

**PEMBUATAN DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL
EKSTRAK ETANOL BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon* L.) DENGAN
METODE GELASI IONIK**



KARYA TULIS ILMIAH

**OLEH
MIFTAKHUL SHOLIKHAH
NIM. 2181019**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

**PEMBUATAN DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL
EKSTRAK ETANOL BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon* L.) DENGAN
METODE GELASI IONIK**

**PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF MELINJO SEEDS
(*Gnetum gnemon* L.) ETHANOL EXTRACT NANOPARTICLES WITH
IONIC GELATION METHOD**



KARYA TULIS ILMIAH

**DIAJUKAN SEBAGAI PERSYARATAN MENYELESAIKAN
JENJANG PENDIDIKAN DIPLOMA III FARMASI**

**OLEH
MIFTAKHUL SHOLIKHAH
NIM. 2181019**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

KARYA TULIS ILMIAH

PEMBUATAN DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL
EKSTRAK ETANOL BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon L.*) DENGAN
METODE GELASI IONIK

Disusun Oleh :

MIFTAKHUL SHOLIKHAH

NIM. 2181019

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji
dan telah dinyatakan memenuhi syarat sah

Pada tanggal 9 Maret 2021

Tim Penguji :

Apt. Iwan Setiawan, M. Sc. (Ketua)

Apt. Gunawan Setiadi, M. Sc. (Anggota)

Apt. Dwi Saryanti, M. Sc. (Anggota)

Menyetujui,
Pembimbing Utama



Apt. Dwi Saryanti, M. Sc.



Apt. Dwi Saryanti, M. Sc.

PERNYATAAN KEASLIAN KTI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah, dengan judul :

PEMBUATAN DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL EKSTRAK ETANOL BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon L.*) DENGAN METODE GELASI IONIK

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun duplikasi dari Karya Tulis Ilmiah yang sudah dipublikasikan dan/ atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar pada Program Studi DIII Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional maupun di Perguruan Tinggi atau Instansi manapun, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila terdapat bukti tiruan atau duplikasi pada KTI, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.

Surakarta, 9 Maret 2021



Miftahul Sholikhah

NIM 2181019

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini kupersembahkan untuk :
Keluarga tercinta, Ibuku tersayang Lestari dan Ayahku Sardini Margono,
Yang telah dengan sabar, perhatian dan penuh kasih sayang
Membimbing dan membesarkanku selama ini
Kakakku tersayang Nurul Puji Astuti terimakasih telah
memberiku dukungan dan doa yang terbaik
Almameterku tercinta

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, kepada Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dengan baik dan tepat waktu. Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini yang berjudul **PEMBUATAN DAN KARAKTERISASI NANOPARTIKEL EKSTRAK ETANOL BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon* L.) DENGAN METODE GELASI IONIK** dimaksudkan sebagai persyaratan untuk menyelesaikan Program Pendidikan Diploma III Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

Penyusunan karya tulis ini tidak akan berhasil tanpa bantuan serta dukungan berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Hartono, M.Si.Apt selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. Apt. Dwi Saryanti, M.Sc., selaku Ketua Program Studi DIII Farmasi Stikes Nasional, pembimbing Karya Tulis Ilmiah dan penguji, yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk ikut serta dalam penelitian ini, serta pengarahan, bimbingan, dan motivasi dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah.
3. Apt. Iwan Setiawan, M.Sc. , selaku ketua penguji yang telah meluangkan waktu, memberikan pengarahan dan saran.
4. Apt. Gunawan Setiyadi, M. Sc., selaku dewan penguji yang telah meluangkan waktu, memberikan pengarahan dan saran.

5. yang telah memberikan bantuan dana kepada peneliti untuk melaksanakan penelitian ini.
6. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional atas kesempatan yang diberikan untuk ikut serta dalam kegiatan penelitian dosen.
7. Pratiwi Maharani, A.Md., selaku pembimbing praktik yang telah memberikan arahan dan bimbingan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
8. Wibowo, A.Md., Ratriandani, A.Md dan Petrus, A.Md selaku laboran STIKES Nasional yang selama ini telah membantu penulis dalam penelitian.
9. Orang tua dan kakak yang selalu memberikan dukungan moril maupun materi.
10. Teman-teman D3 Farmasi Reguler A yang telah memberikan semangat, dukungan dan bantuan.
11. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan karya tulis ini masih banyak kekurangan oleh karena itu penulis sangat berharap adanya kritik dan saran yang membangun dari beberapa pihak guna penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini. Semoga karya tulis ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya.

Surakarta, 19 Februari 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
PERSEMBAHAN.....	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
<i>ABSTRACT</i>	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Landasan Teori	6
1. Nanopartikel	6
2. Metode Pembuatan Nanopartikel	7
3. Biji Melinjo	12
4. Ekstraksi	16
5. Karakterisasi Nanopartikel	18
6. Karakteristik Bahan Penyusun Formula	21
B. Kerangka Pikir	24
C. Hipotesis	25
BAB III METODE PENELITIAN.....	26
A. Desain Penelitian.....	26

