

FORMULASI NANOPARTIKEL KITOSAN EKSTRAK METANOL ALGA LAUT COKLAT (*Sargassum hystrix*) DENGAN METODE GELASI IONIK

Submitted : 9 Januari 2021

Edited : 22 Mei 2020

Accepted : 29 Mei 2021

Agung Giri Samudra¹, Nurfijrin Ramadhani¹, Fathnur Sani K², Gina Lestari³,
Bambang Hernawan Nugroho⁴

¹S1 Farmasi Universitas Bengkulu, ²S1 Farmasi Universitas Jambi,
³D3 Farmasi Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah, ⁴S1 Farmasi Universitas Islam Indonesia
Email : agunggirisamudra@unib.ac.id

ABSTRACT

The content of marine algae Sargassum hystrix includes polysaccharides (alginates), polyphenols, proteins, peptides, amino acids, lipids, minerals, and several vitamins. However, the use of natural ingredients has limitations, namely that it often fails in the clinical phase due to low bioavailability. One effort that can be done to overcome this problem is to formulate nanoparticles using chitosan polymer and sodium tri-polyphosphate. This study aims to formulate nanoparticles from the methanol extract of Sargassum hystrix with various chitosan concentration ratios. The methanol extract of Sargassum hystrix was obtained by extraction using the maceration method with 50% methanol as a solvent. The results of the extract were made colloidal nanoparticles using ionic gelation techniques using a variation of the methanol extract of Sargassum hystrix: chitosan: NaTPP: Tween 80, Formulation 1 (0.75 gram: 0.1% 18 mL: 0.1% 9 mL: 0.5% 3 mL); Formulation 2 (0.75 gram: 0.2% 18 mL: 0.2% 9 mL: 0.5% 3 mL); Formulation 3 (0.75 gram: 0.1% 18 mL: 0.2% 9 mL: 0.5% 3 mL); Formulation 4 (0.75 gram: 0.2% 18 mL: 0.1% 9 mL: 0.5% 3 mL). The nanoparticle colloids formed were characterized by particle size (nm), and the zeta potential (mV), Formula 1 (212.65 ± 45.32 ; -11.4 ± 5.65), Formula 2 (514.55 ± 56.35 ; -8.85 ± 1.34), Formula 3 (219.35 ± 43.76 ; -14.5 ± 1.83), Formula 4 (326.5 ± 3.39 ; -1.25 ± 17.88). All formulas show that they can form nanoparticle formulas between 1-1000 nm., But the preparation that will be more stable is formula 3 because it has a zeta potential that is close to ± 30 mV.

Keywords : methanol extract, sargassum hystrix, nanoparticles, zeta potential

PENDAHULUAN

Saat ini masyarakat mulai beralihnya ke obat tradisional didukung dengan banyaknya jenis tanaman obat berkhasiat di Indonesia baik itu di daratan maupun di lautan. Indonesia merupakan Negara kepulauan yang memiliki lebih kurang 70% laut yang kaya dengan berbagai jenis sumber tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat. Namun penggunaan bahan alam memiliki keterbatasan, yaitu sering mengalami

kegagalan pada fase klinik disebabkan rendahnya bioavailabilitas⁽¹⁾.

Aplikasi nanoteknologi untuk pangan dan obat-obatan menunjukkan kecenderungan yang terus meningkat. Teknologi ini menawarkan keunggulan dalam meningkatkan bioavailabilitas bahan aktif, pengendalian pelepasan bahan aktif serta memperbaiki sifat sensoris. Dalam ukuran nano (50-500 nm), partikel bahan aktif lebih mudah diserap oleh dinding usus halus, sehingga

meningkatkan bioavailabilitasnya. Penyerapan bahan aktif meningkat karena kelarutan partikel meningkat dan luas permukaan partikel yang besar^(2,3).

Nanoteknologi merupakan salah satu teknologi yang melibatkan molekul dengan ukuran kurang dari 1000 nanometer⁽⁴⁾. Aplikasi nanoteknologi dalam berbagai bidang seperti kimia, biologi, fisika, dan rekayasa genetika menjadi sangat menarik di beberapa tahun terakhir⁽⁵⁾. Beberapa jenis pengembangan nanoteknologi yang sangat pesat yaitu nano-medicine, nanoemulsi dan nanopartikel. Penelitian tentang nano menjadi perhatian penting bagi peneliti dunia dikarenakan penelitian ini dapat diaplikasikan dengan sangat luas seperti dalam bidang biomedis, elektronik dan optik⁽⁶⁾.

