



ARTIKEL PENELITIAN—RESEARCH ARTICLE

PENGARUH KECEPATAN PENGADUKAN TERHADAP KARAKTERISTIK NANOPARTIKEL SARI BUAH JUWET (*Syzygium cumini* L.)

Wayan Cintya Ganes Budastra¹, Wahida Hajrin*¹, Dyke Gita Wirasisya¹

¹ Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Mataram

*Korespondensi:
wahida08farm@gmail.com

Abstrak

Latar belakang: Pembuatan nanopartikel untuk mengatasi masalah stabilitas dan bioavailabilitas mengalami kendala dalam memperoleh karakteristik nanopartikel yang baik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kecepatan pengadukan terhadap karakteristik nanopartikel sari buah juwet.

Metode: Nanopartikel sari buah juwet diformulasikan dengan polimer kitosan, ekstrak dan Na-TPP kemudian diaduk dengan variasi kecepatan pengadukan 500 rpm, 1000 rpm dan 1500 rpm. Parameter yang diamati adalah transmitan, efisiensi penjerapan, ukuran partikel dan indeks polidispersitas, dan zeta potensial.

Hasil: Nilai transmitan tertinggi sebesar $84,700 \pm 0,430$ % diperoleh pada kecepatan pengadukan 500 rpm (p -value=0,108), nilai efisiensi penjerapan tertinggi yaitu $74,014 \pm 1,404$ % pada 1000 rpm (p -value=0,501), ukuran partikel terkecil diperoleh pada kecepatan pengadukan 1500 rpm sebesar $56,9 \pm 0,9$ nm (p -value=0,000), dan zeta potensial tertinggi pada kecepatan pengadukan 1000 rpm yaitu sebesar $37,7 \pm 2,8$ mV (p -value=0,054).

Kesimpulan: Kecepatan pengadukan tidak berpengaruh terhadap transmitan, entrapment efisiensi, dan zeta potensial namun berpengaruh terhadap ukuran partikel nanopartikel sari buah juwet yang dihasilkan.

Kata Kunci: Kecepatan pengadukan, kitosan, nanopartikel, *Syzygium cumini*.

PENDAHULUAN

Buah juwet memiliki banyak manfaat dalam pengobatan. Buah juwet memiliki kandungan senyawa fenolik, flavonoid, lignan, tanin dan polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan alami.¹⁻³ Ferry dkk (2015) melaporkan antosianin dari juwet dapat menurunkan LDL hingga 54,5% pada tikus hipokolesterolemia.⁴ Buah juwet juga mengandung flavonoid kuersetin dan mirisetin deoksiheksosida serta senyawa fenol asam elagat dan asam galat yang dapat berperan sebagai antidiabetes.²

Nanopartikel merupakan partikel koloid padat dengan diameter 1-1000 nm.⁵ Adapun kelebihan yang dimiliki oleh nanopartikel yaitu memiliki ukuran partikel dan karakteristik permukaan yang dapat dimodifikasi serta meningkatkan bioavailabilitas dan mengontrol

penyerapan senyawa aktif dalam saluran cerna.⁶ Formulasi nanopartikel buah juwet ditujukan untuk meningkatkan stabilitas senyawa fenolik yang terkandung dalam buah juwet. Pembuatan nanopartikel sari buah juwet (SBJ) telah dilakukan oleh Hajrin dkk (2021),⁷ namun nanopartikel yang dihasilkan belum memenuhi karakteristik yang baik terutama untuk parameter efisiensi penjerapan.

Pembuatan nanopartikel salah satunya dapat dilakukan dengan metode gelasi ionik yang didasarkan pada interaksi ionik antara gugus amino yang terionisasi positif dengan polianion yang bermuatan negatif.⁵ Polimer yang digunakan adalah kitosan dengan cross-linker natrium tripolifosfat. Pada pembuatan nanopartikel dengan metode gelasi ionik, ukuran nanopartikel dapat dipengaruhi oleh kecepatan pengadukan sebab pada pembuatan nanopartikel dengan metode gelasi ionik, menggunakan mild stirring yakni



pengadukan menggunakan magnetic stirrer dengan kecepatan konstan dan pelan selama waktu tertentu.^{8,9} Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa peningkatan kecepatan pengadukan dapat menyebabkan penurunan ukuran partikel sebab semakin kecil ukuran partikel yang dihasilkan akan semakin banyak partikel yang terpecah menjadi nano,^{10,11} sehingga diketahui bahwa kecepatan pengadukan sangat potensial.