B. Waktu dan Tempat Penelitian	26
C. Instrumen Penelitian.....	26
D. Variabel Penelitian	27
E. Definisi Operational Variabel Penelitian	28
F. Alur Penelitian	29
1. Alur Kerja.....	29
2. Cara Kerja.....	30
G. Analisa Data	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
A. Penyiapan Sampel Biji Melinjo	37
B. Pembuatan Ekstrak Biji Melinjo	39
C. Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Etanol Biji Melinjo.....	41
D. Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Biji Melinjo	45
1. Analisa Kualitatif Fitokimia	45
2. Ukuran Partikel.....	49
3. Potensial Zeta	51
4. Morfologi Nanopartikel	53
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	56
A. Kesimpulan	56
B. Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan gizi biji melinjo	14
Tabel 2. Formula nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo	30
Tabel 3. Hasil pengujian kandungan fitokimia ekstrak dan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ilustrasi matriks nanopartikel gelas ionik.....	11
Gambar 2. Biji melinjo (<i>Gnetum gnemon</i> L.).....	12
Gambar 3. Struktur etanol	21
Gambar 4. Struktur molekul kitosan	21
Gambar 5. Struktur kimia Na-TTP	22
Gambar 6. Struktur asam asetat glasial	23
Gambar 7. Kerangka pikir	24
Gambar 8. Alur kerja	29
Gambar 9. Hasil pengujian morfologi partikel nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Rendemen ekstrak dan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo	63
Lampiran 2. Hasil Pengujian Morfologi Partikel nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo	64
Lampiran 3. Hasil Pengujian Ukuran Partikel dari nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo	65
Lampiran 4. Hasil Pengujian Potensial Zeta dari nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo	68
Lampiran 5. Data hasil pengukuran Ukuran Partikel, Indeks Polidispersitas, dan Zeta Potensial.....	71
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian pembuatan dan karakterisasi nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo.....	72

INTISARI

Biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan dan imunomodulator. Flavonoid mudah teroksidasi dan bioavailabilitasnya rendah sehingga dibuat nanopartikel untuk melindungi dan meningkatkan penyerapannya dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan membuat dan mengetahui karakteristik nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.). Nanopartikel dibuat dengan metode gelas ionik menggunakan penyalut kitosan 0,2% dan natrium tripolipospat 0,1%. Karakterisasi meliputi analisa kualitatif fitokimia untuk mengetahui perbandingan kandungan senyawa antara ekstrak etanol biji melinjo dan ekstrak etanol biji melinjo dalam sediaan nanopartikel, ukuran partikel menggunakan *Particle Size Analyzer*, nilai potensial zeta dengan *Zeta Sizer*, dan morfologi partikel menggunakan *Scanning Electron Microscopy*. Koloid nanopartikel berupa padatan berwarna kuning kecokelatan. Analisa kualitatif fitokimia menunjukkan kandungan fitokimia ekstrak dan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo memiliki kesamaan meliputi minyak atsiri, terpenoid, lemak, alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Karakterisasi menggunakan PSA menunjukkan ukuran partikel sebesar $373,40 \pm 157,02$ nm dan indeks polidispersitas $0,674 \pm 0,382$. Nilai zeta potensial adalah $-14,13 \pm 2,49$ mV. Hasil foto SEM menunjukkan morfologi partikel menyerupai bulatan atau gumpalan dengan permukaan kurang rata dan struktur longgar.

Kata kunci : Biji melinjo, flavonoid, nanopartikel

ABSTRACT

Melinjo seeds (*Gnetum gnemon* L.) contain flavonoids which have antioxidant and immunomodulatory activities. Flavonoids are easily oxidized and have low bioavailability, so nanoparticles are made to protect and increase their absorption in the body. This research aimed to make and determine the characteristics of melinjo seeds (*Gnetum gnemon* L.) ethanol extract nanoparticles. The nanoparticles were prepared by ionic gelation method using 0.2% chitosan solution and 0.1% sodium tripoliposphate. Characterization includes qualitative analysis of phytochemistry to determine the comparison of the compound content between melinjo seed ethanol extract and melinjo seed ethanol extract in nano preparations, particle size using the Particle Size Analyzer, zeta potential value with Zeta Sizer, and particle morphology using Scanning Electron Microscopy. Nanoparticle colloids are yellow-brown solids. Qualitative analysis of phytochemistry showed the phytochemical content of the extract and nanoparticles of the ethanol extract of melinjo seeds have similarities including essential oils, terpenoids, fats, alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. Characterization using PSA showed the nanoparticle size of 373.40 ± 157.02 nm and the polydispersity index is $0,674 \pm 0,382$. The zeta potential value is -14.13 ± 2.49 mV. Outcome from using SEM showed that the particle morphology resembles a sphere or lump with an uneven surface and loose structure.

Key words: Melinjo seeds, flavonoids, nanoparticles

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Negara-negara di Dunia sekarang ini sedang mengalami masalah krisis kesehatan yang diakibatkan adanya virus Covid-19 tanpa terkecuali Indonesia. Covid-19 atau corona virus merupakan suatu penyakit infeksi berat pada sistem pernafasan disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2* atau sering dikenal dengan SARS-CoV-. Penularannya yang sangat cepat menyebabkan semakin banyaknya orang yang terinfeksi dan meninggal.

Hingga akhir September tercatat lebih dari 32 juta penduduk dunia telah terinfeksi Covid-19 dimana lebih dari 23 juta pasien telah sembuh dan 987 ribu pasien meninggal dunia. Sampai saat ini belum ditemukan obat maupun vaksin yang spesifik untuk infeksi Covid-19 sehingga diperlukan langkah antisipasi untuk mengurangi angka penularan. Langkah antisipasi yang dapat dilakukan yaitu 3M (Menjaga jarak, Mencuci tangan, dan Memakai masker) serta meningkatkan imunitas tubuh. Cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan imunitas tubuh adalah dengan menghindari stress, tidak merokok, menerapkan perilaku hidup bersih, serta mengkonsumsi vitamin, buah dan sayur.

Biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan salah satu jenis tumbuhan di Indonesia yang memiliki potensi sebagai bahan obat alam berdasarkan senyawa yang terkandung didalamnya. Biji melinjo mengandung tannin saponin, flavonoid, dan resveratrol (stilbenoid) (Hariana, 2013) serta kalori, lemak, protein, karbohidrat, Kalsium, fosfor, vit A, Vit B, dan air (Direktorat Gizi

Departement Kesehatan RI, 1996). Ekstrak biji melinjo menunjukkan aktivitas peredaman radikal bebas, inhibitor lipase dan α -amilase, dan antimikroba (Kato *et al*, 2009).

Senyawa metabolit yang berperan sebagai antioksidan yaitu flavonoid. Flavonoid dapat berperan dalam meningkatkan sistem imun tubuh (Haeria dkk., 2017). Kandungan flavonoid ekstrak biji melinjo menunjukkan aktivitas peredaman radikal bebas (Kato *et al.*, 2009). Radikal bebas merupakan molekul yang tidak memiliki pasangan elektron bebas dalam orbitalnya sehingga bersifat tidak stabil karena itu radikal bebas akan mengambil elektron dari senyawa atau molekul lain di sekitarnya untuk mencapai kestabilan kimia (Leong dan Shui; Arief, 2006). Adanya senyawa antioksidan yang bersifat reduktor kuat maka radikal bebas akan segera bereaksi dengan antioksidan sehingga terbentuk molekul yang stabil dan tidak berbahaya (Khairan, 2010). Sebagai senyawa antioksidan flavonoid bekerja dengan cara memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida dan mengubahnya ke bentuk lebih stabil dan flavonoid bekerja langsung untuk meredam radikal bebas seperti superoksida yang dihasilkan dari enzim xatin oksidase (Kristina, 2012).

Senyawa flavonoid memiliki kekurangan dimana senyawa ini bersifat tidak stabil terhadap suhu dan intensitas cahaya tinggi sehingga kandungan antioksidannya mudah teroksidasi (Luntungan, 2017). Flavonoid juga memiliki bioavailabilitas yang rendah karena rendahnya kelarutan dalam air dan absorpsi yang terbatas pada gastrointestinal dan usus (Dzakwan dan Priyanto, 2019). Salah satu upaya untuk mempertahankan dan meningkatkan bioavailabilitas

senyawa flavonoid adalah dibuat nanopartikel. Menurut Ningsih (2017) nanopartikel dapat melindungi zat aktif antioksidan, selain itu nanopartikel dapat memperbaiki bioavailabilitas yang buruk dan memodifikasi sistem penghantaran obat .(Mohanraj and Chen, 2006).

Nanopartikel menurut bidang farmasi yaitu senyawa obat dengan cara tertentu dibuat berukuran nanometer 1-1000 nm. Tujuan dibuat nanopartikel adalah sebagai sistem pengiriman obat, untuk mengontrol ukuran partikel, sifat permukaan, peningkatan bioavailabilitas, dan pelepasan zat aktif. Penggunaan metode gelas ionik karena paling mudah dilakukan dibandingkan metode lainnya. Metode gelas ionik memiliki sifat biokompatibilitas yang baik, aplikasi metode mudah tidak memerlukan pelarut organik dalam jumlah banyak, sehingga membutuhkan biaya yang relatif murah (Saraei, *et al.*, 2013).

Pada penelitian ini digunakan kitosan karena merupakan polimer yang memiliki sifat bioaktif, biokompatibel, pengkelat, antibakteri, dan dalam bentuk nanopartikel kitosan tidak toksik serta stabil selama penggunaan (Rismana dkk., 2014). Na TTP digunakan sebagai pengikat kitosan dimana derajat *swelling* kitosan menjadi rendah karena diikat silang secara ionik (Kurniasari dan Atun, 2017). Pada penelitian ini digunakan konsentrasi kitosan 0,2 % dan NaTTP 0,1 % dengan rasio 5:1 karena dalam penelitian sebelumnya oleh Ayumi., dkk (2018) pada pembuatan nanopartikel menggunakan konsentrasi tersebut dihasilkan nanopartikel yang stabil. Penambahan NaTTP (natrium tripolifosfat) pada pembuatan nanopartikel kitosan ialah sebagai zat pengikat silang akan

memperkuat matriks nanopartikel kitosan, sehingga nanopartikel kitosan yang terbentuk akan lebih stabil (Ningsih dkk., 2017).

Karakterisasi nanopartikel digunakan untuk memperkirakan kinerja dan untuk merancang partikel, pengembangan formulasi dan mengatasi masalah-masalah dalam proses pembuatan nanopartikel. Karakterisasi meliputi pengujian fitokimia ekstrak biji melinjo dan nanopartikel ekstrak biji melinjo. Karakterisasi ukuran partikel dengan *Particle Size Analyzer* yang berkaitan erat dengan kelarutan dan bioavailabilitasnya. Karakterisasi morfologi partikel dengan *Scanning Electron Microscopy* untuk mengetahui bentuk dan keadaan permukaan nanopartikel karena hal ini dapat memberikan informasi tentang sifat pelepasan obat. Karakterisasi potensial zeta dengan *Zeta Sizer* untuk melihat sifat muatan nanopartikel yang berkaitan dengan interaksi elektrostatik nanopartikel serta kestabilannya.

Berdasarkan uraian diatas penelitian ini bertujuan untuk pembuatan dan karakterisasi nanopartikel ekstrak biji melinjo dengan perbandingan kitosan 0,2% dan Na TTP 0,1% (5;1) agar diperoleh nanopartikel yang memenuhi parameter karakterisasi dan uji kualitatif fitokimia dengan metode gelasi ionik.

