

Formulasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan Ekstrak Sari Buah Juwet (*Syzygium cumini*) menggunakan metode Gelasi Ionik

Formulation and Characterization of Chitosan Nanoparticle of Juwet (*Syzygium cumini*) Fruit Extract using Ionic Gelation Method

Wahida Hajrin*, Wayan Cintya Ganes Budastra, Yohanes Juliantoni,
Windah Anugrah Subaidah

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram. Jalan Majapahit No. 62 Mataram, NTB

*Email korespondensi: wahida08farm@gmail.com

Abstrak

Buah juwet memiliki potensi yang tinggi untuk dikembangkan sebagai obat karena adanya kandungan senyawa polifenol. Senyawa polifenol mudah terdegradasi sehingga stabilitasnya perlu ditingkatkan melalui pembentukan nanoenkapsulasi. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan formula nanopartikel ekstrak sari buah juwet (Nano SBJ) yang memiliki karakteristik yang baik. Penentuan formula dilakukan menggunakan *pseudoternary phase diagram* berdasarkan nilai % transmitan dan % EE. Formula Nano SBJ yang diperoleh dilakukan karakterisasi meliputi % transmitan, % EE, ukuran partikel, *polydispersity index*, dan zeta potensial. Formula Nano SBJ yang diperoleh adalah kitosan, ekstrak SBJ, dan Na TPP berturut-turut sebesar 0,347%, 0,627%, dan 0,047%. Hasil karakterisasi Nano SBJ yang diperoleh adalah % EE sebesar 30,72%, diameter rata-rata partikel sebesar 138,1±7,9 nm, PDI sebesar 0,839±0,043, dan zeta potensial sebesar 34,9±1,2 mV. Nano SBJ yang terbentuk merupakan partikel berukuran nano dan memiliki stabilitas yang baik, namun memiliki *entrapment efficiency* yang rendah.

Kata Kunci: Gelasi ionik, Kitosan, Nanopartikel, *Syzygium cumini*

Abstract

Syzygium cumini (*S. cumini*) fruits have a high potential to be developed as medicine because of their polyphenol content. Polyphenol is easily degraded so that its stability needs to be increased through the formation of nanoencapsulation. The aim of this study was to determine the formula of SBJ nanoparticles which has good characteristics. The formula was determined using a pseudoternary phase diagram based on the %transmittant and %EE. Nano SBJ was characterized for % transmittant

,% EE, polydispersity index, and zeta potential. The formula of Nano SBJ obtained chitosan, SBJ extract, and Na TPP were 0.347%, 0.627%, and 0.047%, respectively. The characterization of Nano SBJ were % EE was 30.72%, the mean diameter of particles was 138.1 ± 7.9 nm, PDI was 0.839 ± 0.043 , and zeta potential was 34.9 ± 1.2 mV. Nano SBJ has nano-sized particles and has good stability, but low in entrapment efficiency.

Keywords: Chitosan, Ionic gelation, Nanoparticle, *Syzygium cumini*

Submitted: 17 April 2021

Accepted: 23 September 2021 **DOI:** <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i5.614>

1 Pendahuluan

Buah juwet telah diketahui memiliki berbagai efek farmakologi. Penelitian yang dilakukan oleh Nayak dan Chandra [1] menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi, hipokolesterol, dan hipoglikemik. Aktivitas antidiabetes buah juwet sudah dibuktikan baik secara *in vitro* melalui penghambatan enzim alpha amilase [2] dan secara *in vivo* pada tikus yang diinduksi Streptozosin [3]. Senyawa-senyawa pada buah juwet telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan [4]–[7]. Penelitian lainnya menyebutkan bahwa buah juwet memiliki potensi yang tinggi untuk dikembangkan sebagai sediaan nutrasetikal [8] dan sebagai zat pewarna alami [9].