Selain ukuran partikel, efisiensi penjerapan merupakan salah satu karakteristik yang penting dalam formulasi nanopartikel.^{12–14} Nilai efisiensi penjerapan digunakan untuk menentukan rasio kandungan loading bahan aktif yang terperangkap dalam nanopartikel dengan total bahan aktif yang digunakan dalam formulasi¹⁵ sehingga untuk dapat menghasilkan partikel dalam skala nano dengan persentase nilai efisiensi penjerapan (Entrapment efficiency) yang optimum, maka perlu dilakukan optimasi. Laili dkk (2014) menyatakan bahwa formulasi sediaan nanopartikel dari ekstrak herbal memiliki nilai persentase efisiensi penjerapan (%EE) zat aktif yang cenderung rendah dan variasi kecepatan pengadukan dapat memberikan pengaruh terhadap nilai %EE zat aktif.¹⁶

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah juwet (*Syzygium cumini* L.), akuabides (Water-One), asam galat (Sigma-Aldrich), kitosan (Sigma-Aldrich), natrium-tripolifosfat (Sigma-Aldrich), reagen Follincioalceau (Merck), serbuk Na₂CO₃ (Merck), wrapping plastic dan kertas saring.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah batang pengaduk, blue tip, blender Kirin®, freeze dryer, gelas arloji, gelas ukur, gelas kimia, magnetic stirrer Labnet®, mikropipet, pipet tetes, pipet ukur, sentrifuge, spektrofotometer uv-vis Specord®200, spuit injeksi, timbangan analitik Ohaus®, vial, dan Zetasizer Malvern.

Pembuatan Ekstrak Sari Buah Juwet Buah juwet dicuci dan dilakukan pemisahan antara daging dan bijinya. Sebanyak 3 kg daging buah

juwet diblender dan disaring, kemudian dikeringkan menggunakan metode freeze drying.

Pembuatan Nanopartikel Sari Buah Juwet dengan Variasi Kecepatan Pengadukan Larutan sari buah juwet, kitosan, dan Na-TPP dibuat sesuai dengan konsentrasi formula optimum pada penelitian Hajrin dkk (2021). Ekstrak sari buah juwet sebanyak 0,0627 gram dilarutkan dalam 10 mL akuabides. Serbuk kitosan sebanyak 0,347 gram dilarutkan dalam 100 mL larutan asam asetat 1% kemudian diaduk menggunakan magnetic stirrer hingga larut. Serbuk natrium tripolifosfat 0,047 gram dilarutkan dalam 100 mL akuabides kemudian diaduk menggunakan magnetic stirrer hingga larut.

Pembuatan nanopartikel sari buah juwet dilakukan dengan mencampurkan larutan kitosan dengan larutan sari buah juwet, kemudian diaduk dengan magnetic stirrer dan ditambahkan larutan Na-TPP tetes demi tetes hingga diperoleh suspensi nanopartikel. Perbandingan kitosan, ekstrak sari buah juwet, dan Na-TPP adalah 1:1:1.

Optimasi kecepatan pengadukan dilakukan dengan membuat nanopartikel sari buah juwet dengan kecepatan pengadukan yang berbeda. Variasi kecepatan pengadukan yang digunakan adalah 500 rpm (F1), 1000 rpm (F2), dan 1500 rpm (F3).

Karakterisasi Nanopartikel Sari Buah Juwet Uji % transmitan Uji % transmitan dilakukan secara spektrofotometri. Suspensi nanopartikel yang dihasilkan diukur persen transmitannya pada panjang gelombang 650 nm dengan blanko akuabides.