B. Perumusan Masalah

1. Bagaimana perbandingan kandungan fitokimia secara kualitatif ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.)?

2. Berapakah nilai ukuran partikel dan zeta potensial nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.)?
3. Bagaimana morfologi permukaan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.)?

C. Tujuan Penulisan

Tujuan dari karya tulis ilmiah ini adalah

1. Untuk mengetahui perbandingan kandungan fitokimia secara kualitatif ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.).
2. Untuk mengetahui nilai ukuran partikel dan zeta potensial nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.).
3. Untuk mengetahui morfologi permukaan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.).

D. Manfaat Penelitian

Dengan disusunnya penelitian mengenai pembuatan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan metode gelasi ionik bermanfaat untuk memperluas pengetahuan mengenai nanopartikel dan metode pembuatannya yang dapat menghasilkan nanopartikel yang mempunyai karakteristik yang baik meliputi ukuran partikel, zeta potensial, morfologi partikel, dan analisa kualitatif fitokimia yang dapat diterima masyarakat luas.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Dalam penelitian digunakan desain penelitian eksperimental karena dalam pembuatan nanopartikel nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) digunakan konsentrasi kitosan 0,2% dan NaTTP 0,1% dengan rasio 5:1. Data yang dihasilkan pada uji karakteristik meliputi morfologi permukaan, ukuran partikel, nilai zeta potensial, dan uji kualitatif kandungan fitokimia ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.).

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Formulasi dan Teknologi Sediaan Bahan Alam dan Sintesis Obat (FTSBA/OT), Laboratorium Formulasi dan Teknologi Sediaan Padat dan Semi Padat (TEKFAR), dan Laboratorium Kimia Analisis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional pada bulan Desember 2020 sampai dengan Februari 2021.

C. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik (Ohaus PA214 sensitivitas 0,0001), pipet tetes, beakerglass, cawan

porcelain, batang pengaduk, stopwatch, waterbath, gelas ukur, nampan, ayakan no.40 mesh, lumpang, toples kaca, baskom, rotary evaporator (IKA Basic 10), tabung reaksi, rak tabung reaksi, corong kaca, pengaduk kayu, pinset, magnetic stirrer, sonikator, sentrifugasi, spatel logam, *Particle Size Analyzer* (PSA) (Horiba Scientific-100), *Scanning Electron Microscopy-EDX* (SEM) (Zeiss EVO MA 10, Jerman), dan *Zeta Sizer Nano series Malvem*.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang diperoleh dari daerah Desa Jaten Kabupaten Boyolali, etanol 70%, aquades, kitosan, Na TTP, asam asetat glasial, asam sulfat pekat, n-heksan, kloroform, amoniak, reagen mayer, reagen dragendrof, reagen burchadat, reagen wanger, serbuk magnesium, asam klorida, FeCl_3 .

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah kitosan 0,2% dan Na TTP 0,1%

2. Variabel terikat

Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini meliputi hasil uji karakteristik meliputi uji kualitatif senyawa fitokimia, morfologi, ukuran partikel, dan zeta potensial.

3. Variabel kontrol

Variabel kontrol yang digunakan pada penelitian ini meliputi populasi dan sampel biji melinjo, suhu pada rotary evaporator dan waterbath untuk pemekatan ekstrak, pengeringan koloid nanopartikel dalam freezer, kecepatan pengadukan magnetic stirer dalam pembuatan nanopartikel, lama waktu sonikasi, dan kecepatan sentrifugasi.

E. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Uji kualitatif fitokimia

Skrining fitokimia merupakan uji pendahuluan secara kualitatif terhadap senyawa-senyawa metabolit sekunder meliputi minyak atsiri, steroid, terpenoid, lemak, fenol, alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Diidentifikasi dengan pereaksi-pereaksi tertentu.

2. Ukuran Partikel

Ukuran partikel adalah diameter rata-rata suatu partikel (Saputra, 2016). Nanopartikel memiliki partikel yang berukuran 1 – 1000 nanometer (Dessy dan Atun, 2017). Pengujian dilakukan dengan menggunakan alat PSA (*Particle Size Analyzer*).

