



**MATA KULIAH PENUNJANG DISERTASI  
(MKPD)**

**NANOEKSTRAK**

**DOSEN PENGAMPU MATA KULIAH:**

**Prof. Dr. Ir. Ida Bagus Putra Manuaba, M.Phil**

**MAHASISWA:**

**Anak Agung Raka Bawa**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS UDAYANA**

**2020**

## PENDAHULUAN

Nanopartikel banyak dikaji untuk berbagai aplikasi teknologi dan dalam penelitian ilmu material, kimia, fisika, biologi, dan ilmu lingkungan. Nanopartikel merupakan suatu partikel dengan ukuran nanometer yaitu sekitar 1 sampai 100 nm. Material berukuran nanometer memiliki sejumlah sifat kimia dan fisika yang lebih unggul dari material berukuran besar, seperti kekuatan mekanik, elektronik, magnetik, kestabilan termal, katalitik, dan optik. Ukurannya yang kecil menyebabkan nanopartikel memiliki nilai perbandingan antara luas permukaan dan volume yang lebih besar jika dibandingkan dengan partikel sejenis dalam ukuran besar (Martien *et al.*, 2012).

Nanopartikel dapat terjadi secara alamiah ataupun melalui proses sintesis oleh manusia. Sintesis nanopartikel bermakna pembuatan nanopartikel dengan ukuran yang kurang dari 100 nm dan sekaligus mengubah sifat atau fungsinya. Secara garis besar, pembentukan nanopartikel dapat dilakukan dengan metode *top down* (fisika) dan *bottom up* (kimia). Metode *top down* dilakukan dengan cara memecah padatan menjadi partikel-partikel kecil berukuran nano. Sedangkan metode *bottom up* dilakukan dengan cara menumbuhkan partikel-partikel nano mulai dari atom yang didapat dari *precursor molecular* atau ioniknya (Fahmi, 2019).

Sintesis nanopartikel dengan metode *bottom up* dilengkapi dengan penggunaan surfaktan atau polimer yang membentuk susunan teratur pada permukaan nanopartikel. Bagian surfaktan atau polimer yang hidrofob langsung teradsorpsi pada permukaan nanopartikel dan bagian hidrofilnya berada pada *bulk*

larutan. Bahan organik tersebut (surfaktan atau polimer) dapat mengontrol kecepatan reduksi dan agregasi nanopartikel (Rahayu dan Khabibi, 2016).

Sifat fisikokimia dari material berukuran nano yang muncul, dan tidak ditemukan pada fase ruah dari material tersebut merupakan fenomena yang unik, di mana penjelasan kuantum yang mendasarinya. Munculnya sifat-sifat ini, banyak dimanfaatkan oleh berbagai bidang, termasuk bidang kesehatan (Sarjoni *et al.*, 2018).

Secara mendasar, terdapat dua tujuan utama perubahan material menjadi nanopartikel. Kedua tujuan tersebut dapat dimanfaatkan sekaligus dalam penelitian maupun industri. Kedua tujuan tersebut ditunjukkan dari perubahan fisikokimia yang dimiliki oleh partikel (Fahmi, 2019) yaitu sebagai berikut :

1. Memperoleh perubahan fisik, yaitu perubahan permukaan

Ukuran yang kecil menyebabkan nanopartikel memiliki luas permukaan yang lebih besar jika dibandingkan dengan partikel sejenis dalam ukuran besar (*bulk*). Perubahan ini lebih bersifat perubahan fisik. Hal ini membuat nanopartikel bersifat lebih reaktif. Reaktivitas material ditentukan oleh atom-atom di permukaan, karena hanya atom-atom tersebut yang bersentuhan langsung dengan material lain. Sifat-sifat ini banyak dimanfaatkan untuk meningkatkan laju suatu reaksi kimia, sifat katalitik, respons afinitas suatu sensor, dan sebagainya.

2. Memperoleh perubahan sifat kimia, yaitu perubahan volume

Pada material kristal, perubahan ukuran volume merupakan bentuk lain dari perubahan kimia, di mana ukuran nanopartikel yang kecil akan meningkatkan

energi spasi karena orbital antar atom semakin renggang. Ketika ukuran partikel menuju orde nanometer, hukum yang berlaku lebih didominasi oleh hukum-hukum mekanika kuantum. Pengaruh energi pada orbital elektron terhadap ukuran dan perubahan energi ikatan antar kisi menjadi faktor utama merenggangnya orbital dari atom penyusun material berukuran nano. Fenomena ini berimbas pada beberapa sifat material seperti perubahan warna yang dipancarkan, transparansi, kekuatan mekanik, konduktivitas listrik, dan kemagnetan.

Material berukuran nanometer memiliki sejumlah sifat fisikokimia yang lebih unggul daripada material berukuran besar (*ruah/bulk*). Disamping itu, material berukuran nanometer memiliki sifat yang kaya karena menghasilkan sifat yang tidak dimiliki oleh material berukuran besar. Sejumlah sifat tersebut dapat diubah-ubah melalui pengontrolan ukuran material, pengaturan komposisi kimia, modifikasi permukaan, dan pengontrolan interaksi antar partikel (Kurniasih *et al.*, 2018).

## **METODE SINTESIS NANOPARTIKEL**

Banyaknya pemanfaatan nanopartikel saat ini, tidak terlepas dari kemungkinan untuk menyintesis produk-produk nanomaterial. Sintesis nanopartikel yang dapat dilakukan dalam fase padat, cair, dan gas. Proses sintesis dapat berlangsung secara fisika maupun kimia. Proses sintesis secara fisika tidak melibatkan reaksi kimia, yang terjadi hanya pemecahan material besar menjadi material berukuran nanometer atau penggabungan material berukuran sangat kecil menjadi partikel berukuran nano. Proses sintesis kimia melibatkan reaksi kimia dari sejumlah material awal sehingga dihasilkan material lain yang berukuran nanometer (Fahmi, 2019).

### **Metode *Top-Down***

Metode top down adalah salah satu metode sintesis nanopartikel melalui pemecahan material yang berukuran besar menjadi partikel dengan ukuran nanometer. Metode ini tidak melibatkan reaksi kimia pada prekursor sehingga sering disebut sebagai metode fisika (Fahmi, 2019).

#### **1. Litografi (*Nanolithography*)**

Merupakan metode sintesis nanopartikel berupa pola pada rentang ukuran 1 nanometer hingga puluhan millimeter. Metode ini terbagi menjadi beberapa teknik, antara lain fotolitografi, litografi berkas elektron, dan berkas ion terfokus.

#### **2. Sistem Grinding (*Ball Mill*)**

Metode ini menggunakan media *grinding* yang terbuat dari *wolfram* karbida maupun baja. Prinsip kerjanya adalah penghalusan/penghancuran bahan

menggunakan bola penumbuk yang berada di dalam tabung yang berputar pada sumbu horizontal.

### 3. Mekanokimia

Metode ini memanfaatkan gelombang ultrasonik yang ditembakkan pada medium cair untuk menghasilkan gelembung kavitasi sehingga dapat dihasilkan partikel dalam skala nanometer. Mekanokimia merupakan paduan antara fenomena mekanik dan kimia dari padatan yang ditekan secara mekanik.

### 4. Paduan Mekanik

Metode ini mengacu pada sintesis nanokomposit menggunakan penumbuk dengan mencampurkan logam atau oksida logam sebagai substituent dari komposit. Proses ini diawali dengan penggilingan material paduan oleh bola penumbuk hingga menghasilkan bubuk halus. Kemudian dilakukan proses pemanasan di bawah titik leleh logam dan pemisahan produk akhir.