Buah juwet mengandung antosianin, delphinidin, petunidin, malvidin diglukosida yang menyebabkan warna ungu tua pada buah [10]–[12]. Senyawa polifenol pada juwet berupa senyawa flavonoid, asam fenolat dan tannin [13]. Jumlah gugus hidroksil pada senyawa polifenol berpengaruh pada kecepatan degradasi senyawa sehingga dapat menurunkan efek farmakologinya. Faktor utama yang berpengaruh terhadap degradasi senyawa polifenol adalah cahaya, oksigen, dan temperature [14]. Faktor tersebut dapat mempengaruhi kecepatan degradasi senyawa selama proses ekstraksi, formulasi, hingga proses penyimpanan.

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menjaga stabilitas senyawa adalah pembentukan nanoenkapsulasi. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Comunian dkk [15], enkapsulasi melalui metode gelasi ionik dapat meningkatkan stabilitas senyawa

polifenol. Enkapsulasi juga meningkatkan stabilitas mikropartikel meniran [16] dan nanopartikel meniran [17]. Nanoenkapsulasi dapat dibentuk dengan berbagai polimer, salah satunya adalah kitosan. Nanopartikel dengan polimer kitosan diketahui dapat melindungi senyawa aktif dari degradasi [18], [19]. Selain itu, nanopartikel kitosan juga memiliki stabilitas yang baik, toksisitas yang rendah dan metode preparasinya yang cukup sederhana [20]. Pembentukan sediaan nanopartikel dengan polimer kitosan diharapkan dapat menjaga senyawa aktif buah juwet dari degradasi. Konsentrasi polimer, ekstrak, maupun *cross-linker* harus memiliki komposisi yang tepat untuk memperoleh sediaan nanopartikel yang memiliki karakteristik yang baik. Tujuan penelitian ini adalah menentukan komposisi kitosan, ekstrak SBJ, dan Na TPP untuk membentuk sediaan nanopartikel yang memiliki karakteristik yang baik.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daging buah duwet (*Syzygium cumini* L.), akuabides (Water-One), asam galat (Sigma-Aldrich), kitosan (Sigma-Aldrich), natrium-tripolifosfat (Sigma-Aldrich), reagen *Follin-ciocalteceau* (Merck), serbuk Na_2CO_3 (Merck).

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *freeze dryer*, *magnetic stirrer* Labnet®, mikropipet, *sentrifuge*, spektrofotometer uv-vis Specord®200, timbangan analitik Ohaus®, Zetasyzer Malvern.

2.2 Pembuatan Ekstrak SBJ

Daging buah juwet sebanyak 3 kg diblender dan disaring. Sari yang diperoleh dipisahkan menggunakan alat *freeze dryer*.

2.3 Pengukuran Total Phenolic Compound (TPC) Ekstrak SBJ

Pengukuran TPC pada penelitian ini mengikuti metode yang dilakukan oleh Apsari dan Susanti [21] dengan modifikasi.

2.3.1 Penentuan Operating Time

300 µL larutan asam galat konsentrasi 30 ppm ditambahkan 1,5 mL reagen *Follin-ciocalteceau* yang telah diencerkan dengan akuabides (1:10), digojog dan didiamkan selama 8 menit. Campuran kemudian ditambahkan dengan 1,2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5%, digojog hingga homogen. Absorbansi diukur pada rentang waktu 0-90 menit pada panjang gelombang 760 nm.

2.3.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

300 µL larutan asam galat konsentrasi 30 ppm ditambahkan 1,5 mL reagen *Follin-ciocalteceau* yang telah diencerkan dengan akuabides (1:10), digojog dan didiamkan selama 8 menit. Campuran kemudian ditambahkan dengan 1,2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5%, digojog hingga homogen. Larutan dibiarkan selama OT dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 600-800 nm.

2.3.3 Pengukuran Kurva Baku

300 µL larutan asam galat konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 dan 80 ppm masing masing dimasukkan dalam tabung, kemudian ditambahkan dengan 1,5 mL reagen *Follin-ciocalteceau* yang telah diencerkan dengan akuabides (1:10) dan digojog. Setelah didiamkan selama 8 menit, masing-masing larutan ditambah 1,2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5%, digojog hingga homogen. Larutan diinkubasi selama OT dan diukur absorbansinya pada Panjang gelombang maksimum.