3. Morfologi Permukaan

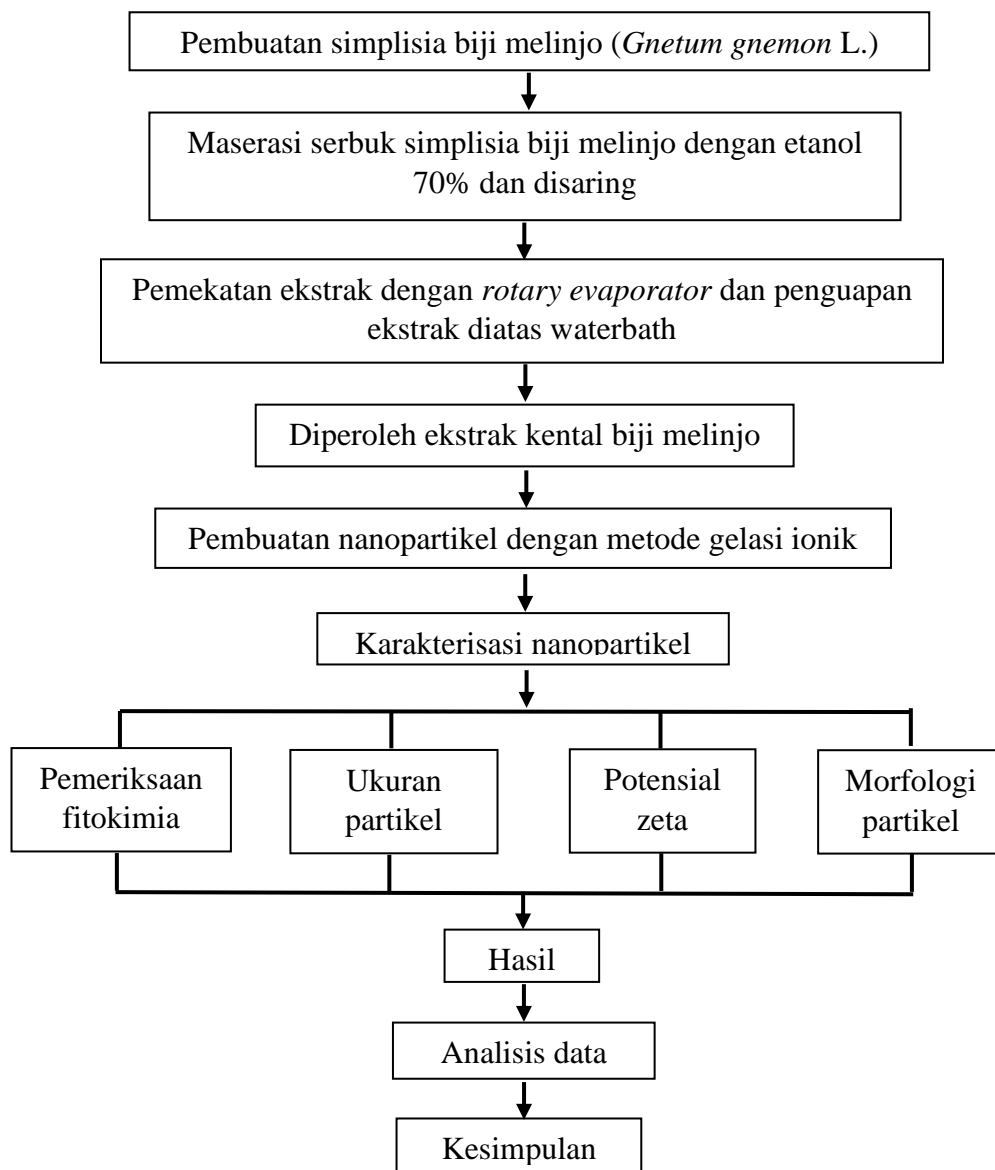
Menyangkut mengenai bentuk fisik sebuah partikel dan bentuk permukaan nanopartikel. Pengujian dilakukan dengan menggunakan alat *Scanning Electron Microscopy-EDX* (SEM) (Zeiss EVO MA 10, Jerman).

4. Zeta Potensial

potensial zeta adalah ukuran muatan permukaan partikel dari nanopartikel yang tersebar dalam medium pendispersi. Pengujian dilakukan dengan menggunakan alat *Zeta Sizer Nano series Malvem*.

F. Alur Penelitian

1. Alur Kerja



Gambar 8. Alur Kerja

2. Cara Kerja

a. Formula atau Komposisi

Tabel 2. Formula nanopartikel Ekstrak Etanol Biji Melinjo

Bahan	Formula
Ekstrak etanol biji melinjo	2 g
Etanol	50 ml
Kitosan 0,2 %	100 ml
Na – TTP 0,1 %	100 ml
Aquades ad	500 ml

b. Penyiapan Sampel

1) Penyiapan Bahan

Biji melinjo basah dikumpulkan sebanyak 1,5 kg dilakukan pemisahan terhadap kulitnya. Biji melinjo di sortasi basah, pencucian, pengeringan dengan cara dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam, dan sortasi kering. Biji melinjo yang sudah kering 1 kg kemudian dihaluskan dengan cara di tumbuk kemudian diayak dengan ayakan no.40 mesh.

2) Ekstraksi biji melinjo

Serbuk kering biji melinjo sebanyak 400 gram dimaserasi dengan menggunakan 2,0 L etanol 70% dengan perbandingan 1:5 selama 1x24 jam dengan disertai pengadukan. Filtrat yang diperoleh selanjutnya ditampung dan ampas dimaserasi lagi dengan 1,0 L etanol 70%

(1x24jam) dengan perbandingan 1:2,5. Selanjutnya filtrat yang diperoleh selanjutnya ditampung dan ampas dimaserasi lagi dengan 1,0 L etanol 70% (1x24jam). Filtrat hasil maserasi yang diperoleh disaring untuk memisahkan ampas dengan maserat. Selanjutnya maserat dipisahkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C kemudian diuapkan diatas waterbath hingga diperoleh ekstrak kental yang ditimbang dan dihitung rendemen (Depkes RI, 2008).

Hasil rendemen ekstrak dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Berat simplisia awal (g)}} \times 100 \%$$

c. Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Etanol Biji Melinjo

Ekstrak kental Biji Melinjo ditimbang sebanyak 2 gram dalam gelas kimia 100 mL. Bahan kemudian dilarutkan dalam 50 mL etanol : air (70:30). Kemudian dalam campuran ditambahkan 100 mL larutan kitosan 0,2 % dan aquadest hingga diperoleh volume 500 mL. Secara bertahap ke dalam campuran tersebut ditambahkan 100 mL larutan Na-TPP 0,1 % sambil disertai pengadukan menggunakan *magnetic stirer* pada kecepatan 1.250 rpm selama 2,5 jam kemudian disonikasi selama 1 jam hingga terbentuk koloid nanopartikel biji melinjo (Ayumi dkk.,2018). Koloid nanopartikel yang terbentuk dipisahkan dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit untuk diambil padatan koloidnya. Padatan Nanopartikel dicuci dengan aquadest kemudian dimasukkan dalam *freezer* ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) selama ± 2 hari. Penyimpanan dipindahkan dalam

lemari es ($\pm 3^{\circ}\text{C}$) hingga diperoleh serbuk kering (Kurniasari dan Sri, 2017).