### **Metode *Bottem-Up***

Metode bottem up digunakan untuk sintesis nanopartikel melalui penggabungan material yang berukuran sangat kecil seperti klaster menjadi partikel berukuran nanometer. Metode ini melibatkan reaksi kimia pada prekursor sehingga metode ini juga dikenal sebagai metode kimia (Fahmi, 2019).

#### 1. Deposisi Uap Kimia

Proses ini menggunakan prekursor gas yang bereaksi untuk membentuk lapisan padat pada substrat yang dipanaskan. Material yang berfungsi sebagai substrat yang dicampurkan dengan prekursor gas yang mudah bereaksi/terurai pada permukaan substrat sehingga menghasilkan endapan yang diinginkan. Proses

ini seringkali menghasilkan produk samping yang dapat dihilangkan menggunakan aliran gas yang melewati wadah reaksi. Metode ini melibatkan reaksi kimia pada suhu tinggi sehingga membutuhkan sumber panas.

## 2. Dekomposisi Termal / Termolisis

Termolisis merupakan proses dekomposisi secara kimia yang disebabkan oleh panas. Termolisis berlangsung pada suhu dekomposisi substrat yaitu suhu yang menyebabkan substrat dapat terdekomposisi secara kimia.

## 3. Dekomposisi Uap Fisik / *Physical Vapor Deposition* (PVD)

Proses deposisi ini menggunakan material berupa padatan atau cairan yang selanjutnya diuapkan dan didinginkan secara cepat sehingga menghasilkan nanopartikel yang diinginkan. Deposisi uap fisik dapat digunakan pada material yang memiliki titik leleh yang tinggi dan tekanan uap yang rendah.

## 4. Reduksi Kimia

Metode ini melibatkan reaksi reduksi dari ion yang menghasilkan padatan dengan bilangan oksida nol. Proses ini menggunakan peralatan yang tidak terlalu rumit dan waktu yang relatif cepat, namun dapat menghasilkan nanopartikel dengan jumlah yang banyak.

## 5. Reduksi Tidak Langsung

Metode ini tidak menggunakan senyawa kimia pereduksi secara langsung sehingga tidak menimbulkan pengotor tambahan pada nanopartikel. Metode reduksi tidak langsung meliputi fotoreduksi, gamaradiolisis, gelombang ultrasonik, *microwave*, dan plasma cair.

#### 6. Proses *Spray Drying*

Proses ini digunakan untuk menghasilkan partikel bubuk dengan ukuran dan kelembapan tertentu dari bahan cair yang dikeringkan dengan cepat menggunakan gas panas. Metode ini dapat diaplikasikan pada material yang sensitif terhadap panas.

#### 7. Proses *Spray Pyrolysis*

Proses ini meliputi atomisasi suatu larutan dan pemanasan tetesan untuk menghasilkan partikel padat. Nanopartikel yang dihasilkan memiliki ukuran dan kelembapan tertentu. Ada empat tahapan utama pada *spray pyrolysis* yaitu pembentukan tetesan dari larutan prekursor, penyusutan ukuran tetesan karena evaporasi, konversi prekursor menjadi oksida, dan pembentukan partikel padat. Tetesan dapat dihasilkan melalui atomisasi cairan dan atomisasi ultrasonik. Atomisasi cairan menghasilkan luaran yang tinggi dengan distribusi ukuran yang lebar, sedangkan atomisasi ultrasonik menghasilkan luaran rendah namun distribusi ukuran yang sempit.

#### 8. Sintesis Solvotermal

Metode ini menggunakan pelarut bukan air yang dipanaskan pada suhu di atas titik didihnya sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan kelarutan padatan dan meningkatkan kecepatan reaksi. Proses sintesis nanopartikel dengan metode ini dilakukan pada sistem tertutup. Proses ini menghasilkan nanopartikel dengan ukuran, distribusi bentuk, dan kristalinitas yang terkontrol. Karakteristik nanopartikel yang dihasilkan dapat diubah melalui pengaturan parameter



eksperimen, seperti suhu, waktu reaksi, jenis pelarut, jenis surfaktan, dan jenis prekursor yang digunakan.

#### 9. Fluida Superkritik

Metode ini merupakan substansi yang berada pada suhu dan tekanan di atas titik kritis. Fluida ini memiliki karakteristik yang khas seperti gas sekaligus cairan, yaitu dapat berdifusi melalui benda padat (seperti gas) dan dapat melarutkan benda (seperti sifat cairan). Fluida ini dapat digunakan sebagai pelarut dengan daya kelarutan yang cukup tinggi. Salah satu contoh fluida seperti ini adalah CO<sub>2</sub> yang dihasilkan dengan memberikan penambahan suhu dan tekanan hingga di atas titik didihnya. Pada daerah di dekat titik kritis, perubahan kecil pada tekanan maupun suhu memberikan efek yang besar pada sifat fluida, seperti densitas, viskositas, dan lain-lain.

#### 10. Sol-Gel

Metode ini diawali dengan sintesis koloid dari rekatan melalui proses disperse maupun hidrolisis. Proses disperse melibatkan larutan oksida atau hidroksida dengan pH tertentu yang menyebabkan partikel padat tetap sebagai suspensi, sehingga terbentuk koloid berupa suspensi padatan dalam fase cair (sol). Proses lainnya adalah hidrolisis yang melibatkan penambahan larutan alkoksida ke dalam air sehingga terjadi hidrolisis yang menghasilkan oksida dalam bentuk koloid (sol). Sol yang telah terbentuk diubah menjadi gel melalui reaksi dehidrasi maupun polimerisasi. Gel yang terbentuk berupa padatan sedikit kaku yang mengandung cairan/pelarut di dalamnya. Gel yang telah terbentuk ini dipanaskan melalui kalsinasi untuk mengdekomposisi alkoksida dan menghasilkan oksida.