2.3.4 Penentuan TPC Ekstrak SBJ

300 µL ekstrak SBJ ditambahkan dengan 1,5 mL reagen *Follin-ciocalteceau* yang telah diencerkan dengan akuabides (1:10) dan digojog. Setelah didiamkan selama 8 menit,

masing-masing larutan ditambah 1,2 mL larutan Na₂CO₃ 7,5% dan digojog hingga homogen. Larutan diinkubasi selama OT dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai TPC sampel ditentukan berdasarkan persamaan (1).

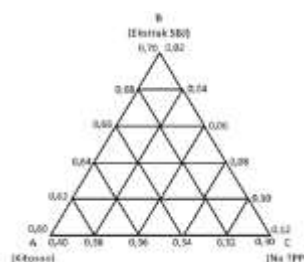
$$TPC = \frac{GAExVxD}{W} \quad (\text{persamaan 1})$$

Keterangan :

TPC	= Total Phenolic Compound
V	= volume larutan SBJ (mL)
D	= faktor pengenceran
W	= bobot ekstrak (g)

2.4 Formulasi Nano SBJ menggunakan Pseudoternary Phase Diagrams

Formulasi Nano SBJ menggunakan 3 komponen, yaitu kitosan, ekstrak SBJ, dan Na TPP dibuat berdasarkan komposisi pada *pseudoternary phase diagram* untuk memperoleh *range* nanopartikel. Kitosan dilarutkan dalam asam asetat 1%, Na TPP dan ekstrak SBJ dilarutkan dalam aquabides. Larutan kitosan dan ekstrak SBJ dicampur dan diaduk hingga homogen dengan *magnetic stirrer*. Selanjutnya, larutan Na TPP ditambahkan tetes demi tetes sambil tetap diaduk. Perbandingan larutan kitosan, ekstrak SBJ, dan Na TPP yang digunakan adalah 1:1:1. Parameter pertama yang diamati adalah % *transmittant*. Area yang memiliki % *transmittant* >70% digunakan untuk menentukan % EE. Komposisi yang memiliki nilai % EE tertinggi merupakan formula terpilih. *Pseudoternary phase diagram* sistem Nano SBJ dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Pseudoternary phase diagram sistem Nano SBJ dengan komponen kitosan, ekstrak SBJ, dan Na TPP

2.5 Karakterisasi Sediaan Nano SBJ

2.5.1 % Entrapment Efficiency (%EE)

Nano SBJ disentrifugasi pada kecepatan 15000 rpm selama 1 jam. Supernatan diambil dan ditentukan nilai TPC supernatan. Nilai %EE ditentukan dengan persamaan (2).

$$\%EE = \frac{TPC\ ekstrak - TPC\ supernatan}{TPC\ ekstrak} \times 100\% \quad (\text{persamaan 2})$$

Keterangan :

EE = Entrapment Efficiency

TPC = Total Phenolic Compound

2.5.2 % Transmittant

Larutan Nano SBJ diukur % *transmittant* menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm dengan blanko aquabides.

2.5.3 Ukuran Partikel

Sejumlah larutan sampel dimasukkan dalam kuvet dan ditentukan ukuran partikelnya menggunakan alat Zetasizer Malvern.

2.5.4 Zeta Potensial

Sejumlah larutan sampel dimasukkan dalam kuvet dan ditentukan zeta potensial sampel menggunakan alat Zetasizer Malvern.

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Ekstrak SBJ

Pembuatan ekstrak SBJ pada penelitian ini menggunakan metode *freeze dry*. Ekstrak SBJ yang diperoleh memiliki konsistensi agak keras, warna hitam keunguan, aroma khas juwet, dan rasa sedikit manis. Rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 20,45%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hriyadi [22] dan Suryadi [23], metode *freeze dry* dapat mempertahankan stabilitas produk dan struktur bahan yang ditunjukkan oleh efek antioksidan yang lebih tinggi pada ekstrak yang dikeringkan dengan metode *freeze dry* dibandingkan dengan ekstrak yang dikeringkan dengan sinar matahari. Selain itu, kadar air ekstrak yang dikeringkan dengan metode *freeze dry* lebih rendah dibandingkan dengan

pengeringan menggunakan oven [24]. Kadar air yang rendah dapat meningkatkan stabilitas fisika, kimia, maupun mikrobiologi ekstrak.