Uji Efisiensi Penjerapan Uji efisiensi penjerapan dilakukan dengan sentrifugasi campuran larutan nanopartikel sari buah juwet dengan larutan pembawa kitosan dan Na-TPP selama 80 menit pada kecepatan 15.000 rpm.¹⁶ Kemudian diambil supernatan dan dilakukan pengukuran kadar fenolik bebas yang tidak terjerap dalam supernatan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang, operating time, dan kurva baku yang digunakan dalam penetapan kadar fenolik total mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Hajrin dkk (2021).⁷ Penetapan kadar fenolik total ekstrak dan



supernatan nanopartikel sari buah juwet dilakukan dengan cara masing-masing larutan sampel sebanyak 300 μ L ditambahkan 1,5 mL reagen Follin-ciocalteceau dan digojog. Didiamkan selama 8 menit, ditambah 1,2 mL larutan Na_2CO_3 7,5% dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu kamar. Absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 752 nm. Kandungan fenolik total diperoleh dari nilai absorbansi yang dimasukkan ke persamaan kurva baku asam galat $y = 0,009x + 0,170$ Hasil penetapan kadar dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat (GAE) per gram sampel dengan menggunakan rumus berikut 17:

$$\text{TPC} = (\text{GAE} \times \text{V} \times \text{D})/\text{W}$$

Keterangan :

TPC = Total Phenolic Content (GAE/gr sampel)

V = volume larutan sari buah juwet (mL)

W= bobot ekstrak (g)

D= faktor pengenceran

Persentase efisiensi penyerapan ditentukan dengan persamaan berikut (Pakki dkk, 2016).

$$\%EE = (\text{TPCe} - \text{TPCs})/\text{TPCe} \times 100\%$$

Keterangan:

%EE = Entrapment Efficiency

TPCe = Total Phenolic Content Ekstrak

TPCs = Total Phenolic Content Supernatan

Pengukuran Ukuran Partikel, Indeks Polidispersitas, dan Zeta Potensial Pengukuran ukuran partikel dan indeks polidispersitas dilakukan dengan cara memasukkan larutan uji ke dalam kuvet dengan tinggi $\frac{3}{4}$ kuvet. Kuvet dimasukkan pada alat Zetasizer dan dilakukan scanning ukuran partikel dan zeta potensial.

HASIL & PEMBAHASAN

Ekstrak Sari Buah Juwet

Pembuatan ekstrak sari buah juwet dilakukan dengan metode freeze-drying. Proses pengeringan membutuhkan waktu sebesar 221 jam. Tekstur sampel yang dihasilkan kental dan agak keras, warna hitam keunguan, aroma khas juwet, dan rasa sedikit manis dengan rendemen sebesar 20,45 %. Prinsip metode pengeringan

freeze-drying menurut Anna dkk (2013), terlebih dahulu dimulai dari pembekuan bahan, kemudian proses pengeringan dimana pada proses ini hampir sebagian besar air dipisahkan dari bahan melalui mekanisme sublimasi. Pengeringan beku memiliki efisiensi menghilangkan kelembaban yang tinggi dan memelihara komponen bioaktif. Selama proses pengeringan beku, kristal es berkembang di dalam jaringan matriks dan penghilangan kadar air menyebabkan jaringan menjadi lebih rapuh.¹⁸ Beberapa penelitian menunjukkan daya antioksidan bahan dari ekstrak yang dikeringkan dengan metode freeze-drying lebih tinggi dibandingkan metode pengeringan dengan sinar matahari.^{19,20} Hal ini dapat terjadi karena metode freeze-drying dapat mempertahankan stabilitas produk dan struktur bahan.

Karakteristik Nanopartikel Ekstrak Sari Buah Juwet dengan Variasi Kecepatan Pengadukan

Pembuatan nanopartikel sari buah juwet pada penelitian ini menggunakan polimer kitosan dan natrium tripolifosfat dengan metode gelasi ionik. Nanopartikel dengan polimer kitosan dapat melindungi senyawa aktif dari degradasi.^{21,22} Kitosan merupakan polimer dengan muatan positif. Sari buah juwet terdiri atas berbagai senyawa dan gugus-gugus yang bermuatan positif maupun negatif. Adanya kitosan diharapkan dapat menetralkan gugus-gugus yang bermuatan negatif pada sari buah juwet. Natrium tripolifosfat berperan sebagai cross-linker yang akan menstabilkan muatan positif dari kitosan.^{21,23} Rancangan variasi kecepatan pengadukan optimum yang digunakan pada penelitian ini yakni 500 rpm, 1000 rpm dan 1500 rpm merujuk pada beberapa penelitian yang telah dilakukan.^{24,25}

1. Persentase (%) transmitan

Hasil penentuan % transmitan nanopartikel sari buah juwet pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini.