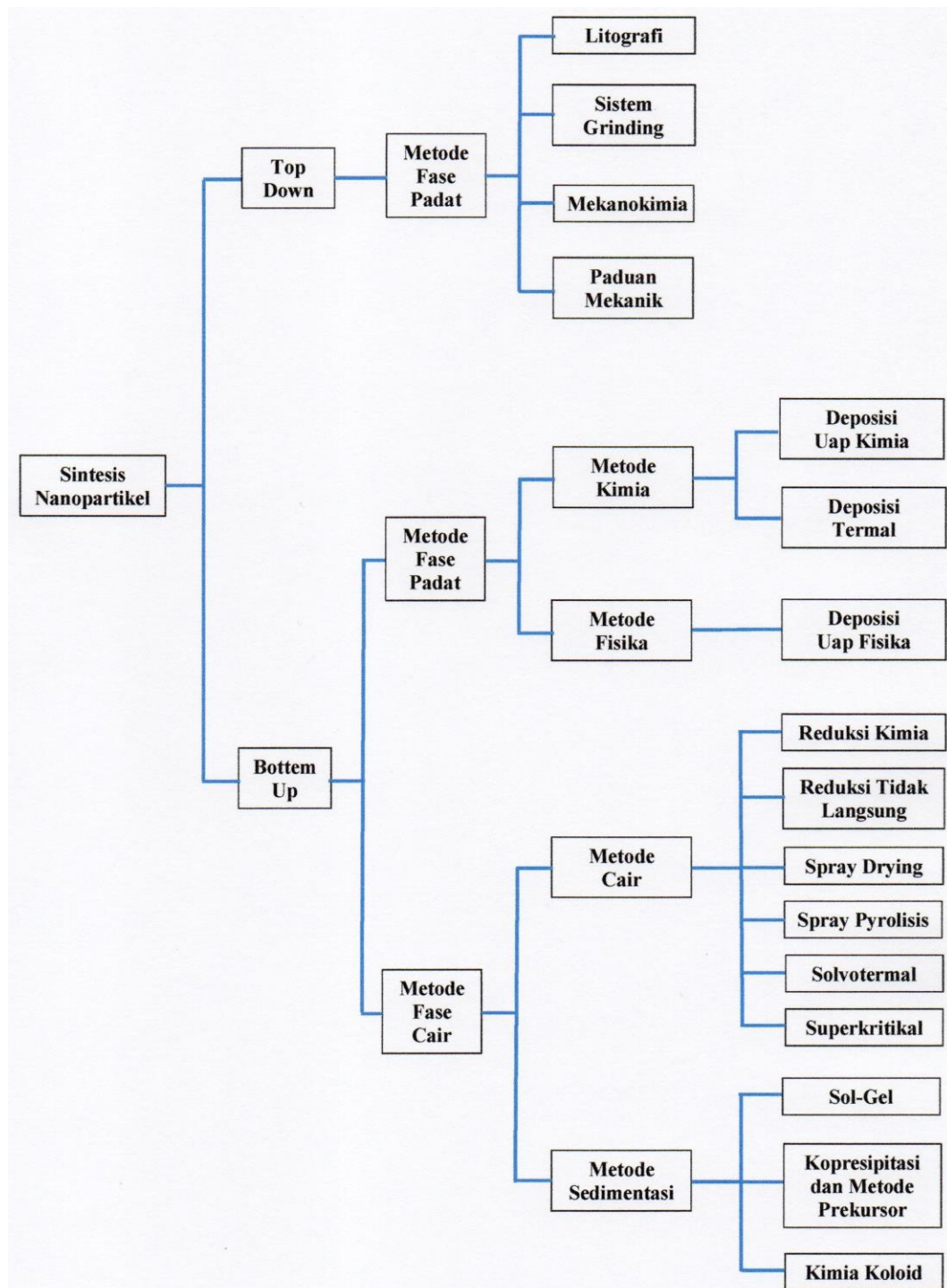
Proses ini membutuhkan suhu yang lebih rendah dan menghasilkan nanopartikel yang lebih homogen.

#### 11. Kopresipitasi dan Metode Prekursor

Metode ini melibatkan kation dari suatu medium yang diendapkan secara Bersama. Beberapa zat yang dapat digunakan sebagai pengendap antara lain hidroksida, sulfat, karbonat, dan oksalat. Kopresipitasi didasarkan pada pengendapan beberapa substansi secara bersama didasarkan pada pengendapan beberapa substansi secara bersama ketika melewati titik jenuhnya. Metode ini dapat menghasilkan nanopartikel dengan ukuran yang terkontrol pada suhu rendah. Metode prekursor melibatkan pencampuran pada tingkat atomik dengan membentuk senyawa pada prekursor di mana bagian senyawa yang diinginkan berada dalam stoikiometri yang tepat.

#### 12. Kimia Koloid

Berbagai jenis nanopartikel seperti semikonduktor, isolator, logam mulia, dan magnetik dalam bentuk koloid telah berhasil disintesis dengan diameter 3-50 nm. Nanopartikel dalam bentuk koloid ini memerlukan perlakuan untuk menghindari aglomerasi yang menyebabkan ukuran partikel bertambah besar. Hal ini dapat dihindari dengan melakukan deaktivasi melalui penambahan bahan yang menghambat aktivasi yang bekerja dengan cara melindungi permukaan nanopartikel agar tidak terjadi aglomerasi.



Gambar 1. Metode Sintesis Nanopartikel (Fahmi, 2019)

## PEMBUATAN NANOEKSTRAK

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang cukup melimpah. Salah satu kekayaan hayati yang ada di Indonesia adalah tumbuhan obat yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia (Nugroho, 2017).

Tumbuhan obat yang ada di Indonesia secara tradisional digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit, karena tumbuhan obat mengandung senyawa aktif yang berkasiat sebagai senyawa obat, seperti mengandung senyawa flavonoid yang berguna sebagai antioksidan yang berperan mengatasi radikal bebas (Emilda, 2018).

Efisiensi dari penggunaan obat selalu terhambat oleh kemampuan obat itu sendiri dalam mencapai tempat aksinya. Dalam banyak kasus (ukuran normal), hanya sedikit jumlah obat yang dapat mencapai target tempat aksi, sementara sebagian besar dari obat didistribusikan keseluruh tubuh sesuai dengan kandungan kimiafisik dan biokimianya (Kurniasari dan Atun, 2017).

Nanoekstrak merupakan partikel koloid padat dengan diameter 1-100 nm. Mengandung makromolekuler material dan dapat digunakan untuk pengobatan sebagai pembawa obat yang senyawa aktifnya telah terlarut, terjerat, dan terkapsulkan (Cary *et al.*, 2019).

Kitosan adalah polisakarida yang banyak terdapat di alam dan merupakan senyawa poli (N-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranos) atau glukosamin hasil deasetilasi kitin / poli (N-asetil-2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranos). Kitosan

mempunyai sifat spesifik yaitu adanya sifat bioaktif, biokompatibel, pengkelat, antibakteri, dan dapat terbiodegrasi (Alauhdin dan Widiarti, 2014).

Salah satu pemanfaatan kitosan dalam sistem biomedis atau biologis adalah pada sistem penghantaran obat dan pelepasan obat. Pada sistem ini pelepasan obat dengan kitosan memiliki keterbatasan karena kitosan cepat sekali menyerap air dan memiliki derajat swelling yang tinggi dalam lingkungan berair, hal tersebut akan menyebabkan pelepasan obat terjadi lebih cepat (Hao *et al.*, 2017).

Pembuatan partikel kitosan ikatan silang dengan tripolifosfat (TPP) dengan metode gelasi ionik. Kitosan yang diikat silang secara ionik menunjukkan derajat swelling yang rendah. Kitosan yang terikat silang ini juga mudah diatur sesuai dengan fungsi yang diinginkan, seperti hidrofilitas, kerapatan, dan kristalinitas (Kurniasih *et al.*, 2018).

Manfaat baik yang terkandung dalam tumbuhan obat dapat ditingkatkan dengan cara mengubahnya menjadi bentuk nanopartikel yang dapat disebut sebagai nanoekstrak. Perbandingan yang tepat antara kitosan dan Na-TPP serta ekstrak dari tumbuhan obat dalam pembuatan nanoekstrak sangat menentukan nanopartikel yang dihasilkan (Fitri *et al.*, 2020).

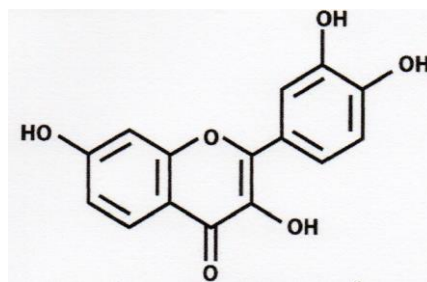
Pembuatan nanoekstrak diawali dengan penyiapan sampel berupa komponen dari tumbuhan obat yang dijadikan bahan ekstraknya. Sampel dibersihkan, dipotong-potong lalu dikeringkan di udara terbuka dengan bantuan sinar matahari. Sampel yang telah kering kemudian digiling sampai menjadi serbuk halus yang siap diekstraksi (Laili *et al.*, 2018).

