

PENGARUH *CROSSLINK AGENT* PADA PEMBUATAN NANOKITOSAN TERHADAP KADAR FLAVONOID EKSTRAK ETANOL BUAH PARIJOTO

Susan Primadevi¹, Rohmatun Nafi'ah²

^{1,2}Program Studi Farmasi, STIKES Cendekia Utama Kudus
Jl. Lingkar Raya Kudus-Pati Km.5 Jepang Kec.Mejobo, Kab.Kudus
Email: sanchemic.nnes@gmail.com, nafie_qudsy@yahoo.com

ABSTRAK

Parijoto telah dilaporkan banyak mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, saponin. Flavonoid dalam buah parijoto telah banyak diteliti aktivitas antioksidannya. Namun ekstrak etanol buah parijoto memiliki kelemahan yaitu mudah mengalami reaksi oksidasi akibat pengaruh suhu dan intensitas cahaya. Proses penyalutan nanokitosan diharapkan mampu memperbaiki sifat dan stabilitas dari ekstrak etanol buah parijoto. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *crosslink agent* pada pembuatan nanokitosan sebagai bahan penyalut ekstrak etanol buah parijoto. Preparasi sampel meliputi pembuatan simplisia buah parijoto menggunakan pengeringan sinar matahari langsung, ekstraksi dengan metode remaserasi etanol 70%. Proses mikroenkapsulasi melalui tahapan pembuatan nanokitosan dengan mencampurkan larutan kitosan 0,2% dan ekstrak etanol buah parijoto menggunakan 2 jenis *crosslink agent* yaitu natrium tripolifosfat (NaTPP) dan asam sitrat masing-masing dengan konsentrasi 0,1%. Kadar flavonoid ekstrak etanol buah parijoto tersalut nanokitosan dan yang tidak tersalut ditentukan dengan metode $AlCl_3$ menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Hasil menunjukkan bahwa ukuran partikel nanokitosan-NaTPP sebesar 5860,7 nm, sedangkan nanopartikel-asam sitrat sebesar 2291,1 nm. Kadar flavonoid pada ekstrak tanpa penyalutan, penyalutan dengan nanokitosan-NaTPP dan nanokitosan-asam sitrat berturut-turut sebesar 6,245 ppm, 10,208 ppm, dan 9,642 ppm.

Kata Kunci: Natrium Tripolifosfat, Asam sitrat, Nanokitosan, Mikroenkapsulasi, Flavonoid

ABSTRACT

Parijoto has been reported to contain lots of flavonoids, alkaloids, tannins, saponins. Flavonoids in parijoto have been widely studied for their antioxidant activity. However, ethanol extract of parijoto has a weakness, namely that it is easily oxidized by high temperature and light intensity. Nanochitosan coating process is expected to improve the properties and stability of parijoto ethanol extract. This study aims to determine the effect of crosslink agent in the manufacture of nanochitosan as a coating material for parijoto ethanol extract. Sample preparation includes the manufacture of parijoto simplicia using direct sunlight drying and extraction method via remaceration with ethanol 70%. Microencapsulation process through the stages of making nanocitosan by mixing chitosan solution 0,2% and parijoto ethanol extract used 2 types of crosslink agents, namely sodium tripolyphosphate (NaTPP) 0,1% and citric acid 0,1%. Flavonoid content of parijoto ethanol extract coated with nanochitosan and uncoated were determined using a UV-Vis spectrophotometer with

AlCl₃ method. The results showed that the particle size of nanocitosan-NaTPP was 5860,7 nm, while nanoparticles-citric acid was 2291,1 nm. Flavonoid content in the uncoated extract, coated extract with nanocitosan-NaTPP and nanocitosan-citric acid were 6,245 ppm, 10,208 ppm, and 9,642 ppm, respectively.