3.2 Penentuan TPC Ekstrak SBJ

Penetapan kadar fenolik total ekstrak SBJ ditentukan secara spektrofotometri dengan menggunakan reagen *Follin-ciocalteceau* dan Na_2CO_3 . Metode ini didasarkan pada perubahan warna larutan menjadi biru karena terjadinya transfer elektron dalam kondisi basa dari ion fenolat ke asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen *Folin-ciocalteu* membentuk kompleks berwarna biru (*molybdenum blue*) [25], [26].

Operating time asam galat pada penelitian ini terjadi pada menit ke-45 dan panjang gelombang maksimum pada 752 nm. Persamaan kurva baku asam galat adalah $y = 0,009x + 0,170$ dengan nilai koefisien korelasi $R^2 = 0,996$. Hasil penetapan TPC ekstrak SBJ dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil penetapan TPC ekstrak SBJ

Konsentrasi (%)	Absorbansi	TPC (mgGAE/g sampel)
0,607	0,3301 ± 0,0503	8,7874 ± 2,7658
0,627	0,3530 ± 0,0083	9,4157 ± 0,4456
0,647	0,3625 ± 0,0271	10,2280 ± 1,4471
0,667	0,3838 ± 0,0830	10,6863 ± 4,1484
0,687	0,4135 ± 0,0022	11,8146 ± 0,1092

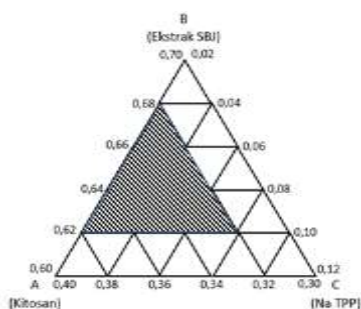
Hasil penetapan TPC ekstrak SBJ digunakan sebagai dasar dalam menentukan nilai % EE Nano SBJ.

3.3 Formulasi Nano SBJ Menggunakan Pseudoternary Phase Diagram

Hasil analisis % *transmittant* nanopartikel SBJ dapat dilihat pada gambar 2. Gambar tersebut menunjukkan bahwa area yang diarsir merupakan area yang memiliki nilai % *transmittant* lebih dari 70% dan dipilih untuk menentukan % EE.

Berdasarkan hasil determinasi Nano SBJ, perbandingan komposisi ketiga komponen mempengaruhi % *transmittant* Nano SBJ. % *transmittant* dengan komposisi sesuai *pseudoternary phase diagram* memiliki *range* 64,55–77,32 %. Nilai % *transmittant* semakin baik jika mendekati 100%, ditunjukkan dengan kejernihan cairan yang semakin tinggi. %

transmittant berkaitan dengan ukuran nanopartikel yang terbentuk. Semakin kecil ukuran partikel, cairan akan semakin jernih sehingga % *transmittant* akan semakin tinggi [27].



Gambar 2. Area terpilih untuk menentukan % EE

Hasil penentuan % EE dari area terpilih dapat dilihat pada tabel 2. Berdasarkan hasil tersebut, nilai % EE tertinggi adalah sebesar

30,72% dengan komposisi kitosan, ekstrak SBJ, dan Na TPP berturut-turut adalah 0,347%, 0,627%, dan 0,047%.

Jenis polimer penyusun nanopartikel akan berpengaruh pada karakteristik nanopartikel yang dihasilkan. Pembuatan nanopartikel menggunakan kitosan dipilih karena merupakan polimer yang biokompatibel, biodegradabel, dan tidak toksik sehingga cocok digunakan untuk penghantaran obat melalui peroral [28]. Sensitivitas kitosan yang tinggi terhadap kondisi asam dapat menyebabkan nanopartikel yang terbentuk tidak stabil pada lambung sehingga kitosan perlu distabilkan oleh agen *crosslinker* [18], [19]. Agen *crosslinker* yang digunakan adalah Na TPP, membentuk ikatan ionik yang reversibel dengan kitosan sehingga bersifat biokompatibel [29]. Pada penelitian yang dilakukan oleh Hajrin [16], mikropartikel ekstrak meniran yang menggunakan polimer kitosan dan *crosslinker* Na TPP menunjukkan morfologi partikel yang berkerut dan berporos. Hal ini menunjukkan kitosan dan Na TPP mampu menjerap ekstrak.