Serbuk sampel dimaserasi menggunakan etanol teknis 96% dan dilakukan berulang-ulang pada suhu kamar. Ekstrak kental dari tumbuhan obat diperoleh dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan evaporator sehingga menghasilkan ekstrak kental (Nugroho, 2017).

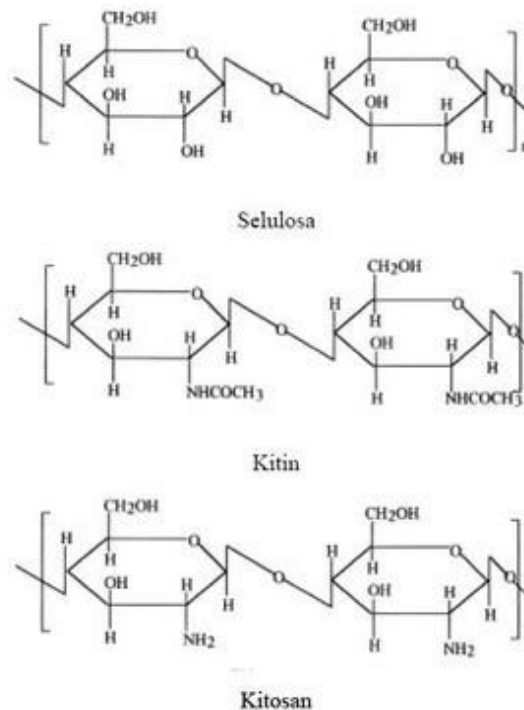
Ekstrak tersebut dilarutkan dalam etanol ditambahkan akuades dalam gelas beker. Kitosan dalam asam asetat glasial dan larutan Natrium-tripolifosfat (NaTPP). Selanjutnya campuran ekstrak, kitosan, dan NaTTP diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai terbentuk koloid. Koloid nanoekstrak kitosan-NaTPP-ekstrak kemudian dipisahkan dengan cara sentrifugasi. Padatan yang diperoleh kemudian dimasukkan dalam freezer sampai kering (Adhyatmika *et al*, 2017). Koloid nanoekstrak yang dihasilkan dikarakterisasi menggunakan PSA (Particle Size Analyzer) dan Zeta Sizer untuk mengetahui ukuran partikel dan nilai zeta potensialnya. Padatan yang terbentuk dikarakterisasi menggunakan SEM (Scanning Electron Microscopy) untuk mengetahui bentuk morfologi dalam bentuk padatannya. Karakterisasi selanjutnya menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) untuk mengetahui kesamaan senyawa dalam ekstrak maupun dalam sediaan nanoekstraknya (Fahmi, 2019).

Penggunaan NaTPP sebagai agen ikatan silang bertujuan agar tidak terjadi ikatan yang terlalu banyak antara polianion TPP dengan gugus amina pada kitosan. Metode ini disebut metode gelasi ionik dengan menggunakan pasangan polimer kitosan dan NaTPP. Mekanisme terbentuknya nanoekstrak berdasarkan interaksi elektostatik antara gugus amina dari kitosan dan gugus negatif dari

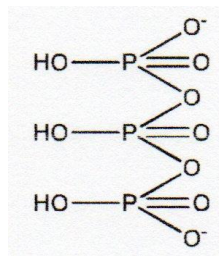
polianion seperti tripolifosfat. Kitosan yang terlarut dalam asam asetat kemudian ditambahkan dengan polianion atau anionik polimer, secara spontan akan terbentuk nanoekstrak dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruangan. Ukuran dan struktur permukaan partikel dapat dimodifikasi dengan memvariasikan rasio kitosan dan NaTPP (Adhyatmika *et al.*, 2017).



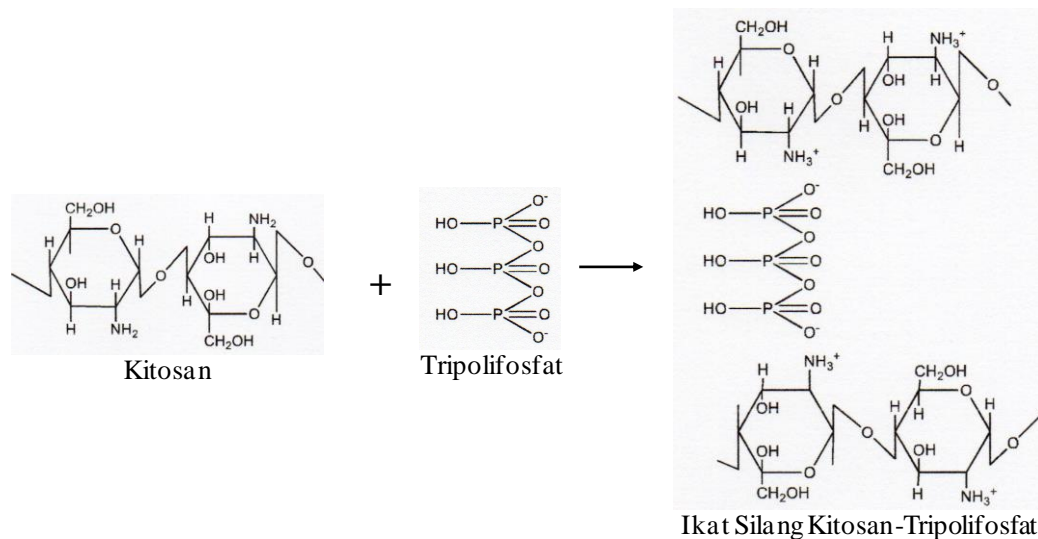
Gambar 2. Struktur Flavonoid (Caro-Ordieres *et al.*, 2020)



Gambar 3. Struktur Selulosa, Kitin, dan Kitosan (Alauhdin dan Widiarti, 2014)

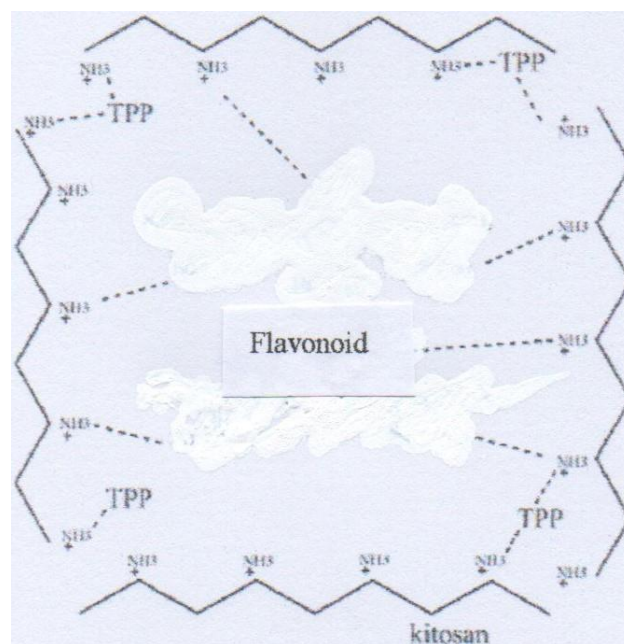


Gambar 4. Struktur Tripolifosfat (Kurniasih *et al.*, 2018)



Ikat Silang Kitosan-Tripolifosfat

Gambar 5. Skema Pembentukan Kitosan-Tripolifosfat Menggunakan Metode Gelaksi Ionik (Sriwidodo *et al.*, 2019)



Gambar 6. Interaksi Kimia Yang Terbentuk Antara Flavonoid, Kitosan, dan Tripolifosfat (Adhyatmika *et al.*, 2017)



Beberapa metode telah digunakan untuk membuat sistem partikulat kitosan dan penentuan metode yang digunakan tergantung beberapa faktor seperti ukuran partikel yang diinginkan, stabilitas kimia dan panas dari bahan aktif, reproduksibilitas profil kinetik pelepasan produk akhir, dan toksisitas residu yang terkait dengan produk akhir (Batra *et al.*, 2019). Beberapa metode yang dapat digunakan untuk memproduksi mikro dan nanopartikel kitosan dari kitosan adalah metode ikatan silang emulsi (*emulsion cross-linking*), presipitasi (*precipitation*), pengeringan semprot (*spray drying*), penggabungan droplet emulsi (*emulsion-droplet coalescence*), gelasi ionik (*ionic gelation*), *reverse micellar*, dan kompleks polielektrolit (*polyelectrolyte complex*) (Sriwidodo *et al.*, 2019).