Keywords: *Sodium tripolyphosphate, Citric Acid, Nanocitosan, Microencapsulation, Flavonoids*

LATAR BELAKANG

Parijoto merupakan tanaman yang banyak ditemukan di Desa Colo Kecamatan Dawe Kabupaten Kudus Jawa Tengah. Senyawa aktif yang ada di dalam buah pari joto antara lain tanin, saponin, flavonoid dan glikosida (Wachidah, 2013). Senyawa flavonoid dalam buah pari joto telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Wachidah, 2013; Geraldine & Hastuti, 2018; Pertiwi dkk., 2019; Pujiastuti & Saputri, 2019). Senyawa flavonoid sebagai antioksidan berfungsi untuk menstabilkan kekurangan elektron pada radikal bebas sehingga dapat mencegah terjadinya reaksi berantai dari radikal bebas (Michalak, 2006).

Kelemahan dari senyawa flavonoid yaitu mudah teroksidasi oleh pengaruh suhu dan intensitas cahaya yang tinggi (Anlysn, 2006). Salah satu cara untuk mengatasi kelemahan tersebut adalah dengan metode mikroenkapsulasi yang bertujuan untuk melindungi bahan aktif berupa cairan, padatan atau gas dengan suatu bahan penyalut atau pembungkus yang berukuran nanopartikel (1-1000 nm) (Tiyaboonchai, 2003; Bansode dkk., 2010). Jenis penyalut yang digunakan untuk proses mikroenkapsulasi harus bersifat tidak beracun dan tidak bereaksi dengan bahan inti.

Bahan penyalut yang digunakan dalam mikroenkapsulasi dapat terdiri hanya satu jenis penyalut atau penggabungan dari jenis penyalut yang berbeda. Bahan penyalut yang biasa digunakan dalam proses mikroenkapsulasi antara lain kitosan (Ningsih dkk., 2018; Mauliyani dkk., 2018; Luntungan dkk., 2017), hidroksipropil metil selulosa, polietilen glikol 400 (Basri, 2009), alginat (Jayanudin dkk., 2017), pati singkong-CMC (Setiyadi, 2017).

Proses mikroenkapsulasi terjadi antara ekstrak dengan sisi aktif kitosan. Sisi aktif kitosan berupa gugus amina yang terletak pada permukaan polimer (Lusiana dkk., 2013). Berat molekul kitosan berpengaruh terhadap efisiensi mikroenkapsulasi. Kitosan yang memiliki berat molekul rendah akan memiliki efisiensi mikroenkapsulasi yang lebih tinggi dibanding dengan kitosan dengan berat molekul tinggi (Yang & Hon, 2009).

Selain berat molekul kitosan, jenis *crosslink agent* juga berpengaruh dalam proses mikroenkapsulasi. Efisiensi mikroenkapsulasi kitosan dapat ditingkatkan dengan memodifikasinya menggunakan agen *crosslink agent* (Bhumkar & Pokharkar, 2006). *Crosslink agent* yang bisa ditaut silang dengan kitosan yaitu dekanol EX841, glutaraldehida, epiklorohidrin, tripolifosfat, 1,6-heksametilenadiisosiyanat, turunan etildiamina dan asam sitrat (Sugita dkk., 2009; Prasojo & Siahaan, 2015). *Crosslink agent* polianion yang paling banyak digunakan yaitu sodium tripolifosfat dan asam sitrat, karena bersifat multivalent dan tidak toksik. Proses *crosslinking* secara fisika ini tidak hanya menghindari penggunaan pelarut organik, namun juga mencegah kemungkinan rusaknya bahan aktif yang akan dienkapsulasi dalam nanopartikel kitosan (Fan, dkk., 2012). Penelitian ini bertujuan untuk