d. Karakterisasi Nanopartikel

1) Analisis Kualitatif Fitokimia Pada Ekstrak Biji melinjo dan Nanopartikel Ekstrak Biji Melinjo

a. Senyawa Non polar

1. Minyak Atsiri

Uji minyak atsiri dilakukan dengan menambahkan reagen sudan III, sampel yang mengandung minyak atsiri akan berubah warna menjadi merah jingga (Depkes RI, 1979)

2. Steroid

Uji terpenoid/ steroid dilakukan dengan menambahkan sampel dengan pereaksi Liebermann Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Perubahan warna pada sampel yang berubah menjadi hijau kebiruan menandakan positif mengandung steroid (Harborne, 1987)

3. Terpenoid

Terpenoid dapat diuji dengan cara mencampurkan sampel dengan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat. Perubahan warna pada sampel dengan membentuk cincin coklat kemerahan atau violet menandakan positif mengandung terpenoid (Harborne, 1987).

4. Lemak

Ekstrak kental dilarutkan dengan n-heksan dan ditambahkan asam sulfat kemudian dipanaskan. Hasil positif dengan larutan berwarna coklat muda (Harbone, 1987)

b. Senyawa Semi polar

1. Fenol

Ekstrak kental dilarutkan terlebih dahulu dengan metanol dimasukkan sedikit ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl_3 1%. Perubahan warna larutan menjadi hijau, biru, atau ungu menunjukkan adanya senyawa fenol (Depkes RI, 1979).

2. Alkaloid

Ekstrak kental diekstraksi dengan larutan kloroform beramonia di dalam tabung reaksi, kemudian dikocok lalu disaring. Setelah itu, ditambahkan 1 mL asam sulfat 2N ke dalam filtrat dan dikocok sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan yang terletak pada bagian atas (asam) dipipet dan dimasukkan ke dalam 3 buah tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambahkan 3 tetes pereaksi Meyer, tabung reaksi kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff dan tabung reaksi ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Wagner. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi pertama (pereaksi mayer) dan timbulnya endapan berwarna coklat kemerahan pada tabung

reaksi kedua (pereaksi dragendrof) dan endapan berwarna coklat pada tabung reaksi ketiga dengan pereaksi wagner (Kristanti dkk., 2008).

3. Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida pekat (HCl). Perubahan warna sampel menjadi merah jingga dengan menandakan positif mengandung flavonoid (Harborne, 1987).

c. Senyawa polar

1. Saponin

Uji saponin dilakukan dengan melarutkan sampel dalam akuades kemudian dipanaskan selama 15 menit lalu dikocok selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang stabil selama kurang lebih 10 menit dan ditambahkan beberapa tetes asam klorida 2 N, maka sampel positif mengandung saponin (Harbone, 1987).

2. Tanin

Uji tanin diperoleh dari mencampurkan 1 ml sampel dan 3 tetes larutan FeCl_3 10%. Warna yang berubah pada larutan menjadi hitam kebiruan atau hijau kecoklatan menandakan positif mengandung tannin (Harbone, 1987).

2) Ukuran partikel menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*)

Karakterisasi ukuran partikel nanopartikel ekstrak biji melinjo diuji dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) Horiba Scientific-100. Sampel dimasukan kedalam dispersan berupa aquades pH 7 kemudian ditempatkan ke dalam kuvet. Kuvet yang berisi sampel dimasukkan pada PSA untuk diukur ukuran droplet yang terbentuk. Dalam PSA kuvet ditembakkan sinar tampak sehingga terjadi difraksi. Pengukuran ukuran partikel nano dengan memanfaatkan prinsip penghamburan cahaya tampak (Harahap, 2012)

3) Zeta Potensial

Pengukuran zeta potensial ditentukan dengan menggunakan *Zeta Sizer*. Dimana sebanyak 1 mL sampel diisikan pada kuvet zeta potensial dan dimasukkan pada holder alat untuk diukur potensial zeta dari nanopartikel yang terbentuk (Zulfa, 2019).

4) Morfologi menggunakan SEM

Karakterisasi Morfologi nanopartikel ekstrak biji melinjo diuji dengan menggunakan alat SEM *Scanning Electron Microscopy* (Haskell, 2006). Sampel disiapkan dengan menaruh sampel pada carbon tape yang ditempelkan pada plat. Plat kemudian dimasukkan kedalam alat SEM dan ditembakkan dengan electron untuk penggambaran hingga perbesaran 5000x (Ayumi dkk.,2018).

G. Analisa Data

Hasil penelitian pembuatan dan karakterisasi nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan metode gelasi ionik dianalisis secara deskriptif dengan melihat data yang diperoleh dari hasil karakterisasi nanopartikel meliputi karakterisasi ukuran partikel menggunakan PSA (*Particle Size Analysis*), zeta potensial menggunakan *Zeta Sizer*, karakterisasi morfologi permukaan nanopartikel menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) serta analisis kualitatif fitokimia ekstrak biji melinjo dan nanopartikel ekstrak biji melinjo.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Karakterisasi analisis kandungan fitokimia secara kualitatif ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) menunjukkan tidak ada perbedaan kandungan senyawa fitokimia antara ekstrak dan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo memiliki meliputi minyak atsiri, terpenoid, lemak, alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.
2. Karakterisasi ukuran nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan PSA menunjukkan ukuran nanopartikel $373,40 \pm 157,02$ nm dengan indeks polidispersitas $0,674 \pm 0,382$. Karakterisasi potensial zeta dengan *Zeta Sizer* menghasilkan nilai potensial zeta sebesar $-14,13 \pm 2,49$ mV.
3. Karakterisasi morfologi permukaan nanopartikel ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan SEM menunjukkan bentuk partikel menyerupai bulatan atau gumpalan dengan permukaan yang kurang rata dan struktur longgar.