Polimer yang digunakan untuk membentuk nanopartikel dapat berupa polimer sintetik dan alami. Salah satu polimer yang dapat diaplikasikan dalam formulasi nanopartikel salah satunya adalah kitosan dengan agen ikatan silang natrium tri-poli-fosfat (NaTPP)⁽⁷⁾. Gelasi ionik merupakan metode populer pilihan dalam sintesis ikatan sambung silang senyawa enkapsulator⁽⁸⁾. Gelasi ionik dapat dimanfaatkan untuk pembentukan nanopartikel, metode ini mempunyai kelebihan yaitu prosesnya yang sederhana atau mudah, pelarut yang digunakan bukan berasal dari pelarut organik serta prosesnya dapat dikontrol dengan mudah⁽⁹⁾.

Kitosan merupakan suatu senyawa poli (Namino-2-deoksi- β -D-glukopiranos) atau glukosamin hasil deasetilasi kitin/poli (N-asetil-2-amino-2-deoksi- β -D-glukopiranos). Kitosan mempunyai sifat spesifik yaitu adanya sifat bioaktif, biokompatibel, pengkelat, antibakteri dan dapat terbiodegradasi⁽⁵⁾. 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⁽¹⁰⁾.

Pada penelitian Nugroho dkk 2020, berfokus pada efek mekanik yang perlu dipertimbangkan pemilihannya dalam sintesis suatu *crosslinker* bahwa efek mekanik pada proses homogenisasi dapat menimbulkan percepatan partikel, getaran, tekanan pancaran dan gaya gesek yang dimanfaatkan untuk mengecilkan ukuran suatu partikel dan menjaga partikel tetap kecil terhadap pengaruh pertumbuhan partikel dan aglomerasinya⁽⁸⁾. Selain itu, penelitian yang dilakukan Bhumkar dan Varsha 2006, mempelajari pembuatan partikel kitosan ikatan silang dengan TPP dengan metode *ionotrophic gelation*⁽¹¹⁾. 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.

Berdasarkan penjelasan diatas, manfaat yang ada dalam *Sargassum hystris* dapat ditingkatkan dengan memformulasikan menjadi bentuk nanopartikel. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi pengaruh variasi kitosan dan mendapatkan perbandingan ekstrak metanol *Sargassum hystris* : kitosan: NaTPP yang optimal menggunakan metode gelasi ionik.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas

(Pyrex), bejana maserasi, blender, cawan penguap, hot plate, waterbath, magnetik stirrer, *particle size analyzer* (Horiba Scientific, Nano Particle Analyzer SZ-100).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga laut jenis *Sargassum hystrix* kering, metanol (E. Merck), aquadest, kitosan, Na-TPP, asetat, tween 80.

Ekstraksi Metanol

Alga laut kering *Sargassum hystrix* direndam dalam air selama 12 jam. Alga dipotong kecil kemudian dihaluskan dengan blender dan dikeringkan dalam oven suhu 40°C selama 24 jam. Serbuk alga laut yang telah kering ditimbang 50 gram dan diekstrak dalam metanol 50% sebanyak 1 L. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi selama 3 hari pada suhu kamar, menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Metanol diuapkan dengan menggunakan waterbath^(13,14,15).