mengetahui pengaruh *crosslink agent* pada pembuatan nanokitosan terhadap kadar flavonoid ekstrak etanol buah parijoto.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu oven, blender, rotary evaporator, batang pengaduk, pipet mikro (pirex), tabung reaksi (pirex), erlemeyer (herma), labu ukur (herma) pipet tetes, kertas saring, cawan penguap, pipet volume (pirex), ayakan (ukuran 44 mesh) dan timbangan elektrik (ohaus), seperangkat alat maserasi, spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10), PSA (Horiba SZ-100), dan SEM. Bahan yang digunakan yaitu buah parijoto berasal dari daerah Colo, Kabupaten Kudus, etanol 70%, etanol p.a, akuades, HCl pekat, serbuk Mg, NaOH 10%, kuersetin, AlCl₃ 10%, natrium asetat 1 M, kitosan, natrium tripolifosfat, asam sitrat, asam asetat glasial, FeCl₃ 1%, reagen Dragendorff.

Pembuatan Simplisia

Buah parijoto diambil dari daerah Colo Kabupaten Kudus. Buah parijoto dicuci, dibersihkan dari kotoran dan debu yang menempel, kemudian dikeringkan dengan metode sinar matahari langsung. Pengerinan ini berlangsung hingga diperoleh kadar air $\leq 10\%$ (Manoi, 2006). Buah parijoto kering dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, kemudian diayak dengan ayakan no 44 mesh untuk mendapatkan serbuk halus.

Pembuatan Ekstrak Parijoto

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode remaserasi. Buah parijoto sebanyak 100 gram ditimbang, kemudian direndam dalam 1000 mL etanol 70 % selama 24 jam. Filtrat disaring dengan menggunakan kertas saring. Ampas simplisia ditambahkan kembali pelarut yang sama dan proses tersebut diulangi sampai semua ekstrak tersari. Hasil maserat kemudian diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C kemudian dikentalkan menggunakan waterbath pada suhu 40°C sampai menjadi ekstrak kental (Nurhasnawati, Handayani, & Sukarmi, 2017).

Skrinning Fitokimia

Ekstrak kental sebanyak 1 gram dilarutkan ke dalam 10 mL akuades kemudian larutan diambil masing-masing 1 mL dan dimasukkan ke dalam 4 tabung reaksi yang berbeda. Larutan ekstrak pada tabung reaksi pertama ditambah dengan FeCl₃ 1% (uji tanin), tabung reaksi kedua ditambah dengan HCl pekat dan serbuk Mg (uji flavonoid), tabung reaksi ketiga ditambah dengan reagen Dragendorff (uji alkaloid), tabung reaksi ketiga ditambah dengan akuades kemudian dikocok sampai berbusa dan ditambah HCl (uji saponin).

Pembuatan Nanokitosan

Larutan kitosan 0,2% dibuat dengan cara melarutkan 0,2 gram kitosan ke dalam 100 mL asam asetat glasial 1% selanjutnya dihomogenkan dengan magnetic stirrer selama 30 menit. Larutan kitosan ditetesi secara perlahan dengan masing-masing *crosslink agent* yaitu NaTPP 0,1% dan asam sitrat 0,1% (5:1) serta 50 mikroliter tween 80 0,1% sebagai homogenizer. Pengadukan larutan dilanjutkan kembali selama 2 jam dengan magnetic stirrer.

Penyalutan Ekstrak dengan Nanokitosan

Ekstrak parijoto sebanyak 1 gram dilarutkan ke dalam 35 mL etanol p.a dan 15 mL akuades. Ekstrak terlarut kemudian disalut dengan 25 mL larutan nanokitosan dan diaduk dengan magnetic stirrer selama 2 jam. Ekstrak tersalut disentrifugasi selama 1 jam dengan kecepatan 1000-2000 rpm. Endapan dipisahkan dari supernatan dan disimpan dalam freezer ($\pm -4^{\circ}\text{C}$) selama 2 hari. Penyimpanan dipindahkan ke dalam lemari es ($\pm 3^{\circ}\text{C}$) sampai kering.

Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

Larutan standar kuersetin dibuat dengan cara menimbang 25 mg kemudian dilarutkan dalam 25 mL etanol p.a sehingga didapatkan larutan standar kuersetin 1000 ppm. Larutan induk kuersetin 1000 ppm kemudian diencerkan menjadi 100 ppm.

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku kuersetin konsentrasi 50 ppm di ambil 1 mL ditambah dengan 0,1 mL AlCl_3 10% , 0,1 mL natrium asetat 1 M dan 1,5 mL etanol p.a, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 dengan spektrofotometri UV-Vis.

Penentuan Waktu Stabil (Operating Time)

Larutan baku kuersetin konsentrasi 50 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambah dengan 0,1 mL AlCl_3 10% , 0,1 mL natrium asetat 1 M dan 1,5 mL etanol p.a. Selanjutnya larutan tersebut diukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimum yang telah didapat selama 60 menit dengan interval waktu tiap 1 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Buah Parijoto

Ekstrak etanol buah parijoto yang telah disalut dengan kitosan dan yang tidak disalut ditimbang 10 mg lalu dilarutkan etanol p.a sampai tanda batas pada labu ukur 10 mL. Larutan diambil 1 mL, ditambahkan 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 1,5 mL etanol p.a. Larutan kemudian diinkubasi pada *operating time* yang diperoleh dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimal yang didapatkan. Larutan sampel dibuat 3 kali replikasi sehingga kadar flavonoid yang diperoleh sebagai ekuivalen kuersetin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pembuatan Simplisia

Buah parijoto dikeringkan dengan sinar matahari langsung selama 7 hari. Proses pengeringan menyebabkan perubahan warna buah parijoto yang awalnya merah-ungu menjadi hijau-orange. Buah parijoto kering kemudian dihaluskan dan dihomogenkan ukuran partikelnya menggunakan ayakan 44 Mesh. Hasil pengeringan dan penyerbukan disajikan pada gambar 1 dan tabel 1.



Gambar 1. Buah parijoto sebelum pengeringan (a), setelah pengeringan (b), serbuk buah parijoto (c)

Tabel 1. Hasil Pengeringan dan Penyerbukan Buah Parijoto


Buah Parijoto Segar (gram)	Buah Parijoto Kering (gram)	Serbuk Buah Parijoto (gram)	Susut Pengeringan (%)	Susut Bobot (%)	Kadar Air (%)
2925	511	435	82,5	14,8	8,2

Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat bahwa simplisia buah parijoto memiliki susut pengeringan, susut bobot dan kadar air berturut-turut sebesar 82,5%, 14,8% dan 8,2%.

Hasil Pembuatan Ekstrak Parijoto

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode remaserasi sebanyak 4 kali menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak etanol kemudian dikentalkan menggunakan rotary evaporator. Hasil ekstraksi disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Ekstraksi

Berat Serbuk Parijoto (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen Ekstrak (%)	Warna Ekstrak
100	14,04	14,04	

Coklat-merah

Berdasarkan tabel 2 ekstrak etanol buah parijoto memiliki warna coklat-merah dengan rendemen sebesar 14,04%.