## **PRODUK NANOEKSTRAK**

Komponen metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan obat diketahui memiliki beberapa manfaat sehingga sangat banyak dilakukan ekstraksi terhadap tumbuhan obat tersebut untuk memperoleh kandungannya (Saifudin, 2014).

Penggunaan ekstrak dari tumbuhan obat sebagai bahan terapi sering kali menimbulkan masalah ketika diberikan peroral. Senyawa aktif dari tumbuhan obat memiliki bioavailabilitas yang kurang baik dan tidak stabil oleh faktor lingkungan seperti temperatur, pH, dan cahaya (Esfandiarpour *et al.*, 2017), sedangkan dalam bentuk alami, komponen aktif tersebut sedikit diabsorpsi pada gastrointestinal dan usus (Sriwidodo *et al.*, 2019).

Teknologi nanopartikel dapat meningkatkan bioavailabilitas obat untuk kelarutan suatu obat yang rendah dalam sirkulasi sistemik. Kemampuan tersebut berlaku umum pada penghantaran obat secara oral (Martien *et al.*, 2012). Peningkatan kelarutan tersebut dimungkinkan terjadi karena adanya pengecilan ukuran partikel dengan teknologi nano yang dapat meningkatkan luas permukaan sehingga kelarutan obat meningkat, peningkatan tersebut dapat meningkatkan bioavailabilitas dan efikasinya (Rahmi *et al.*, 2012).

Penyalut yang biasa digunakan dalam teknologi nanopartikel dengan bahan aktif dari alam adalah kitosan (Sarjono *et al.*, 2018). Kitosan memiliki sifat biocompatibel, tidak beracun, dan biodegradabel (Lusiana dan Pranotoningtyas, 2018). Dalam pembuatan nanopartikel dengan penyalut kitosan, perlu dilakukan penambahan Natrium Tripolifosfat (Na-TPP) yang digunakan sebagai pasangan

ion dari kitosan yang memiliki sifat sebagai anion multivalen yang dapat membentuk ikatan sambung silang dengan kitosan (Adhyatmika *et al.*, 2017).

Tahap-tahapan dalam pembuatan produk nanoekstrak dari tumbuhan obat dengan penyalut kitosan dan penyambung silang Natrium tripolifosfat dengan karakter partikel nano yang dihasilkan diuraikan secara bertahap di bawah ini.

### **Optimasi**

Ekstrak dari tumbuhan obat dilarutkan dalam pelarut organik dan dikombinasikan dengan variasi kadar larutan kitosan. Selanjutnya ditambahkan sejumlah larutan natrium tripolifosfat. Pada tahap akhir, pelarut organik dibiarkan menguap. Keadaan fisik sistem dispersi yang paling stabil (formula terpilih) selanjutnya dilakukan *scaling up*. Penguapan dilakukan dengan menuangkan campuran pada cawan petri, agar penguapan yang terjadi menjadi lebih cepat (Roy *et al.*, 2019).

Hasil optimasi tahap awal dari kombinasi ekstrak tumbuhan obat pada pelarut etanol dan aseton dengan kitosan menghasilkan formula yang stabil. Dapar asetat merupakan pelarut ionik yang jelas memiliki polaritas yang mutlak. Sedangkan pelarut organik merupakan pelarut nonpolar. Ketika masing-masing komponen terlarut pada pelarutnya masing-masing, kelarutan itu akan terganggu dengan perubahan polaritas media di sekitarnya. Pada saat ekstrak tumbuhan obat dan kitosan dicampurkan, maka akan terbentuk media dengan polaritas gabungan antara dapar dan pelarut organik (Fitri *et al.*, 2020).

Dapar asetat dan aseton memiliki polaritas dengan margin yang lebih lebar dibandingkan dapar asetat dengan etanol. Akibatnya, pada saat pencampuran,

perubahan polaritas dari polaritas pelarut asal menjadi polaritas gabungan akan menjadi lebih lunak pada pencampuran etanol dengan dapar asetat, dan bersifat lebih ekstrim pada pencampuran dapar asetat dengan aseton. Hasilnya, setelah pelarut organik diuapkan seluruhnya, pada formula yang mengandung aseton akan langsung mengendap karena perubahan polaritas yang lebih bermakna, sedangkan pada penggunaan etanol, hal ini lebih tidak terlihat (Saifudin, 2014).

### **Produksi Nanoekstrak**

Larutan ekstrak tumbuhan obat dilarutkan dalam pelarut organik dan kitosan dalam dapar asetat berdasarkan kadar yang diperoleh dari hasil optimasi. Keduanya dicampurkan dalam gelas beaker dengan pengadukan menggunakan pengaduk magnetik tanpa pemanasan. Selanjutnya ditambahkan tripolifosfat dengan kadar sesuai dengan campuran dari formula hasil optimasi, dan pengadukan dilanjutkan kembali. Kemudian campuran yang dihasilkan diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada pemanasan penangas air pada suhu 50°C. Setelah volume mencapai setengah dari volume campuran semula (pelarut organik diuap seluruhnya), dispersi yang terbentuk diberi perlakuan ultrasonikasi. Untuk lebih menghaluskan ukuran partikel yang terdispersi, dilakukan homogenisasi menggunakan homogenizer ultra-turrax (Hao *et al.*, 2017).

### **Karakterisasi Morfologi**

Untuk mengetahui morfologi nanopartikel kitosan-ekstrak tumbuhan obat digunakan mikroskop elektron. Sampel nanoekstrak ditetesi di atas *copper grid* kemudian dilapisi karbon dengan alat *Auto Carbon Coated* selama 5 detik setelah itu dikeringkan pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah sampel nanoekstrak

kering dilapisi lagi dengan karbon lalu *copper grid* dimasukkan ke dalam holder dan sampel siap dianalisis (Fahmi, 2019).

Berdasarkan hasil pengukuran dengan mikroskop elektron akan memberikan gambaran apakah nanoekstrak yang dihasilkan memiliki struktur geometris yang teratur dengan ukuran molekul-molekulnya yang homogen. Semakin homogen ukuran partikel penyusun materi tersebut maka nanoekstrak yang dihasilkan akan memiliki bentuk kristal yang jelas, sedangkan sebaliknya akan memberikan struktur yang amorp (Esfandiarpour-Boroujeni *et al.*, 2017).

Semakin sempit penyebaran ukuran partikel penyusun nanoekstrak, maka materi tersebut akan memiliki permukaan yang rata sehingga meningkatkan daya absorpsinya karena terjadinya jumlah kontak antara zat aktif yang terdapat pada nanoekstrak dengan reseptor semakin besar (Martien *et al.*, 2012).