Pembuatan Nanopartikel

Pembuatan larutan kitosan dengan cara timbang kitosan sebanyak 0,1 dan 0,2

gram dilarutkan dalam 100 mL larutan asam asetat 1% dengan menggunakan pengaduk magnetik. Pembuatan larutan natrium tripolifosfat dengan cara menimbang natrium tripolifosfat sebanyak 0,1 dan 0,2 mg dilarutkan dalam 100 mL aqua bidestilata dengan menggunakan pengaduk magnetik. Pembuatan larutan tween 80 yaitu dengan ambil larutan tween 80 ambil sebanyak 0,5 mL dilarutkan dalam 100 mL aqua bidestilata. Pembuatan suspensi nanopartikel kitosan ekstrak metanol *Sargassum hystrix* yaitu Ekstrak metanol *Sargassum hystrix* 0,75 gram dicampurkan dengan larutan kitosan (variasi konsentrasi 0,1 – 0,2%) 18 mL menggunakan pengaduk magnetik pada kecepatan 1500 selama 30 menit. Kemudian tambahkan larutan Na-TPP (variasi konsentrasi 0,1 – 0,2%) 9 mL secara tetes demi tetes menggunakan pengaduk magnetik pada kecepatan 1500 Rpm selama 30 menit. Kemudian tambahkan larutan tween (konsentrasi 0,5%) 3 mL secara tetes demi tetes menggunakan pengaduk magnetik pada kecepatan 1500 selama 30 menit hingga terbentuk suspensi nanopartikel^(15,16,17). Formula sediaan nanopartikel ekstrak metanol *Sargassum hystrix* dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Formula sediaan nanopartikel ekstrak metanol *Sargassum hystrix*.

	Ekstrak	Kitosan	Na TPP	Tween 80
Formula 1	0,75 gram	0,1%; 18 mL	0,1%; 9 mL	0,5%; 3 mL
Formula 2	0,75 gram	0,2%; 18 mL	0,2%; 9 mL	0,5%; 3 mL
Formula 3	0,75 gram	0,1%; 18 mL	0,2%; 9 mL	0,5%; 3 mL
Formula 4	0,75 gram	0,2%; 18 mL	0,1%; 9 mL	0,5%; 3 mL

Karakterisasi Nanopartikel

Nanopartikel yang terbentuk kemudian dikarakterisasi, meliputi ukuran partikel, potential zeta dan morfologi nanopartikel. Analisis ukuran dan morfologi partikel Sediaan diambil 1 mL kemudian diencerkan ke dalam 5 mL aquabides kemudian diaduk perlahan hingga membentuk dispersi. Selanjutnya, diameter partikel dan zeta potensial diukur untuk masing-masing formula menggunakan *alat Particle Size Analyzer* dengan metode *Dynamic Light Scattering*^(8,18,19).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Metanol

Ekstraksi metanol dari alga laut *Sargassum* sp diekstrak menggunakan metode maserasi. Pelarut ekstraksi yang digunakan yaitu metanol karena mempunyai kemampuan yang paling baik mengekstrak polifenol. Maserasi merupakan proses pengambilan komponen target yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia ke dalam pelarut yang sesuai dalam jangka waktu tertentu. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan didalam sel dan diluar sel. Larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Pelarut ekstraksi yang digunakan yaitu metanol, karena mempunyai kemampuan yang paling baik mengekstrak polifenol.

Hal ini telah dibuktikan oleh penelitian Aryudhani (2007) mengekstrak polifenol alga laut *Caulerpa racemosa* menggunakan pelarut metanol sebagai pelarut polar menunjukan nilai rendemen tertinggi sebesar 40,47% dibandingkan pelarut etil asetat sebagai pelarut semipolar sebesar 2,74% dan n-heksan sebagai pelarut nonpolar sebesar 1,07%⁽²⁰⁾. Pelarut metanol terbukti dapat mengekstrak kandungan fenol total alga *S. swartzii* dengan hasil yang paling baik sebesar 12,00 mg asam galat/ 100 g sampel

kering dibandingkan pelarut etanol; kloroform; n-heksan berturut-turut sebesar 0,81; 11,05; 6,41 (mg asam galat/ 100 g sampel kering)⁽²¹⁾. Menurut Penelitian Samudra., dkk 2018, Rendemen ekstrak metanol *Sargassum* sp. sebesar 11,12%. Hasil rendemen dari ekstraksi pada penelitian ini yaitu 9%⁽¹⁴⁾.