Tabel 2. Hasil pengukuran % EE area terpilih

No.	Kitosan (%)	Ekstrak SBJ (%)	Na TPP (%)	TPC Ekstrak SBJ (mgGAE/g sampel)	TPC Supernatan Nano SBJ (mgGAE/g sampel)	EE (%)
1	0,327	0,667	0,027	10,686	8,885	16,851
2	0,347	0,647	0,027	10,228	10,175	0,517
3	0,327	0,647	0,047	10,228	7,342	28,219
4	0,367	0,627	0,027	9,416	9,319	1,022
5	0,347	0,627	0,047	9,416	6,523	30,721
6	0,327	0,627	0,067	9,416	9,176	2,546

Hasil pengukuran % EE Nano SBJ menunjukkan bahwa %EE tertinggi sebesar 30,72%. Nilai % EE menunjukkan perolehan kembali ekstrak yang ditambahkan dalam pembentukan nanopartikel. Nilai % EE yang rendah menunjukkan bahwa obat banyak terbuang saat proses pembuatan nanopartikel. Menurut Dupinder dan Seema [30], terdapat beberapa faktor yang dapat meningkatkan % EE obat, yaitu konsentrasi polimer yang tinggi, rasio polimer dan obat yang rendah, kecepatan pengadukan rendah, konsentrasi *emulsifier* yang rendah, konsentrasi *crosslinker* yang tinggi, interaksi antara obat dan polimer tinggi, kelarutan obat rendah pada fase kontinyu, kelarutan polimer rendah pada pelarut organik,

dan ketercampuran pelarut organik dan air tinggi. Konsentrasi polimer yang tinggi menyebabkan polimer mengalami presipitasi dengan cepat pada permukaan sehingga mencegah obat berdifusi dari sistem nanopartikel. Konsentrasi polimer yang tinggi menyebabkan viskositas fase kontinyu tinggi sehingga mencegah difusi obat keluar dari sistem nanopartikel. Kelarutan obat pada fase kontinyu juga berpengaruh pada % EE. Obat yang memiliki kelarutan lebih tinggi pada fase kontinyu daripada fase terdispersi akan menyebabkan obat berdifusi keluar sistem sehingga EE rendah. Pada penelitian yang dilakukan oleh Fu dkk [31] menunjukkan bahwa perbandingan polimer (kitosan,

polylactic acid, dan polifosfat) mempengaruhi % EE nanopartikel. Perbandingan yang tepat antara polimer dan obat juga dapat meningkatkan nilai % EE [32]. Pada umumnya, ukuran partikel memiliki respon yang berlawanan dengan % EE. Nilai % EE yang tinggi diperoleh pada ukuran partikel yang lebih besar sehingga perlu adanya optimasi untuk memperoleh nilai % EE yang tinggi pada ukuran nanopartikel yang sesuai. Konsentrasi polimer yang lebih tinggi akan membentuk partikel yang lebih besar sehingga luas permukaan partikel lebih kecil. Hal ini menyebabkan jalur difusi obat keluar menjadi lebih kecil menyebabkan nilai % EE yang lebih tinggi [30].