B. Saran

Dapat dilakukan penelitian mengenai pembuatan dan karakterisasi nanopartikel selanjutnya dengan menggunakan bermacam perbandingan kitosan

dan NaTTP serta polimer dan agen pengikat silang lain seperti asam alginat dan CaCl_2 sehingga dapat dihasilkan nanopartikel yang stabil dengan nilai potensial zeta lebih kecil dari -30 mV dan lebih besar dari $+30 \text{ mV}$ serta partikel dengan bentuk yang sferis. Selain itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vitro* untuk mengetahui potensi biji melinjo untuk pengobatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdasah, M., 2017, Nanopartikel Dengan Gelasi Ionik, *Farmaka*, 15(1): 45-52
- Andriyanto, Bambang Elik., Puji, Ardiningsih., Nora, I., 2016, Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata Merr.*), *JKK*, 5(4): 9-13
- Avadi, M., 2010. Preparation and Characterization Of Insulin Nanoparticles Using Chitosan and Arabic Gum With Ionic Gelation Method. *Nanomed : Nanotech, Biol Med.* 6 : 58 – 63
- Ayumi, Dian., Sumaiyah., dan Masfria (2018). Pembuatan Dan Karaterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata* (L.f.) Schott) Menggunakan Metode Gelasi Ionik. *TALENTA Conference Series: Tropical Medicine (TM)*. Series 1: 029-033
- Barua, C. C., Haloi, P., & Barua, I. C. 2015. *Gnetum gnemon* Linn. : A Comprehensive Review on its Biological . International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 7(3), 531–539.
- Buzea, C., Blandino, I. I. P, and Robbie, K.. 2007. Nanomaterial and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biointerphases*, 2: MR170-MR172
- Delie, F. and Blanco, M.J. 2005. Polymeric Particulate to Improve Oral Bioavailabiliti of Peptide Drugs. *Molecules*, 10 : 65-75. Haskell, R. J. 2006. Physical Characterization of Nanoparticles, in : *Nanoparticles Technology for Drug Delivery*. New York : Taylor & Franncis Group.
- DepKes RI, 1979, *Farmakope Indonesia Edisi III*, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI, 1979, *Materia Medika Indonesia Jilid III*, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI, 1995, *Materia Medika Indonesia Jilid VI*, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI, 2008, *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Dzakwan, M dan Priyanto, W., 2019, Peningkatan Kelarutan Fisetin Dengan Teknik Kosolvensi, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8 (2): 5-9
- Haeria, Tahar N., dan Rahmadhani., 2017, Uji Efektivitas Immunomodulator Ekstrak Etanol Korteks Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* Hout. Merr.) terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Makrofag Pada Mencit (*Mus Musculus*) Jantan, *JF FIK UINAM*, 5 (1): 294-302
- Harahap, Y., 2012, Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan Dengan Variasi Asam, *Skripsi*, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, Jakarta
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia*, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Penerjemah: K. Padmawinata dan I. Soediro, terbitan ke-2, Penerbit ITB, Bandung.
- Hermanus, D.K.N., 2012, Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Kulit Kayu Mahoni (*Swietenia macrophylla* King.) Sebagai Bahan Suplemen Antihiperkolesterolemia, *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Hosoda Sch 2013. *Jasmelindo*. Retrieved September, Kamis, 2020, from Japan Assosiation of Melinjo Indonesia: <http://www.melinjo.net>
- Kardela, Widya., Fitra Fauziah., dan Shonya Mayesri., 2018, Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) : Aktivitas Sebagai Antidiare, *Jurnal Farmasi Higea*, 10 (1)
- Kato,E., Tokunaga,Y.dan Sakan,F. 2009. Stilbenoids Isolated from the Seeds of Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) and Their Biological Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol 57: 2544-2549.
- Khairan, Kuntum., 2010, Menangkal Radikal Bebas Dengan Antioksidan, *Jurnal Sainstek*, 2 (2): 183 – 187
- Khakim, A.N., dan Atun, S., 2017. Pembuatan Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Kunci Pepet (*Kaempferia rotunda*) Dengan Alginat Pada Berbagai Variasi Konsentrasi Ion Kalsium. *Jurnal Kimia Dasar*. 6 (1): 43-51.
- Khalida, Izza., 2016, Aktifitas Antioksidan Protein Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhidrolisis Terhadap Radikal Superoksida Monosit In Vitro, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jember

- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B. (2008). *Buku ajar fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kristina, S., 2012, Peran Antioksidan Flavonoid dalam Meningkatkan Kesehatan, *BINA WIDYA*, 23 (3): 135-140
- Kurniasari, D., dan Atun, S., 2017. Pembuatan Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) Pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan. *Jurnal Sains Dasar*. 6 (1): 31-35.
- Lim, T.K 2012, Edible Medicinal and Non-medicinal Plants Fruits. *Spinger Science & Bussines Media*, Vol 3: 45-50
- Luntungan, A.H., Mandey L.C., Rumengan, I.F.M., dan Suptijah P., 2017, Pengaruh penyalutan Nanokitosan pada kandungan fenolik ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* L), *jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 5(2): 20-15
- Mardliyati, E., Muttaqien, S.E., dan Setyawati, D.R. (2012). Sintesis Nanopartikel Kitosan-Tripoly Phosphate Dengan Metode Gelasi Ionik: Pengaruh Konsentrasi Dan Rasio Volume Terhadap Karakteristik Partikel. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan 2012*. Halaman 90-93.
- M. Alaudin dan N. Widiarti., 2014. Sintesis dan Modifikasi Lapis Tipis Kitosan-Tripolifosfat. *Jurnal MIPA*. 1, 46-52.
- Mohanraj, V.J. and Y. Chen. 2006. Nanoparticles : A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5 : 1
- Murdock, R.C., Braydich-Stole, L., Schrand, A.M., Schlager, J.J., Hussain, S.M. 2008. Characterization of Nanoparticle Dispersion in Solution Prior to In Vitro Exposure using Dynamic Light Scattering Tehnique. *Toxicol, Sci*, 101 : 239-253.
- NanoComposix. 2012. *Nanocomposix's Guide To Dynamic Light Scattering Measurement And Analysis Vol 1.3*. San Diego: NanoComposix.
- NanoComposix. 2012. *Zeta Potential Analysis Of Nanoparticles Vol 1.1*. San Diego: NanoComposix

- Ningsih, N., Yasni S, dan Yuliani S., 2017, Sintesis Nanopartikel Ekstrak Kulit Manggis Merah dan Kajian Sifat Fungsional Produk Enkapsulasinya, *Jurnal Teknologi Industri Panagn*, 28 (1): 27-34
- Park, K., Yeo, Y., Swarbrick, J. 2007. Microencapsulation Technology in: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology 3rd Edition*. New York: Informa Healthcare USA, Inc., p. 2315-2325
- Parwati, Pipit., 2017, Efek Ekstrak Biji Melinjo (*Gnetum Gnemon L.*) Sebagai Anti Hiperglikemik Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus Novergicus*) Yang Diinduksi Aloksan, *Karya Tulis Ilmiah*, Farmasi, Politeknik Kesehatan Palembang, Palembang
- Patravale, V.B., Date, A.A., Kulkarni, R.M. 2004. Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *J Pharm Pharmacol*, 56(7) : 827-40.
- Putri, Ade I., Agus Sudaryono., dan I Nyoman Candra., 2018, Karakterisasi Nanopartikel Kitosan Ekstrak Daun Ubi Jalar (*Ipomoea batatas L*) Menggunakan Metode Gelasi Ionik, *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 2 (2): 203 – 207
- Putri G.M. dan Atun S., 2017, Pembuatan Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) Pada Berbagai Variasi Komposisi Alginat., *Jurnal Kimia Dasar*, 6 (1): 19 – 26
- Rabima dan Marshal., 2017, Uji Stabilitas Formulasi Sediaan Krim Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Dari Biji Melinjo (*Gnetum gnemon L.*), *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal* 2(1)
- Rahmawaty, D., Effinora, A., Anton, B., 2014. Formulasi gel Menggunakan Ikan Hruan (*Channa striatus*) Sebagai Penyembuh Luka. *Media Farmasi*. 11(1): 29 – 40
- Rajit, K, dan Baquee, A.A., 2013, Nanoparticle: An Overview Of Preparation, Characterization And Application, *International Research Jurnal Of Pharmacy*, 4(4): 47-57
- Rismana, E., Kusumaningrum, S., Bunga, O., Nizar, dan Marhamah. (2014). Pengujian Aktivitas Antiacne Nanopartikel Kitosan – Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*). *Media Litbangkes*. 24 (1): 19-27.

- Riwanti, Pramudita., Farizah Izazih., Amaliyah., 2020, Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50, 70, 96% *Sargassum polycystum* dari Madura, *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2)
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J. and Quinn M., E., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Lexi-Comp: American Pharmaceutical Association, Inc., Page 418, 685.
- Saraei, F., Dounighi, M., Zolfagharian, N., Bidhendi, H.M., Khaki, S., dan Inanlou, P., 2013, Design and Evaluate Alginate Nanoparticles as a Protein Delivery system, *Archives of Razi Institute*, 68 (2): 139-147
- Sidqi, T. (2011). Pembuatan Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Temulawak Dengan Metode Ultrasonik. *Skripsi*. Halaman 8-13.
- Soehendro, Adi Wisnu., Godras Jati Manuhara., dan Edhi Nurhartadi., 2017, Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Antimikrobia Ekstrak Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Dengan Pelarut Etanol Dan Air, *Jurnal Teknosains Pangan* 4(4)
- Sunarjono, H. 2013. *Bertanam 36 Jenis Sayur*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Susanto, H. 2005. *Antioksidan Alami dan Radikal*. Kanisius
- Taurina, Wintari., Rafika Sari., Uray Cindy Hafinur., Sri W., dan Isnindar., 2017, Optimasi Kecepatan Dan Lama Pengadukan Terhadap Ukuran Nanopartikel Kitosan – Ekstrak Etanol 70 % Kulit Jeruk Siam (*Citrus nobilis* L. Var Microcarpa), *Traditional Medicine Journal*, 22(1)
- Voigt, R, 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Gajah Mada university Press, Yogyakarta.
- Zulfa, E., dan Puspitasari, A.D., 2019, Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Daun Sawo (*Manilkara zapota* L) Dan Daun Suji (*Pleomole angustifolia*) Dengan Berbagai Variasi Komposisi Kitosan-Natrium Tripolifosfat, *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakata*, 56-61