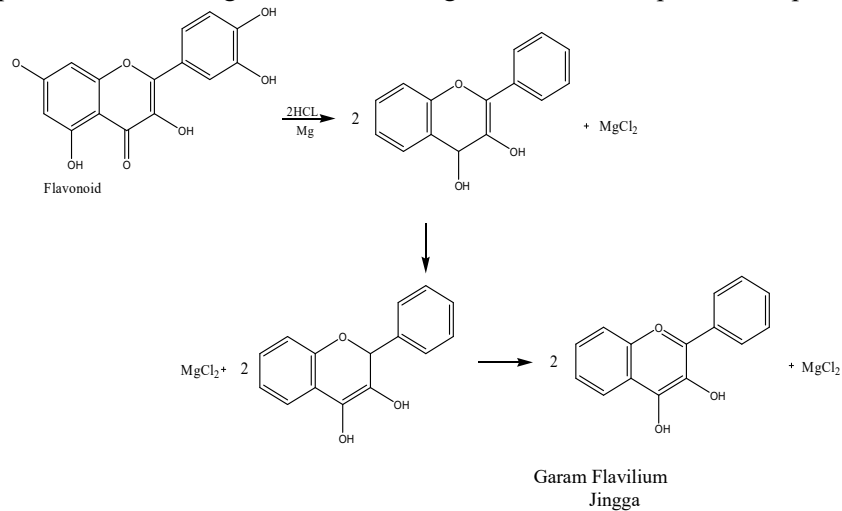
Hasil Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam buah parijoto. Hasil skrining fitokimia disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia

Uji Golongan	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	HCl pekat + serbuk Mg	Endapan jingga	Positif
Alkaloid	FeCl ₃ 1%	Endapan jingga	Positif
Tanin	Reagen Dragendorff	Endapan hijau	Positif
Saponin	Akuades dikocok + HCl	Terbentuk busa	Positif

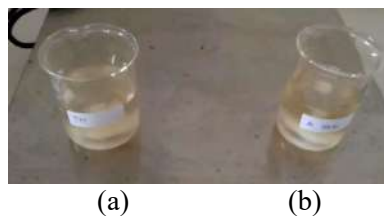
Berdasarkan tabel 3 diketahui bahwa buah parioto mengandung flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Uji positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya endapan jingga setelah ditambah dengan HCl pekat dan serbuk Mg karena terbentuk garam flavilium seperti reaksi pada gambar 2.



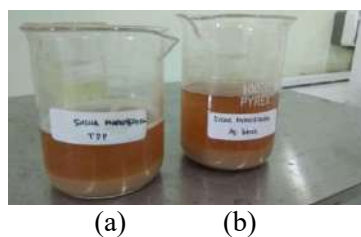
Gambar 2. Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl (Septyangsih, 2010)

Hasil Pembuatan Nanokitosan dan Penyalutan Ekstrak

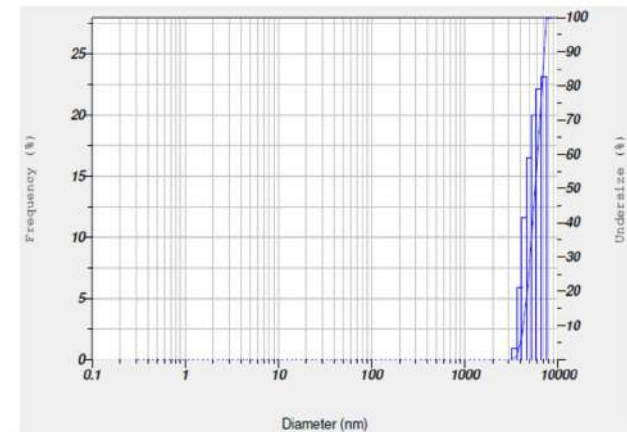
Nanokitosan dibuat dengan melarutkan kitosan ke dalam larutan asam asetat glasial dengan *crosslink agent* Na-TPP dan asam sitrat. Pengecilan ukuran partikel dilakukan menggunakan magnetic stirer. Hasil pembuatan nanokitosan dan penyalutan ekstrak dapat dilihat pada gambar 3 dan 4. Sedangkan hasil karakterisasi ukuran partikel nanokitosan-NaTPP dan nanokitosan-asam sitrat disajikan pada gambar 5 dan 6.