Tabel 2. Hasil uji % transmittan nanopartikel sari buah juwet pada berbagai variasi kecepatan pengadukan

Kecepatan Pengadukan (rpm)	Transmittan (%)
500	84,700±0,430
1000	83,973±0,300
1500	84,473±0,312

Berdasarkan Tabel 2 didapatkan hasil uji % transmittan menunjukkan bahwa nanopartikel yang terbentuk menghasilkan dispersi yang jernih secara visual dengan nilai % transmittan lebih dari 80%. Nilai % transmittan yang mendekati 100% menunjukkan bahwa nanopartikel yang terbentuk menghasilkan dispersi jernih dan transparan dengan ukuran partikel berada pada rentang nanometer.^{26,27} Nilai % transmittan tertinggi diperoleh pada kecepatan pengadukan 500 rpm, namun nilai tersebut tidak berbeda signifikan terhadap persen transmittan pada kecepatan pengadukan 1000 dan 1500 rpm (p-value = 0,108). Hal ini menunjukkan bahwa variasi kecepatan pengadukan 500 rpm, 1000 rpm dan 1500 rpm tidak berpengaruh terhadap hasil % transmittan nanopartikel sari buah juwet. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Apriliyati (2020) yang menunjukkan kecepatan pengadukan nanopartikel berpengaruh terhadap ukuran dan distribusi partikel namun tidak berpengaruh terhadap % transmittan.²⁸

Pengamatan kejernihan yang diukur dalam % transmittan merupakan parameter dalam pembentukan dispersi nanopartikel.²⁹ Ukuran fase terdispersi berpengaruh terhadap penampakan visual nanopartikel akan jernih atau keruh. Apabila partikel yang dihasilkan memiliki ukuran yang relatif kecil saat dilewati cahaya, maka berkas cahaya akan diteruskan sehingga secara visual larutan akan terlihat transparan dan transmittan yang dihasilkan semakin besar.³⁰

2. Efisiensi penjerapan

Perhitungan kandungan senyawa fenolik total dalam nanopartikel sari buah juwet dilakukan dengan cara mensentrifugasi suspensi nanopartikel sari buah juwet yang telah terbentuk dengan kecepatan 15000 rpm selama 1 jam guna untuk memisahkan padatan dari koloid nanopartikel.¹⁶ Senyawa fenolik bebas yang tidak terenkapsulasi dalam supernatan kemudian ditetapkan kandungannya dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri uv-vis pada panjang gelombang 752 nm.³¹ Penetapan kadar fenolik total pada nanopartikel merupakan dasar untuk menentukan % efisiensi penjerapan. Hasil penentuan efisiensi penjerapan nanopartikel sari buah juwet pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3.

Berdasarkan tabel 3, diperoleh nilai rata-rata efisiensi penjerapan untuk variasi kecepatan 500 rpm, 1000 rpm dan 1500 rpm memiliki efisiensi penjerapan yang baik yakni lebih dari 60%.³² Semakin besar nilai efisiensi penjerapan yang diperoleh maka semakin besar kemampuan kitosan dalam melindungi zat aktif dari pengaruh luar yang dapat merusak zat aktif, sehingga bioavailabilitas zat aktif juga akan meningkat.²⁴ Jumlah polimer kitosan yang digunakan dalam penelitian ini juga dapat mempengaruhi nilai efisiensi penjerapan dimana semakin banyak polimer yang digunakan, akan semakin tinggi kemampuan polimer dalam enkapsulasi bahan aktif. Sehingga jumlah senyawa aktif yang terjerap oleh nanopartikel akan meningkat.^{33,34}

Tabel 3. Hasil penentuan efisiensi penjerapan nanopartikel sari buah juwet

Kecepatan pengadukan (rpm)	TPC (mg GAE/g sampel)		Efisiensi penjerapan (%)
	Ekstrak	Supernatan	
500	14,600	3,989±	73,038±
	± 1,477	1,163	5,478
1000	15,132	3,934±	74,014±
	± 0,565	0,296	1,404
1500	15,444	4,133±	73,334±