(a)



(b)

Gambar 1. (a)Penyaringan ekstraksi metanol; (b)Hasil pemekatan ekstrak metanol

Formula Nanopartikel

Penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi kombinasi polimer kitosan dan tri-polifosfat. Pencampuran polimer tersebut akan menghasilkan interaksi antara polimer yang bermuatan positif pada gugus amino kitosan dengan polimer yang bermuatan negatif dari tri-poli-fosfat. Pembentukan kitosan nanopartikel – ekstrak *Sargassum hystrix* dilakukan dengan metode gelas ionik yaitu dengan cara mereaksikan campuran

kitosan-ekstrak *Sargassum hystrix* dengan natrium tripolifosfat (Na-TPP). Dengan mengatur konsentrasi kitosan dan Na-TPP serta perbandingan komposisi antara kitosan dengan ekstrak maka ukuran partikel dari nanopartikel kitosan *Sargassum hystrix* dapat dibuat pada skala nano ataupun mikrometer. Konsentrasi antara polimer kitosan dan tri-poli-fosfat yang digunakan dapat mempengaruhi karakteristik fisik dari nanopartikel⁽²²⁾. Penggunaan kitosan pada penelitian ini karena kitosan yang memiliki sifat antibakteri, biokompatibel, pengelat dan bioaktif, serta dapat terbiodegrasi. Selain itu kitosan sangat cepat menyerap air dan memiliki derajat *swelling* yang tinggi dalam lingkungan air, sehingga pada aplikasi medis dan aplikasi biologis sebagai sistem penghantaran dan pelepasan obat kurang menguntungkan. Sehingga penambahan NaTPP perlu dilakukan untuk menghasilkan turunan kitosan dengan peningkatan biokompatibilitas *swelling* dan menurunkan derajat swelling yang sangat tinggi⁽²³⁾.

Pada metode gelasi ionik dengan menggunakan pasangan polimer kitosan dan NaTPP, mekanisme terbentuknya nanopartikel kitosan terbentuk berdasarkan

interaksi *elektostatic* antara gugus amina dari kitosan dan gugus negatif dari polianion seperti tripolifosfat. Metode gelasi ionik merupakan metode yang mudah dilakukan dibandingkan dengan metode-metode yang lainnya. Kitosan yang terlarut dalam asam asetat kemudian ditambahkan dengan polianion atau anionik polimer, secara spontan akan terbentuk nanopartikel dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* pada temperatur ruangan⁽⁵⁾. Hasil nilai ukuran nano partikel dan zeta potensial dapat dilihat pada tabel 2.

Hasil ekstrak dibuat koloid nanopartikel menggunakan teknik gelasi *ionic* menggunakan variasi ekstrak metanol *Sargassum hystrix*: kitosan: NaTPP : Tween 80. Koloid nanopartikel yang terbentuk dikarakterisasi ukuran partikel (nm), dan nilai zeta potensial (mV) yaitu formula 1 (212.65 ± 45.32 ; -11.4 ± 5.65), formula 2 (514.55 ± 56.35 ; -8.85 ± 1.34), formula 3 (219.35 ± 43.76 ; -14.5 ± 1.83), formula 4 (326.5 ± 3.39 ; -1.25 ± 17.88). Semua formula menunjukkan dapat membentuk formula nanopartikel diantara 1-1000 nm, namun sediaan akan lebih stabil yaitu formula 3 memiliki zeta potensial yang mendekati ± 30 mV.

Tabel 2. Hasil Nilai Ukuran Nano Partikel dan Zeta Potensial

	Ukuran Nano Partikel (nm)	Zeta Potensial (mV)
Formula 1	212.65 ± 45.32	-11.4 ± 5.65
Formula 2	514.55 ± 56.35	-8.85 ± 1.34
Formula 3	219.35 ± 43.76	-14.5 ± 1.83
Formula 4	326.5 ± 3.39	-1.25 ± 17.88

Keterangan: Nilai rata-rata $\pm$ SD (3 replikasi)



Keterangan: F1= Formula 1; F2= Formula 2; F3= Formula 3; F4= Formula 4

Gambar 2. Formula Nanopartikel Ekstrak Metanol *Sargassum hystrix*.