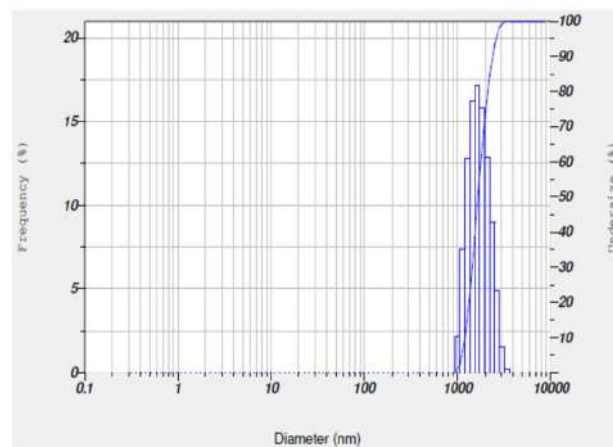
Gambar 3. Nanokitosan-NaTPP (a) dan Nanokitosan-Asam sitrat (b)



Gambar 4. Hasil penyalutan ekstrak dengan Nanokitosan-NaTPP (a) dan Nanokitosan-Asam sitrat (b)



Gambar 5. Hasil PSA Nanokitosan-NaTPP

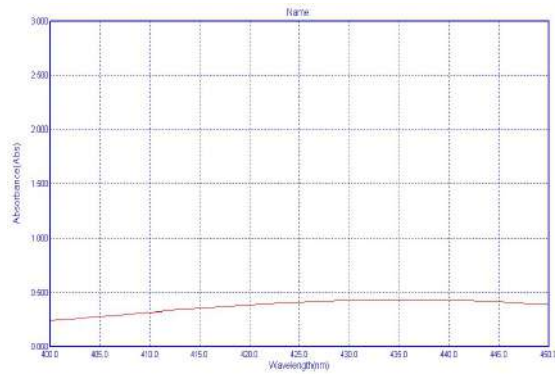


Gambar 6. Hasil PSA Nanokitosan-Asam sitrat

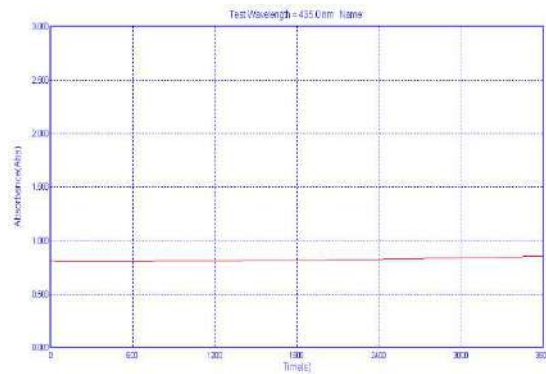
Berdasarkan gambar 5 dan 6 menunjukkan bahwa ukuran partikel nanokitosan-NaTPP sebesar 5860,7 nm, sedangkan nanopartikel-asam sitrat memiliki ukuran partikel 2291,1 nm. Penambahan *crosslink agent* yang berbeda dapat mempengaruhi ukuran partikel dari nanokitosan yang dihasilkan. Penambahan asam sitrat sebagai *crosslink agent* mampu menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan NaTPP.

Hasil Penetapan Kadar Flavonoid

Baku kuersetin memiliki panjang gelombang maksimal sebesar 435 nm, sedangkan *operating time* diperoleh pada menit ke-7. Hasil penentuan panjang gelombang dan *operating time* disajikan pada gambar 7 dan 8.

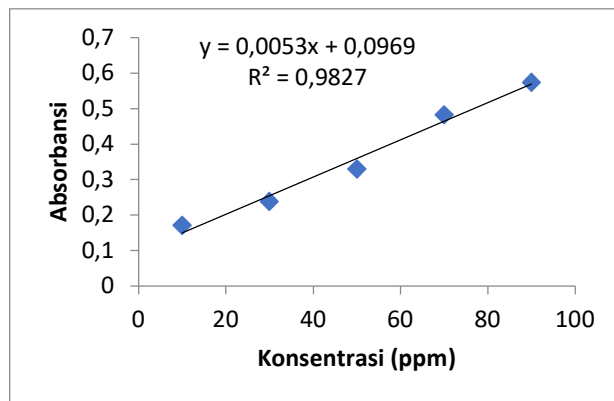


Gambar 7. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



Gambar 8. Hasil Penentuan *Operating Time*

Pembuatan kurva baku menggunakan larutan baku kuersetin konsentrasi 10, 30, 50, 70 dan 90 ppm. Kurva baku kuersetin disajikan pada gambar 9.