± 0,619 0,755 3,894

Nilai rata-rata efisiensi penjerapan tertinggi terdapat pada kecepatan 1000 rpm namun tidak berbeda signifikan terhadap variasi kecepatan pengadukan 500 rpm dan 1500 rpm (p -value=0,501). Hal ini menunjukkan bahwa variasi kecepatan pengadukan 500 rpm, 1000 rpm dan 1500 rpm tidak berpengaruh terhadap hasil persentase efisiensi penjerapan nanopartikel sari buah juwet. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Utama dkk (2013), bahwa peningkatan kecepatan pengadukan tidak memberikan perbedaan yang bermakna untuk efisiensi penjerapan.³⁵ Perbedaan tidak bermakna antara kecepatan pengadukan terhadap nilai efisiensi penjerapan pada penelitian ini dapat disebabkan oleh belum sempurnanya proses pembentukan nanopartikel yang terjadi sehingga ada zat yang tidak terenkapsulasi. Menurut Sukmaningrum dkk (2017), lama waktu pengadukan juga dapat mempengaruhi efisiensi penjerapan nanopartikel. Pengadukan yang terlalu singkat dapat menyebabkan pembentukan nanopartikel belum sepenuhnya terjadi dan bahan aktif belum sepenuhnya terjerap. Selain itu, juga dapat disebabkan karena kurang efektifnya metode pengadukan yang digunakan.³⁶

3. Ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial

Hasil pengukuran ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengukuran ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial nanopartikel sari buah juwet pada berbagai variasi kecepatan pengadukan

Kecepatan Pengadukan (rpm)	Ukuran Partikel (nm)	Indeks Polidispersitas	Zeta Potensial
500	135,9±2,1	0,489±0,030	36,6±1,2
1000	139,6±1,0	0,536±0,086	37,7±2,8
1500	56,9±0,9	0,412±0,015	33,2±0,5

Berdasarkan tabel 4 terlihat bahwa ukuran partikel pada kecepatan pengadukan 500, 1000, dan 1500 rpm berada pada rentang nanometer. Ukuran partikel terkecil terdapat pada kecepatan pengadukan 1500 rpm. Nilai ukuran partikel ini berbeda signifikan terhadap ukuran partikel pada 500 rpm dan 1000 rpm (p -value=0,000). Hasil pengukuran ukuran partikel ini didukung oleh nilai polidispersitas yang baik pada kecepatan pengadukan 500 rpm dan 1500 rpm yang menunjukkan nilai indeks polidispersitas kurang dari 0,5. Nilai indeks polidispersitas yang baik menunjukkan bahwa partikel yang dihasilkan memiliki ukuran yang homogen.⁷ Hasil ini menunjukkan bahwa variasi kecepatan pengadukan dapat mempengaruhi ukuran partikel yang terbentuk namun tidak berpengaruh pada homogenitas ukuran nanopartikel ekstrak sari buah juwet. Hal ini sejalan dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan. Peningkatan kecepatan pengadukan dapat menyebabkan penurunan ukuran partikel sebab semakin kecil ukuran partikel yang dihasilkan akan semakin banyak partikel yang terpecah menjadi nano.^{10,11,37} Pada pembuatan nanopartikel dengan metode gelas ionik, ukuran nanopartikel dapat dipengaruhi oleh kecepatan pengadukan sebab pada pembuatan nanopartikel dengan metode gelas ionik, dibutuhkan pengadukan mild stirring yakni pengadukan menggunakan magnetic



stirrer dengan kecepatan konstan dan pelan selama waktu tertentu.^{8,9}

Parameter lain yang diamati adalah zeta potensial. Nilai zeta potensial pada ketiga kecepatan pengadukan menunjukkan nilai yang baik karena lebih dari +30mV. Nilai zeta potensial pada ketiga kecepatan pengadukan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (p -value=0,054) sehingga dapat disimpulkan bahwa kecepatan pengadukan tidak mempengaruhi nilai zeta potensial nanopartikel ekstrak sari buah juwet yang dihasilkan.