Pada penelitian ini hasil dapat dilihat pada gambar 2 menunjukkan bahwa semua formula jernih, dan memiliki kepekatan warna coklat yang berbeda-beda, Meningkatnya rasio kitosan dalam sistem meningkatkan kejernihan dari dispersi yang terbentuk. Adanya variasi komposisi kitosan tersebut berpengaruh pada ukuran partikel dan nilai zeta potensial pada masing-masing variasi. Peningkatan rasio kitosan dalam sistem meningkatkan ukuran partikel dari nanopartikel ekstrak metanol *Sargassum hystrix*. Jumlah kitosan yang berlebih kemudian di kompleks melalui tautan silang dengan counter ion, natrium tri-poli-fosfat (NaTPP), jumlah kitosan akan meningkatkan ukuran partikel karena struktur folding rantai polimer yang terdispersi semakin besar dan semakin banyak. Nilai zeta potensial yang positif disebabkan karena kontribusi dari muatan parsial pada permukaan yang didominasi oleh kitosan (bermuatan positif) sehingga beda potensial antara electrical double layer dan medium bernilai positif. Nilai zeta potensial yang >30 menunjukkan *repulsion force* lebih besar dari pada *attractive force* sehingga mampu meningkatkan stabilitas sistem dispersi. Nilai zeta potensial pada seluruh formula belum

melebihi ($\pm$) 30 mV berarti bahwa larutan nanopartikel seluruh formula tersebut merupakan larutan koloid yang belum cukup stabil dengan muatan negatif

Teknik gelasi ionik memanfaatkan NaTPP yang digunakan sebagai agen crosslinker dengan konsentrasi rendah dilakukan supaya tidak terbentuk ikatan tautan silang antara polianion pada TPP dengan gugus amino pada polikation kitosan. *Counter charge* tersebut akan berinteraksi dan menyebabkan rantai polimer kitosan menggulung⁽²⁴⁾. Senyawa- senyawa polifenol dalam ekstrak akan berikatan dengan gugus kation pada kitosan, sedangkan sisa kation akan bereaksi dengan NaTPP sehingga menyebabkan rantai molekul kitosan membentuk partikel-partikel berbentuk nano. Metode ini merupakan metode yang paling mudah dilakukan jika dibandingkan dengan metode-metode yang lainnya⁽²⁵⁾. Kitosan yang terprotonasi pada asam kemudian ditambahkan dengan counter charge, secara spontan akan terbentuk nanopartikel. Ukuran dan struktur permukaan pada partikel dapat dimodifikasi dengan memvariasikan rasio atau komposisi kitosan dan NaTPP⁽⁵⁾.

SIMPULAN

Semua formula menunjukkan dapat membentuk formula nanopartikel diantara 1-1000 nm., namun sediaan lebih stabil yaitu Formula 3 karena memiliki zeta potensial yang mendekati +/- 30 mV.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Bengkulu yang telah memberikan bantuan terhadap Penelitian Pembinaan Universitas Bengkulu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alam, S., Khan, Z. I., Mustafa, G., Kumar, M., Islam, F., Bhatnagar, A., & Ahmad, F. J. (2012). Development and evaluation of thymoquinone-encapsulated chitosan nanoparticles for nose-to-brain targeting: a pharmacoscintigraphic study. *International journal of nanomedicine*, 7, 5705.
2. Kammona, O., & Kiparissides, C. (2012). Recent advances in nanocarrier-based mucosal delivery of biomolecules. *Journal of controlled release*, 161(3), 781-794.
3. Kiparissides, C., & Kammona, O. (2013). Nanoscale carriers for targeted delivery of drugs and therapeutic biomolecules. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 91(4), 638-651.
4. Ayumi, D., Sumaiyah, S., & Masfria, M. (2018, December). Pembuatan Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata* (Lf) Schott) Menggunakan Metode Gelasi Ionik. In *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)* (Vol. 1, No. 3, pp. 029-033).
5. Kurniasari, D., & 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.
6. Duncan, G. A., & Bevan, M. A. (2015). Computational design of nanoparticle drug delivery systems for selective targeting. *Nanoscale*, 7(37), 15332-15340.
7. Fitri, D., Kiromah, N. Z. W., & Widiastuti, T. C. (2019). Formulasi Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan Dengan Metode Gelasi Ionik. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 5(1), 61-69.
8. Nugroho, B.H., Wardhani, M.T. dan Suparmi, S., (2020). Perbandingan Teknik Aerasi dan Ultrasonikasi Gelasi Ionik Nanopartikel Dekسامetason Natrium Fosfat. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, pp.102-109.
9. Mardiyati, E., Muttaqien, S. E., & Setyawati, D. R. (2012). Sintesis nanopartikel kitosan-trypoly phosphate dengan metode gelasi ionik: pengaruh konsentrasi dan rasio volume terhadap karakteristik partikel. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan*, 90, 93.
10. Juliantoni, Y., Hajrin, W., & Subaidah, W. A. (2020). Nanoparticle Formula Optimization of Juwet Seeds Extract (*Syzygium cumini*) using Simplex Lattice Design Method. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(3), 416-422.
11. Bhumkar, D. R., & Pokharkar, V. B. (2006). Studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: a technical note. *Aaps Pharmscitech*, 7(2), E138-E143.
12. Samudra, A. G., Dewi, B., Nugroho, A. E., Husni, A., Periknan, M., Gajah, U., & Yogyakarta, M. (2015). Aktivitas inhibisi α -Amilase ekstrak alginat dan senyawa polifenol dari *Sargassum hystrix*. In *Prosiding Seminar Nasional and Workshop" Perkembangan Terkini Sains Farmasi Dan Klinik* 5 (pp. 6-7).