#### **Karakterisasi Ukuran Partikel, Indeks Polidispersitas, dan Potensial Zeta**

Hasil analisis ukuran partikel nanoekstrak merupakan keluaran dari analisator ukuran partikel. Selain data ukuran partikel, indeks polidispersitas juga sangat menentukan keberhasilan sintesis nanoekstrak. Indeks ini menggambarkan distribusi ukuran partikel dalam sistem dispersi, semakin kecil nilai indeks berarti ukuran partikel semakin homogen. Nilai ini menjadi penting karena jika rentang distribusi ukuran partikel sangat luas, maka profil absorpsi secara keseluruhan menjadi sulit untuk dianalisis, karena karakter partikel yang sangat beragam. Selain itu, nilai indeks ini juga dapat digunakan untuk mengetahui seberapa jauh partikel telah teragregasi. Jika nilai ini terus berubah-ubah dari waktu ke waktu, maka hal ini menunjukkan proses agregasi telah

terjadi. Jika digunakan batas variasi sebesar 10%, maka nilai indeks polidispersitas nanoekstrak masih cukup besar. Artinya, meski tetap pada rentang ukuran nano, nanoekstrak dalam sistem masih kurang homogen. Hal ini disebabkan karena pada ukuran partikel yang semakin kecil, akan sangat sulit diperoleh variasi pada batas yang sama pada partikel makro, karena nilai variasi ini bersifat relatif terhadap rerata. Pada ukuran partikel yang terdistribusi normal, nilai maksimum dan minimum ini jumlahnya sangat kecil (Adhyatmika *et al.*, 2017).

Meskipun dalam formulasi, akhirnya kebanyakan gugus amonium ini berikatan dengan ekstrak tumbuhan obat dan tripolifosfat, namun karena kitosan merupakan polimer, maka gugus amonium yang dimilikinya tetap tersisa dan menyebabkan densitas muatan positif. Muatan positif ini bagus untuk penghantaran obat, didukung dengan nilai muatannya yang tidak terlalu besar, sehingga cukup aman bagi sel (Sriwidodo *et al.*, 2019).

Usaha peningkatan nilai potensial zeta dapat dilakukan dengan penambahan komposisi kitosan dalam campuran, namun hal ini berpotensi menyebabkan pembentukan partikel yang lebih besar. Oleh karena itu, nilai optimal potensial zeta untuk sistem dispersi secara umum adalah bersifat spesifik untuk tiap tujuan penghantaran obat. Nilai muatan yang pasti untuk nanoekstrak sediaan obat secara umum tidak dapat diputuskan hanya dari sisi kestabilannya. Potensial zeta yang bernilai positif, berperan dalam menjaga stabilitas nanoekstrak dalam sistem disperse (Alauhdin dan Widiarti, 2014).

### **Efisiensi Penjebakan (*Entrapment Efficiency*)**

Perhitungan banyaknya zat aktif dari ekstrak tumbuhan obat yang berada dalam sistem nanoekstrak sangat ditentukan oleh metode ekstraksi yang digunakan. Nanoekstrak hasil preparasi dengan kitosan dilarutkan dalam akuades dan di-vorteks sampai terbentuk larutan nanoekstrak yang terdispersi. Ekstrak bebas yang tidak terkapsulkan dalam dispersi nanoekstrak, diekstraksi dengan menggunakan etil asetat, lalu dikocok bolak-balik dan dipisahkan fase air dan fase etil asetat. Ekstrak yang tidak terkapsulkan dari formulasi nanoekstrak ditetapkan dengan menggunakan spektrofotometer dan dibandingkan dengan control (Adhyatmika *et al.*, 2017).

Nilai *entrapment efficiency* merupakan metode pembuatan nanoekstrak yang dilakukan apakah sudah sangat efektif atau belum, sehingga mampu mengikat hampir keseluruhan komponen ekstrak dari tumbuhan obat tersebut yang diformulasikan ke dalam bentuk kompleks nanoekstrak (Martien *et al.*, 2012).

Reaksi gelasi ionik secara umum memang dapat terjadi secara spontan dalam pencampuran yang homogen, sehingga memungkinkan untuk pengikatan zat aktif ke dalam matriks dengan efisien. Penambahan tripolifosfat sebagai pengait silang juga berperan dalam menjaga kestabilan nanoekstrak, sehingga pada proses pemisahan ekstrak bebas tidak terjadi kerusakan kompleks nanoekstrak dalam waktu singkat selama proses analisis, yang dapat menurunkan tingkat *entrapment efficiency* (Adhyatmika *et al.*, 2017)

## **MEKANISME MOLEKULER TERAPI NANOEKSTRAK**

### **Terapi Farmasetis**

Pengembangan teknologi untuk terapi farmasetis terdiri dari tiga faktor utama 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*). Tiga pertimbangan ini melatarbelakangi usaha pengembangan teknologi penghantaran obat (Martien *et al.*, 2012).

Saat ini telah banyak teknologi penghantaran obat diperkenalkan sebagai upaya melahirkan obat baru dengan sifat yang ideal, mulai dari penemuan struktur obat baru hasil sintesis original maupun hasil modifikasi, kuantifikasi hubungan struktur-aktivitas secara komputasional hingga pada pengembangan teknologi formulasinya. Penelusuran aktivitas obat juga telah mencapai pemahaman pada aras molekuler dengan telah diperkenalkannya berbagai instrumen dan metode analisis molekuler (Fitri *at al.*, 2020).

Pertimbangan fisikokimia dan molekuler meliputi kesetimbangan ion-molekul, kesetimbangan hidrofilik-lipofilik, proses biofarmasetika, metabolisme dan biodegradasi, afinitas obat-reseptor, pertimbangan fisiologis, serta biokompatibilitas dari sistem menjadi faktor utama yang diperhatikan dalam melakukan penelitian pada bidang ini. Meskipun demikian, semakin majunya pemahaman terhadap mekanisme yang terjadi di dalam tubuh membuat berbagai masalah yang pada mulanya kurang diperhatikan menjadi bahan pertimbangan yang harus dicarikan solusinya (Kurniasari dan Atun, 2017).



Pada beberapa kasus, misalnya pada tahap awal, sebuah molekul obat yang potensial tidak dapat menembus sistem pertahanan tubuh dengan baik sehingga ketersediaan hayati senyawa dalam sirkulasi sistemik maupun jaringan yang sakit menjadi sangat rendah. Berbagai penelitian dikembangkan untuk meningkatkan kadar senyawa tersebut di dalam darah, baik dengan meningkatkan efektivitas dan kecepatan absorpsi, menghindari biodegradasi oleh enzim, maupun modifikasi molekuler untuk meningkatkan absorpsi seluler. Namun demikian permasalahan timbul setelah usaha-usaha yang dilakukan mencapai keberhasilan yaitu ditemukan gejala ketoksikan atau munculnya efek samping maupun efek balik pada studi keamanan secara *in vivo* karena jumlah obat yang mencapai kadar yang tidak dapat ditoleransi oleh tubuh. Permasalahan tersebut mengubah cara pandang para peneliti dalam pengembangan teknologi formulasi yaitu untuk lebih fokus pada peningkatan efektivitas penghantaran obat pada jumlah yang tepat. Fakta ini membawa berbagai penelitian pada kecenderungan untuk melakukan berbagai modifikasi pada sistem terbaik yang ada (Rahmi *et al.*, 2012).