KESIMPULAN

Variasi kecepatan pengadukan 500, 1000, dan 1500 rpm tidak berpengaruh terhadap % transmitan, efisiensi penyerapan, dan zeta potensial namun berpengaruh terhadap ukuran nanopartikel sari buah juwet yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nair, K. The Genus *Syzygium* (*Syzygium Cumini* and Other Unduritized Species). New York: Taylor and Francis Group. 2017.
2. Ayyanar, M. dan Babu, P., *Syzygium cumini* (L.) A Review of its Phytochemical Constituents and Traditional Uses. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012; 2(3): 240–246.
3. Banerjee, A., Dasgupta, N. dan De, B. In Vitro Study Of Antioxidant Activity of *syzygium Cumini* Fruit. *Journal Food Chemistry*. 2005; 90(1): 727–733.
4. Ferry, S., Manurung, I., Manuntun dan Puspawati. Efektifitas Antosianin Kulit Buah Jamblang (*Syzygium Cumini*) sebagai Penurun Low Density Lipoprotein Darah. *CK*. 2015; 3(12):1–16 (2015).
5. Tiyaboonchai, W. Chitosan Nanoparticles: a Promising System for Drug Delivery. *Naresuan University Journal*. 2003; 11(1): 51–66.
6. Ningsih, N., Sedarnawati, Y. dan Sri, Y. Sintesis Nanopartikel Ekstrak Kulit Manggis Merah dan Kajian Sifat Fungsional Produk Enkapsulasinya. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 2017; 28(1):27–35.
7. Hajrin, W., Budastra, W.C.G., Juliantoni, Y. dan Subaidah, W. A. Formulasi dan karakterisasi nanopartikel kitosan ekstrak sari buah juwet (*Syzygium cumini*) menggunakan metode gelas ionik. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2021; 3(5):742–749.
8. Racovita, S., Vasiliu, S., Popa, M. dan Luca, C. Polysaccharides based on Micro and Nanoparticles Obtained by Ionic Gelation and their Application as Drug Delivery Systems Review. *Revue Roumaine de Chimie*. 2009; 54(9):709–718.
9. Dustgani, A., Farahani, E. dan Imani, M. Preparation of chitosan nanoparticles loaded by dexamethasone sodium phosphate. *Iranian J Pharm Sci*. 2008; 4(2):111–114.
10. Gupta, V. dan Karar, P. Optimization of Process Variables for the Preparation of Chitosan- Alginate Nanoparticle. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2011; 3(2):78–80 .
11. Dangi, R. dan Shakya, S. Preparation, Optimization and Characterization of PLGA Nanoparticle. *Int J of Pharm & Life Sci*. 2013; 4(7):2810–2818.
12. Wang, N. dan Zhang, M. Chitosan-Based Hydrogels for Controlled, Localized Drug Delivery. *Advanced Drug Delivery Review*. 2010; 9(1): 83–99 .
13. Anggasari, N., Alauhdin, M. dan Tri, A. Sintesis dan Karakterisasi Membran Kitosan-Tripolifosfat sebagai Alternatif Pengontrol Sistem Pelepasan Obat. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 2013; 2(3): 190–193.
14. Stoica, R., Somoghi, R. dan Ion, R. Preparation of Chitosan-tripolyphosphate Nanoparticles for the Encapsulation of Polyphenols Extracted from Rose Hips. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2013; 8(3): 955–963.
15. Chabib, L., Ronny, M. dan Hilda, I. Formulation of Nanocurcumin using Low Viscosity Chitosan Polymer and its Cellular Uptake Study Into T47D Cells. *Indonesian J.Pharm*. 2012; 23(1): 27–35 .
16. Laili, H., Winarti, L. dan Sari, L. Preparasi dan karakterisasi nanopartikel kitosan-naringenin dengan variasi rasio massa kitosa-natrium tripolifosfat. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2014; 2(2): 308–313.
17. Chaithada, P., Supapan, J., Rodthuk, P. dan Chainarong, S. Total Flavonoids, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity From Fruits, Leaves, Twigs and Flowers of *Mesua ferrea* L. *Walailak Journal of Science and Technology*. 2018; 15:295–304.
18. Anna, R., Suhandar, Jakaria dan Suharmadi. Uji Fungsi Freeze Dryer Radiofarmaka. Dalam: *Prosiding Seminar Penelitian dan Pengolahan Perangkat Nuklir Tanggal 11 September 2011*. Batan, Yogyakarta, pp. 61- 67.
19. Hariyadi, P. Pengeringan Beku dan Aplikasinya di Industri Pangan. *Foodreview*. 2013; 8(1): 52–56.
20. Suryadi, J. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Pengeringan Matahari Langsung dan Freeze- drying. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. 2013; 2(1): 1–19.
21. George, M. dan Abraham, T. E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan — a review. *Journal of Controlled Release*. 2006; 114(1): 1–14.
22. Lin, Y. H., Sonaje, K., Lin, K.M., Juang, J.H., Mi, F.L., Yang, H.W dan Sung, H.W. Multi-ion-crosslinked nanoparticles with pH-responsive characteristics for oral delivery of protein drugs. *Journal of Controlled Release*. 2008; 132(1): 141–149.
23. Hajrin, W. Formulasi mikropartikel ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri*) menggunakan polimer kitosan dan Na-tpp serta uji aktivitas imunomodulator secara in vivo. *Skripsi*. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, Indonesia. 2018.
24. Taurina, W., Sari, R., Hafinur, U., Wahdaningsih, S. dan Isnindar. Optimasi kecepatan dan lama pengadukan terhadap ukuran nanopartikel kitosan-ekstrak etanol 70% kulit jeruk siam (*Citrus nobilis* L.var *Microcarpa*). *Traditional Medicine Journal*. 2017; 2(1): 16–20.