13. Husni, A., Pratiwi, T., Samudra, A. G., & Nugroho, A. E. (2018). In vitro antidiabetic activity of *Sargassum hystrix* and *Eucheuma denticulatum* from Yogyakarta Beach of Indonesia. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: B. Life and Environmental Sciences*, 55(3), 1-8.
14. Samudra, A. G., Sani, F., & Chintama, M. (2018). Uji Perbandingan Efektivitas Antidiabetes Ekstrak Polisakarida Dan Senyawa Polifenol Alga Coklat (*Sargassum* Sp.) Pada Mencit Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 48-52.
15. Iswandana, R., Anwar, E., & Jufri, M. (2013). Formulasi Nanopartikel Verapamil Hidroklorida dari Kitosan dan Natrium Tripolifosfat dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi Indonesia. Vol*, 6(4), 202.
16. Wu, Y., Yang, W., Wang, C., Hu, J. and Fu, S., (2005). Chitosan nanoparticles as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate. *International journal of pharmaceutics*, 295(1-2), pp.235-245.
17. Gredi, J., Taurina, W. and Andrie, M., (2017). Analgesic Effectivty Of Nanoparticles Chitosan-Ethanol Leaf Extract Papaya (*Carica Papaya* L.) In White Male Mice (*Mus Mucculus*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 15(2), pp.228-235.
18. Saberi, A.H., Fang, Y. and McClements, D.J., (2013). Effect of glycerol on formation, stability, and properties of vitamin-E enriched nanoemulsions produced using spontaneous emulsification. *Journal of colloid and interface science*, 411, pp.105-113.
19. Bhatia, S., (2016). Nanoparticles types, classification, characterization, fabrication methods and drug delivery applications. In *Natural polymer drug delivery systems* (pp. 33-93). Springer, Cham
20. Aryudhani, N. (2007). Kandungan senyawa fenol rumput laut *Caulerpa racemosa* dan aktivitas antioksidannya. [Skripsi]. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor
21. Sadati, N., Khanavi, M., Mahrokh, A., Nabavi, SMB., Sohrabipour, J., Hadjiakhoondi, A. (2011), Comparison Of Antioxidant Activity And Total Phenolic Contents Of Some Persian Gulf Marine Algae, *Journal of Medicinal Plants*. 10 (37) :73-79
22. Marhamah, M., Nizar, N., Bunga, O., Kusumaningrum, S., & Risma, E. (2014). Pengujian Aktivitas Antiacne Nanopartikel Kitosan Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana*). *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 24(1), 20691.
23. Pakki, E., Sumarheni, S., Aisyah, F., Ismail, I., & Safirahidzni, S. (2016). Formulasi Nanopartikel Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* (Aubl) Merr) Dengan Variasi Konsentrasi Kitosan-Tripolifosfat (Tpp). *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 3(4), 251-263.
24. Abdassah, M. (2017). Nanopartikel dengan gelasi ionik. *Farmaka*, 15(1), 45-52.
25. Mohanraj, V. J., & Chen, Y. (2006). Nanoparticles-a review. *Tropical journal of pharmaceutical research*, 5(1), 561-573.