Penghantaran nanopartikel dideskripsikan sebagai formulasi suatu partikel yang terdispersi pada ukuran nanometer atau skala per seribu mikron. Batasan ukuran partikel yang pasti untuk sistem ini masih terdapat perbedaan karena nanopartikel pada sistem penghantaran obat berbeda dengan teknologi nanopartikel secara umum. Pada beberapa sumber disebutkan bahwa nanopartikel baru menunjukkan sifat khasnya pada ukuran diameter di bawah 100 nm, namun batasan ini sulit dicapai untuk sistem nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat. Nanopartikel obat secara umum harus terkandung obat dengan jumlah yang

cukup di dalam matriks pada tiap butir partikel, sehingga memerlukan ukuran yang relatif lebih besar. Meskipun demikian secara umum tetap disepakati bahwa nanopartikel merupakan partikel yang memiliki ukuran di bawah 1 mikron. Ukuran ini dapat dikarakterisasi secara sederhana dan secara visual menghasilkan dispersi yang relatif transparan, serta perpanjangan lama pengendapan disebabkan karena resultan gaya ke bawah akibat gravitasi sudah jauh berkurang. Hal tersebut sebagai akibat dari berkurangnya massa tiap partikel dan peningkatan luas permukaan total yang signifikan menghasilkan interaksi tolak menolak antar partikel yang besar dan muncul fenomena gerak Brown sebagai salah satu karakter spesifik partikel pada ukuran koloidal (Maryam *et al.*, 2018).

Beberapa kelebihan nanopartikel adalah kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel koloidal (Hao *et al.*, 2017), kemampuan untuk menembus dinding sel yang lebih tinggi, baik melalui difusi maupun opsonifikasi, dan fleksibilitasnya untuk dikombinasi dengan berbagai teknologi lain sehingga membuka potensi yang luas untuk dikembangkan pada berbagai keperluan dan target. Kelebihan lain dari nanopartikel adalah adanya peningkatan afinitas dari sistem karena peningkatan luas permukaan kontak pada jumlah yang sama (Fitri *et al.*, 2020). Pembentukan nanopartikel dapat dicapai dengan berbagai teknik yang sederhana. Nanopartikel pada sediaan bahan obat dapat berupa sistem obat dalam matriks seperti nanosfer dan nanokapsul, nanoliposom, nanoemulsi, dan sebagai sistem yang dikombinasikan dalam perancah (*scaffold*) dan penghantaran transdermal (Sriwidodo *et al.*, 2019).

Kemampuan nanopartikel untuk meningkatkan ketersediaan hayati obat dengan kelarutan yang rendah dalam sirkulasi sistemik telah banyak dibuktikan. Kemampuan ini berlaku umum pada berbagai aplikasi penghantaran, oral, intravena, pulmonar, dan transdermal (Martien *et al.*, 2012). Peningkatan jumlah obat dalam darah pada penghantaran sistemik juga akan meningkatkan resiko munculnya efek samping maupun efek balik, hingga pada resiko tercapainya batas kadar toksik. Pada banyak kasus, peningkatan kadar obat dalam darah ini sangat diperlukan bagi obat untuk dapat menimbulkan efek farmakologis (Katzung *et al.*, 2017). Oleh karena itu, nanopartikel memberikan solusi yang baik karena dapat memberikan efek farmakologis pada dosis yang lebih kecil (*efisien*) (Cary *et al.*, 2019). Kesesuaian bentuk sediaan nanopartikel dengan jaringan target dan penyakit diperlukan untuk memperoleh sistem yang dapat memberikan hasil terapi yang optimal. Jaminan akan tercapainya tujuan terapi merupakan syarat mutlak yang diperlukan untuk dapat memperkenalkan produk sistem penghantaran obat baru yang dapat diandalkan (Sriwidodo *et al.*, 2019).

### **Aktivitas Penghambatan**

Aktivitas penghambatan nanoekstrak dapat dilihat dari berbagai parameter yang dapat diperoleh dari analisis hasil pengujian. Di antaranya adalah nilai daya hambat pada tiap waktu pengujian serta daya anti. Dari kedua parameter tersebut, dapat diketahui pada dosis berapa, nanoekstrak berhasil meningkatkan nilai daya hambat secara signifikan ( $p < 0,05$ ), dan setara dengan dosis ekstrak tanpa preparasi (Batra *et al.*, 2019).

Keberhasilan preparasi nanoekstrak menggunakan matriks kitosan-tripolifosfat untuk meningkatkan efektivitas ekstrak dalam penghambatan secara *in vivo* dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Faktor-faktor ini merupakan aspek-aspek komprehensif, mengingat studi *in vivo* merupakan studi hubungan antara perlakuan dan/atau dosis dengan efek yang timbul pada subjek uji. Karena itu, semua hal yang dapat dimodifikasi pada semua tahapan mulai dari memasukkan obat ke dalam saluran pencernaan, hingga obat mengalami proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan menimbulkan efek, dapat menjadi faktor yang berpengaruh (Katzung *et al.*, 2013).

Pertama, sediaan nanoekstrak menggunakan kitosan ini mampu merusak protein yang mengikat celah antar sel (disebut *tight junction* atau *t-junction*) secara temporer/sementara (Cary *et al.*, 2019), sehingga memungkinkan obat untuk masuk melintasi celah tersebut. Peruraian *t-junction* ini bersifat reversal/temporal (tidak permanen), karena hanya melibatkan mekanisme redistribusi protein claudin-4 (Cldn4) dari membran sel ke sitosol sehingga *t-junction* terbuka. Saat kitosan telah lewat, maka protein Cldn4 akan disintesis untuk memperbaiki *t-junction* (Roy *et al.*, 2019).

Kedua, potensial zeta nanoekstrak yang bermuatan positif memungkinkan interaksi ionik antara ion  $\text{NH}_3^+$  dari kitosan dengan gugus asam sialat yang bermuatan negatif pada membran saluran cerna (Adhyatmika *et al.*, 2017), sehingga partikel dapat tertahan lebih lama di dalam saluran usus, dan memberikan waktu yang lebih lama bagi obat untuk terabsorpsi. Selain itu, nanoekstrak-kitosan juga memiliki kemampuan penetrasi intraseluler yang baik,

sehingga memberikan alternatif absorpsi melalui mekanisme endositosis (Bilia *et al.*, 2014).

Akhirnya, secara umum, nanoekstrak dapat terabsorpsi menembus membran usus melalui dua jalur, baik paraseluler maupun transeluler. Sedangkan pada ekstrak tanpa preparasi nanopartikel, hanya dapat terabsorpsi secara transeluler, dimana karena kelarutannya yang rendah menyebabkan proses difusi pasif ini menjadi kurang optimal dan berjalan lambat (Martien *et al.*, 2012).

Kemudian dari aspek metabolisme, nanopartikel memberikan perlindungan pada ekstrak di dalam darah terhadap metabolisme lintas pertama (*first pass effect*) oleh enzim-enzim sitokrom P450 dalam liver. Salah satu mekanisme kerja yang utama dari metabolisme oleh enzim ini adalah dengan mengenali senyawa-senyawa yang cenderung non-polar, untuk dikonjugasi menjadi senyawa baru yang lebih polar dan kemudian dapat dibuang melalui ginjal. Preparasi menjadi bentuk nanopartikel menyebabkan kompleks bersifat polar, sehingga dapat mengelabui sistem metabolisme ini, meskipun tidak dapat sepenuhnya terhindar karena liver memiliki fungsi deaminasi (menyingkirkan gugus nitrogen) dari amina (Hao *et al.*, 2017), yang dalam hal ini akan mempengaruhi stabilitas kitosan yang kaya gugus amina. Setidaknya ekstrak akan dibebaskan secara bertahap di dalam darah, karena pada dasarnya kemampuan metabolisme oleh enzim sitokrom P450 bersifat partisi, sehingga pada nanopartikel, jumlah ekstrak dalam darah menjadi lebih terkontrol dan stabil karena tidak langsung mengalami metabolisme secara bersamaan. Hal ini memberikan keuntungan efek yang relatif lebih lama. Nilai daya hambat dari

waktu ke waktu membuktikan hal ini, dimana pada ekstrak tanpa preparasi nanopartikel kemampuan untuk menghambat lebih cepat menurun, sedangkan pada nanoekstrak kemampuan daya hambatnya mampu terjaga lebih lama (Cary *et al.*, 2019).