25. Ruby, J. dan Pandey, V. Chitosan Nanoparticles as a Nasal Drug Delivery for Memantine Hydrochloride. *Int J Pharm Sci.* 2015; 7(1): 34–37.
26. Bali, V., Ali, M. dan Ali, J. Study of Surfactant Combinations and Development of a Novel Nanoemulsion for Minimising Variations in Bioavailability of Ezetimibe. *Colloids and Surfaces Biointerfaces.* 2010; 76(1): 410–420.
27. Syukri, Y., Ziyatul, K. dan Lutfi, C. Formulasi dan Studi Stabilitas Self-Nano Emulsifying Propolis menggunakan Minyak Kesturi, Cremophor RH 40 dan PEG 400 sebagai Pembawa. *Jurnal Sains Farmasi Klinis.* 2019; 6(3): 265–273.
28. Apriliyati, W. Pengaruh Kecepatan dan Lama Pengadukan Nanopartikel Buah Parjito (*Medinilla speciosa*) terhadap Ukuran dan Distribusi Partikel, Persen Transmitan dan Morfologi Partikel. Skripsi. UNW Semarang, Indonesia. 2020.
29. Xi, J., Chang, Q., Chan, C. K., Meng, Y., Wang, G. N., Sun, J. B., Wang, Y. T., Tong, H. Y. dan Zheng, Y.. Formulation Development and Bioavailability Evaluation of a Self-Nanoemulsified Drug Delivery System of Oleanolic Acid. *AAPS Pharmaceutical Science and Technology.* 2009; 10(1): 172–182.
30. Sahumena, M. Pengembangan Nanopartikel Ketoprofen dengan Teknik SNEDDS dan Uji Aktifitas Antiinflamasi. Skripsi. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, Indonesia. 2014.
31. Calvo, P., Remun~an-Lopez, C., Vila-Jato, J. dan Alonso, M. Chitosan and Chitosan/Ethylene Oxide-Propylene Oxide Block Copolymer Nanoparticles as Novel Carriers for Proteins and Vaccines. *Pharm Res.* 1997; 14(1): 1431–1436.
32. Yu-Shin, L., Kiran, S., Kurt, M. L., Jyuhn, H.J., Long, F., Han, Y., dan Hsing, W.S. Multi-ioncrosslinked Nanoparticles with pH-responsive Characteristics for Oral Delivery of Protein Drugs. *J. Cont Rel.* 2008; 132(1): 141–149.
33. Maji, R., Ray, S., Das, B. dan Nayak, A. K. Ethyl Cellulose Microparticles Containing Metformin HCl by Emulsification-Solvent Evaporation Technique: Effect of Formulation Variables. *ISRN Polymer Science.* 2012; 801827.
34. Premaletha, K., Licy, C., Jose, S., Saraladevi, A. dan Shirwaikar, A. Formulation, Characterization and Optimization of Hepatitis B Surface Antigen – Loaded Chitosan Microspheres for Oral Delivery. *Pharm Develop. Tech.* 2012; 251–258.
35. Utama, D., Dewi, M. dan Esti, H. Pengaruh Kecepatan Pengadukan terhadap Karakteristik Fisik Mikrosfer Ovalbumin-Alginat dengan Metode Aerosolisasi. *Media Pharma Scientia.* 2013; 2(2): 1–12.
36. Sukmaningrum, N., Lusua, O. dan Eka, D. Optimasi Konsentrasi Etil Selulosa dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres Metformin Hidroklorida. *IJPST.* 2017; 4(3): 93–99.
37. Manuella, N. Preparasi dan Evaluasi Nanopartikel Azitromisin-Kitosan dan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. Skripsi. Universitas Tanjung Pura, Indonesia. 2016.