106 ppm.

#### Daftar Pustaka

Arnanda, Q. P., & Nuwarda, R. (2019). Penggunaan Radiofarmaka Teknesium-99M dari Senyawa Glutathion dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker. *Jurnal Farmaka*, 17(2), 7.

- Desmiaty, Y., Rahmat, D., & Maulidina, N. (2016). Pembuatan Nanopartikel Berbasis Kitosan dari Infus Daun Sirsak (*Annona Muricata* LINN) Sebagai Antioksidan. *J. Trop. Pharm. Chem.*, 3, 308-312. doi:10.25026/jtpc.v3i4.119
- Dewi, S., Argo, B., & Ulya, N. (2018). Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Teknik Pertanian*, 11, 1-10. doi:10.17969/rtp.v11i1.9571
- Eichenfield, L. F., Tom, W. L., Chamlin, S. L., Feldman, S. R., Hanifin, J. M., Simpson, E. L., Berger, T. G., Bergman, J. N., Cohen, D. E., Cooper, K. D., Cordoro, K. M., Davis, D. M., Krol, A., Margolis, D. J., Paller, A. S., Schwarzenberger, K., Silverman, R. A., Williams, H. C., Elmets, C. A., Block, J., Harrod, C. G., Smith Begolka, W., & Sidbury, R. (2014). Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: section 1. Diagnosis and assessment of atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol*, 70(2), 338-351. doi:10.1016/j.jaad.2013.10.010
- Halliwell, B. (2012). Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev*, 70(5), 257-265. doi:10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x
- Haskell, R. (2006). Physical Characterization of Nanoparticles. In.
- Horiba. (2010). a Guidebook To Particle Size Analysis. Horiba. In H. Scientific (Ed.): Horiba.
- Hwang, C.-R., Hwang, I.-G., Kim, H.-Y., Kang, T.-S., Kim, Y. I., Joo, S.-S., Lee, J.-S., & Jeong, H.-S. (2011). Antioxidant Component and Activity of Dropwort (*Oenanthe javanica*) Ethanol Extracts. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 40, 316-320. doi:10.3746/jkfn.2011.40.2.316
- Kemenkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI
- Liochev, S. I. (2013). Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radic Biol Med*, 60, 1-4. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.011
- Martien, R., Adhyatmika, A., Irianto, I., Farida, V., & Sari, D. P. (2012). Perkembangan Teknologi Nanopartikel dalam Sistem Penghantaran Obat. *Majalah Farmaseutik*, 8, 133.
- Mohanraj, V. J., & Chen, Y. (2007). Nanoparticles - A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5. doi:10.4314/tjpr.v5i1.14634
- Murdock, R. C., Braydich-Stolle, L., Schrand, A. M., Schlager, J. J., & Hussain, S. M. (2008). Characterization of nanomaterial dispersion in solution prior to in vitro exposure using dynamic light scattering technique. *Toxicol Sci*, 101(2), 239-253. doi:10.1093/toxsci/kfm240
- Rostinawati, T. (2010). *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Tespong (Oenanthe javavica D.C) Terhadap Eschericia Coli, Staphylococcus Aureus dan Candida albicans*. Retrieved from Bandung:
- Taurina, W., Martien, R., & Ismail, H. (2013). Preparasi Nanopartikel Gamavuton-0 Menggunakan Kitosan Rantai Pendek dan Tripolifosfat Sebagai Cross Linker. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10, 60-68. doi:10.20885/jif.vol10.iss2.art4