Kombinasi dari peningkatan absorpsi dan penghambatan proses metabolisme ini kemudian secara komprehensif akan meningkatkan ketersediaan hayati (bioavailabilitas) ekstrak dalam darah. Ketersediaan hayati yang meningkat dan terjaga (stabil) akan menyebabkan kadar zat aktif dari ekstrak dapat melampaui kadar efektif minimum dalam waktu yang lebih panjang, atau dalam farmakokinetika disebut meningkatkan durasi terapi. Selain durasi yang meningkat, puncak kadar kurva ketersediaan hayati dari ekstrak tersebut juga meningkat, sehingga dapat meningkatkan respon efek. Artinya, bahwa peningkatan aktivitas *in vivo* secara signifikan merupakan salah satu parameter peningkatan absorpsi obat, karena secara langsung berhubungan dengan ketersediaan obat dalam darah untuk mencapai konsentrasi efektif (Katzung *et al.*, 2017).

## DAFTAR PUSTAKA

- Adhyatmika, Martien, R., Rochmadi, dan Ismail, H. 2017. Preparasi Nanopartikel Senyawa Pentagamavunon-O Menggunakan Matriks Polimer Kitosan Rantai Sedang dan Pengait Silang Natrium Tripolifosfat Melalui Mekanisme Gelaksi Ionik Sebagai Kandidat Obat Antiinflamasi. *Majalah Farmaseutik*. 13(2):65-78.
- Alauhdin, M. dan Widiarti, N. 2014. Sintesis dan Modifikasi Lapis Tipis Kitosan - Tripolifosfat. *Jurnal MIPA*. 37(1):46-52.
- Batra, H., Pawar, S., and Bahl, D. 2019. Curcumin In Combination With Anti-Cancer Drugs: A Nanomedicine Review. *Pharmacological Research* 139:91-105.
- Bilia, A.R., Isacchi, B., Righeschi, C., Guccione, C., and Bergonzi, M.C. 2014. Flavonoids Loaded in Nanocarriers: An Opportunity to Increase Oral Bioavailability and Bioefficacy. *Food and Nutrition Sciences*. 5:1-16.
- Cary, J., Pierson, F.W., and Whittington, A.R. 2019. Simple and Customizable Gelatin Nanoparticle Encapsulation System for Biomedical Applications. *J Nanomater Mol Nanotechnol*. 8(3):1-7.
- Caro-Ordieres, T., Marín-Royo, G., Opazo-Ríos, L., Jiménez-Castilla, L. Moreno, J.A., Gómez-Guerrero, C., and Egido, J. 2020. The Coming Age of Flavonoids in the Treatment of Diabetic Complications. *J. Clin. Med.* 9(346):1-30.
- Emilda. 2018. Efek Senyawa Bioaktif Kayu Manis *Cinnamomum burmanii* NEES EX.BL.) Terhadap Diabetes Melitus: Kajian Pustaka. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 5(1):246-252.
- Esfandiarpour-Boroujeni, S., Bagheri-Khoulenjani, S., Mirzadeh, H., and Amanpour, S. 2017. Fabrication and Study of Curcumin Loaded Nanoparticles Based on Folate-Chitosan for Breas Cancer Therapy Application. *J. Carbohydrate Polymers*. 168(2017):14-21.
- Fahmi, M.Z. 2019. *Nanoteknologi Dalam Perspektif Kesehatan*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Fitri, D., Kiromah, N.Z.W., dan Widiastuti, T.C. 2020. Formulasi Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan Dengan Metode Gelasi Ionik. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 2020(01):61-69.

- Hao, J., Guo, B., Yu, S., Zhang, W., Zhang, D., Wang, J., and Wang, Y. 2017. Encapsulation Of The Flavonoid Quercetin With Chitosan-Coated Nano-Liposomes. *LWT-Food Science and Technology*. 85:37-44.
- Katzung, B.G., Masters, S.B., dan Trevor, A.J. 2013. *Farmakologi Dasar & Klinik*. a.b. Pedit, B.U. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Kurniasari, D. dan Atun, S. 2017. Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) Pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan. *J. Sains Dasar*. 6(1):31-35.
- Kurniasih, M., Riyani, K., Setyaningtyas, K., dan Sufyana, I. 2018. Adsorpsi Ion Ni(II) Menggunakan *Crosslink* Kitosan Tripolifosfat. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*. 13(2):174-181.
- Laili, H.N., Winarti, L., dan Sari, L.O.R.K. 2014. Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan-Naringenin dengan Variasi Rasio Massa Kitosan-Natrium Tripolifosfat. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2(2):308-313.
- Lusiana, R.A. dan Pranotoningtyas, W.P. 2018. Membran Kitosan Termodifikasi Tripolifosfat-Heparin dan Aplikasinya Pada Permeasi Urea dan Kreatinin. *Analytical and Environmental Chemistry*. 3(1):11-21.
- Martien, R., Adhyatmika, Irianto, I.D.K., Farida, V., dan Sari, D.P. 2012. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Majalah Farmaseutik*. 8(1):133-144.
- Maryam, Kasim, A., Novelina, dan Emriadi. 2018. Review: Teknologi Preparasi Pati Nanopartikel dan Aplikasinya Dalam Pengembangan Komposit Bioplastik. *Majalah Ilmiah Teknologi Industri*. 15(1):36-56.
- Nugroho, A. 2017. *Buku Ajar Teknologi Bahan Alam*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Rahayu, P. dan Khabibi. 2016. Adsorpsi Ion Logam Nikel(II) Oleh Kitosan Termodifikasi Tripolifosfat. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 19(1):21-26.
- Rahmi, D., Yunilawati, R., dan Ratnawati, E. 2012. Pengaruh Nano Partikel Terhadap Aktifitas *Antiageing* Pada Krim. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. 14(3):235-238.
- Roy, P., Parveen, S., Ghosh, P., Ghatak, K., and Dasgupta, S. 2019. Flavonoid Loaded Nanoparticles as an Effective Measure to Combat Oxidative Stress in Ribonuclease A. *Biochimie*. 162(5):185-197.



- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep, dan Teknik*. Yogyakarta: Penerbit Deepublish.
- Sarjono, P.R., Ngadiwiyana, Fachriyah, E., Ismiyanto, Prasetya, N.B.A., and Khikmah. 2018. Encapsulation of Cinnamaldehyde Using Chitosan: Stability, Mucoadesive, and Cinnamaldehyde Release. *Journal of Scientific and Applied Chemistry*. 21(4):175-181.
- Sriwidodo, Subroto, T., Maksum, I.P., dan Subarnas, A. 2019. *Riset dan Pengembangan Sediaan Obat Nanopartikel Penyembuhan Ulkus Diabetikum Yang Mengandung hEGF Hasil Teknologi Protein Rekombinan Menggunakan E. Coli BL21 Secara Ekstraseluler*. Yogyakarta: Penerbit Deepublish.