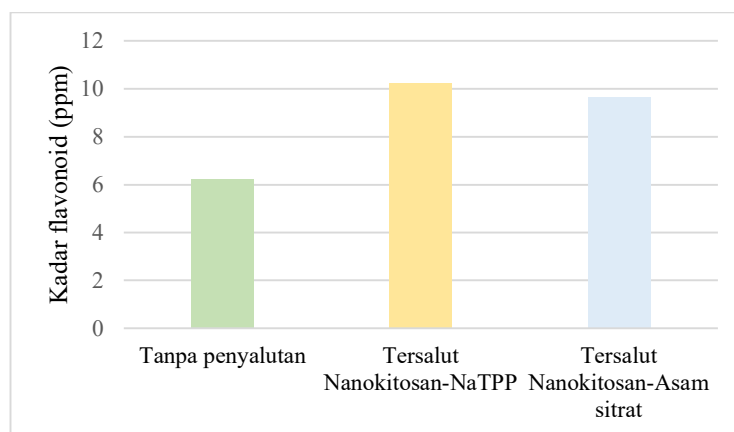


Gambar 9. Kurva Baku Kuersetin

Kadar flavonoid ekstrak etanol tanpa penyalutan dan dengan penyalutan nanokitosan disajikan pada tabel 4 dan gambar 10.

Tabel 4. Kadar Flavonoid Hasil Penyalutan dengan Nanokitosan

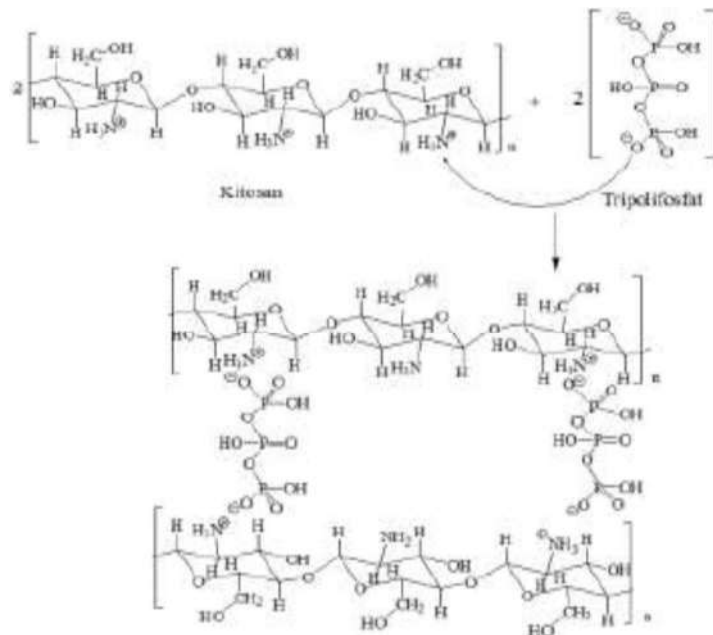
Sampel	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Kadar Flavonoid (ppm)
Ekstrak Etanol Buah Parijoto	0,134 0,128 0,129	0,130	6,245
Ekstrak Etanol Buah Parijoto tersalut Nanokitosan-NaTPP	0,137 0,141 0,176	0,151	10,208
Ekstrak Etanol Buah Parijoto tersalut Nanokitosan-Asam sitrat	0,133 0,165 0,147	0,148	9,642