3.4 Karakterisasi Nano SBJ

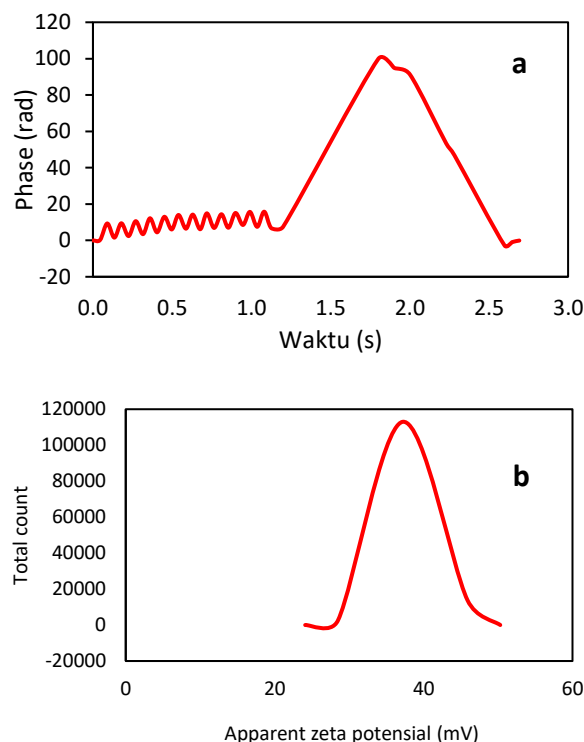
Hasil karakterisasi Nano SBJ meliputi diameter rata-rata partikel, *polydispersity index*, dan zeta potensial dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penentuan diameter rata-rata partikel, *polydispersity index*, dan zeta potensial Nano SBJ

Parameter	Hasil
Z-Ave	138,1±7,9 nm
PdI	0,839±0,043
Zeta Potensial	34,9±1,2 mV

Hasil pengukuran diameter rata-rata partikel menunjukkan ukuran partikel berada pada rentang nanometer. Nanopartikel merupakan suatu material atau produk akhir yang diproses dengan cara tertentu sehingga dihasilkan satu dimensi atau struktur pada skala nanometer (1-100 nm); dan suatu material atau produk akhir yang menunjukkan sifat fisik, atau kimia, atau efek biologis yang disebabkan oleh dimensinya, walaupun dimensinya hingga 1 mikrometer, melebihi ukuran 100 nm [33], [34]. Nilai PdI menunjukkan kesamaan ukuran antar partikel. Nilai PdI Nano SBJ menunjukkan nilai yang kurang baik karena lebih dari 0,5 [35]. Semakin kecil nilai PdI, menunjukkan semakin tinggi homogenitas partikel yang diukur. Homogenitas partikel yang baik dapat mempengaruhi stabilitas sistem polimerik yang dikembangkan dan terbukti dapat meningkatkan bioavailabilitas [36].

Zeta potensial merupakan beda potensial antar permukaan partikel. Hasil pengukuran zeta potensial menunjukkan nilai yang tinggi dan bernilai positif (34,9±1,2 mV). Grafik hasil pengukuran zeta potensial dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Grafik hasil pengukuran zeta potensial, (a) phase plot dan (b) distribusi zeta potensial.

Grafik *phase plot* menunjukkan adanya pola zig-zag yang menandakan bahwa hasil pengukuran tersebut baik. Puncak grafik menunjukkan hasil pengukuran zeta potensial bernilai positif. Nilai zeta potensial berpengaruh pada stabilitas fase terdispersi dalam fase pendispersi. Semakin tinggi nilai zeta potensial, gaya tolak menolak antar partikel menjadi tinggi sehingga dapat mencegah terjadinya presipitasi atau koagulasi antar partikel [37].

4 Kesimpulan

Ekstrak SBJ dapat dibuat sediaan nanopartikel menggunakan polimer kitosan dan crosslinker Na TPP. Formula nanopartikel dapat ditentukan dengan pseudoternary diagram. Nano SBJ yang terbentuk memiliki ukuran partikel dalam rentang nanometer, memiliki

stabilitas yang baik berdasarkan nilai zeta potensial, namun memiliki nilai EE yang rendah. Perlu adanya optimasi formula maupun optimasi proses untuk memperoleh sediaan nano SBJ dengan karakteristik yang lebih baik.

5 Ucapan Terimakasih

Terimakasih saya ucapkan kepada PT. DKSH Indonesia, yang telah memberikan dukungan berupa pengukuran partikel dan zeta potensial.

6 Kontribusi Penulis

Semua penulis berkontribusi dalam perancangan metode penelitian, pelaksanaan penelitian dan penyusunan artikel publikasi.

7 Daftar Pustaka

- [1] S. Nayak and M. Chandra, "Evaluation of bioactive compounds and antioxidant activity of some wild fruits by in-vitro assays," *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 6, pp. 233–238
- [2] H. P. Gajera, S. N. Gevariya, D. G. Hirpara, S. V. Patel, and B. A. Golakiya, "Antidiabetic and antioxidant functionality associated with phenolic constituents from fruit parts of indigenous black jamun (*Syzygium cumini* L.) landraces," *Journal of Food Science and Technology*, vol. 54, no. 10, pp. 3180–3191.
- [3] R. Gupta and A. M. Saxena, "Hypoglycemic and Anti-hyperglycemic Activities of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels Whole Fruit, in Normal and Streptozotocin-Induced Diabetic Rats," *Asian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, vol. 1, no. 3, p. 7.
- [4] A. E.-M. M. Afify, S. A. Fayed, E. A. Shalaby, and H. A. El-Shemy, "*Syzygium cumini* (pomposia) active principles exhibit potent anticancer and antioxidant activities," *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 5, no. 7, pp. 948–956.
- [5] M. Ayyanar and P. Subash-Babu, "*Syzygium cumini* (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses," *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 2, no. 3, pp. 240–246.
- [6] A. Banerjee, N. Dasgupta, and B. De, "In vitro study of antioxidant activity of fruit," *Food Chemistry*, vol. 90, no. 4, pp. 727–733.
- [7] J. P. Singh *et al.*, "In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 65, pp. 1025–1030.
- [8] B. Chaudhary and K. Mukhopadhyay, "*Syzygium cumini* (L.) skeel: a potential source of nutraceuticals," *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, vol. 2, no. 1, pp. 46–53.
- [9] J. Veigas, M. Narayan, P. Laxman, and B. Neelwarne, "Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *syzygium cumini* Skeels," *Food Chemistry*, vol. 105, no. 2, pp. 619–627.
- [10] R. K. Bijauliya, S. Alok, M. Singh, and S. B. Mishra, "Morphology, phytochemistry and pharmacology of *Syzygium cumini* (Linn.) - an overview," *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 8, no. 6, pp. 2360–2371.
- [11] S. Ramya, K. Neethirajan, and R. Jayakumararaj, "Profile of bioactive compounds in *Syzygium cumini* - a review," *Journal of Pharmacy Research*, no. 8, p. 7.
- [12] V. Thorat, "*Syzygium cumini*: a review," *International Journal of Pharmacognosy*, vol. 4, no. 10, pp. 320–331.
- [13] B. Singh, J. P. Singh, A. Kaur, and N. Singh, "Insights into the phenolic compounds present in jambolan (*Syzygium cumini*) along with their health-promoting effects," *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 53, no. 11, pp. 2431–2447.
- [14] A. Liazid, M. Palma, J. Brigui, and C. G. Barroso, "Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction," *Journal of Chromatography A*, vol. 1140, no. 1–2, pp. 29–34.
- [15] T. A. Comunian, R. Ravanfar, I. A. de Castro, R. Dando, C. S. Favaro-Trindade, and A. Abbaspourrad, "Improving oxidative stability of echium oil emulsions fabricated by Microfluidics: Effect of ionic gelation and phenolic compounds," *Food Chemistry*, vol. 233, pp. 125–134.
- [16] W. Hajrin, "Formulasi Mikropartikel Ekstrak Etanol Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) Menggunakan Polimer Kitosan dan Na-TPP Serta Uji Aktivitas Imunomodulator Secara In Vivo," *Tesis*, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- [17] G. Pratiwi, R. Martien, and R. Murwanti, "Chitosan nanoparticle as a delivery system for polyphenols from meniran extract (*Phyllanthus niruri* L): formulation, optimization, and immunomodulatory activity," *Int J App Pharm*, pp. 50–58.
- [18] M. George and T. E. Abraham, "Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan — a review," *Journal of Controlled Release*, vol. 114, no. 1, pp. 1–14.

- [19] Y.-H. Lin *et al.*, "Multi-ion-crosslinked nanoparticles with pH-responsive characteristics for oral delivery of protein drugs," *Journal of Controlled Release*, vol. 132, no. 2, pp. 141-149.
- [20] W. Tiyaboonchai, "Chitosan Nanoparticles: A Promising System for Drug Delivery," *Naresuan University Journal*, vol. 11, no. 3, pp. 51-66.
- [21] P. D. Apsari and H. Susanti, "Perbandingan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak merah dan ungu bunga rosella," p. 6.
- [22] P. Hariyadi, "Pengeringan beku dan aplikasinya di industri pangan," *Food Review*, vol. 8, no. 1, pp. 52-56.
- [23] J. Suryadi, "Daya antioksidan ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) pengeringan matahari langsung dan freeze-drying," *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, vol. 2, no. 1, pp. 1-19.
- [24] B. B. Sembiring, "garuh konsentrasi bahan pengisi dan cara pengeringan terhadap mutu ekstrak kering sambiloto," *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, vol. 20, no. 2.
- [25] R. Alfian and H. Susanti, "Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofometri," *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, vol. 2, no. 1, pp. 73-80.
- [26] E. H. Imad, M. Didi, F. Bekkara, and M. Gherib, "In vitro antioxidant activity and total phenolic contents in methanol crude extracts from the Algerian medicinal plant *Limoniastrum feei*," *Scientific Study and Research*, vol. 10, no. 4, pp. 329-336.
- [27] M. Sahumena, "Pengembangan nanopartikel ketoprofen dengan teknik SNEDDS dan uji aktifitas antiinflamasi," *Tesis*, vol. Yogyakarta :Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada.
- [28] S. Arora and R. D. Budhiraja, "Chitosan-alginate microcapsules of amoxicillin for gastric stability and mucoadhesion," *J Adv Pharm Technol Res*, vol. 3, no. 1, pp. 68-74.
- [29] J. Berger, M. Reist, J. M. Mayer, O. Felt, N. A. Peppas, and R. Gurny, "Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 57, no. 1, pp. 19-34.
- [30] K. Dupinder and S. Seema, "Variables effecting drug entrapment efficiency of microspheres: a review," *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, vol. 3, no. 3.
- [31] J. Fu *et al.*, "High Entrapment Efficiency of Chitosan/Polylactic Acid/Tripolyphosphate Nanosized Microcapsules for Rapamycin by an Emulsion-Evaporation Approach," *Journal of Biomedical Nanotechnology*, vol. 6, no. 6, pp. 725-728.
- [32] K. S. Shalaby *et al.*, "Determination of factors controlling the particle size and entrapment efficiency of nescapine in PEG/PLA nanoparticles using artificial neural networks," *Int J Nanomedicine*, vol. 9, pp. 4953-4964.
- [33] J. Jeevanandam, A. Barhoum, Y. S. Chan, A. Dufresne, and M. K. Danquah, "Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations," *Beilstein J. Nanotechnol.*, vol. 9, pp. 1050-1074.
- [34] N. H. C. Marzuki, R. A. Wahab, and M. A. Hamid, "An overview of nanoemulsion: concepts of development and cosmeceutical applications," *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, vol. 33, no. 1, pp. 779-797.
- [35] W. Rakhmaningtyas, "Preparasi dan karakterisasi nanopartikel sambungsilang kitosan-natrium tripolifosfat dalam sediaan film bukal verapamil hidroklorida," FMIPA Universitas Indonesia, Jakarta.
- [36] A. Nasr, A. Gardouh, H. Ghonaim, E. Abdelghany, and M. Ghorab, "Effect of oils, surfactants and cosurfactants on phase behavior and physicochemical properties of self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) for irbesartan and olmesartan," *International Journal of Applied Pharmaceutics*, vol. 8, no. 1, pp. 13-24.
- [37] N. Parmar, N. Singla, S. Amin, and K. Kohli, "Study of cosurfactant effect on nanoemulsifying area and development of lercanidipine loaded (SNEDDS) self nanoemulsifying drug delivery system," *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 86, no. 2, pp. 327-338.