**Gambar 10. Kadar Flavonoid Tanpa dan Tersalut Nanokitosan**

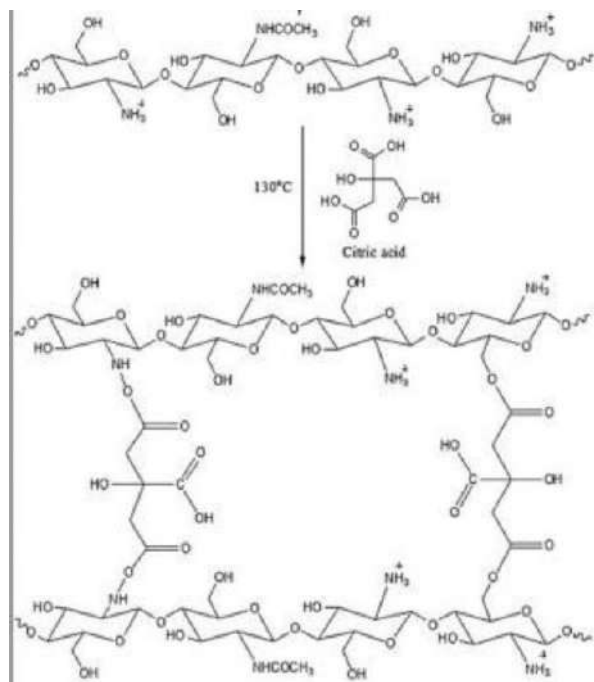
Berdasarkan tabel 4 dan gambar 10, kadar flavonoid pada ekstrak etanol buah parijoto yang tersalut nanokitosan lebih tinggi dibandingkan dengan kadar flavonoid pada ekstrak etanol buah parijoto yang tidak tersalut nanokitosan. Hal tersebut terjadi karena nanokitosan berperan sebagai elisitor terhadap pelepasan enzim fenilalanin ammonia liase sehingga menjadi faktor terjadinya peningkatan flavonoid pada ekstrak buah parijoto. Enzim ini mengkatalisis reaksi deaminasi fenilalanin menjadi asam sinamat. Pembentukan asam sinamat dapat menyebabkan peningkatan kadar flavonoid pada ekstrak buah parijoto (Luntungan dkk., 2017).

Pengaruh penambahan jenis *crosslink agent* juga menyebabkan perbedaan kadar flavonoid dalam ekstrak buah parijoto. Kadar flavonoid pada ekstrak etanol yang tersalut nanokitosan-NaTPP lebih tinggi daripada kadar flavonoid yang tersalut nanokitosan-Asam sitrat. Hal ini terjadi karena ikatan nanokitosan-NaTPP lebih stabil dibandingkan ikatan nanokitosan-asam sitrat. Ikatan nanokitosan-NaTPP lebih stabil karena NaTPP memiliki lebih banyak muatan negatif sehingga dapat berinteraksi lebih kuat dibandingkan polianion

lain seperti asam sitrat (Zeng dkk., 2010). Proses *crosslink* NaTPP dan asam sitrat dengan nanokitosan disajikan pada gambar 11 dan 12.



Gambar 11. Reaksi *Crosslinking* Nanokitosan-NaTPP (Hsieh *et al.*, 2008)



Gambar 12. Reaksi *Crosslinking* Nanokitosan-Asam Sitrat (Priyadarshi dkk., 2018)

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Nanokitosan-NaTPP memiliki ukuran partikel yang lebih besar jika dibandingkan dengan nanokitosan-asam sitrat. Namun pada saat proses penyalutan ternyata ikatan nanokitosan-NaTPP lebih stabil jika dibandingkan dengan nanokitosan-asam sitrat, sehingga kadar flavonoid pada ekstrak buah parijoto tersalut nanokitosan-NaTPP lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak buah parijoto tersalut nanokitosan-asam sitrat.

Saran

Ukuran partikel nanokitosan perlu diperkecil lagi dengan melakukan optimasi lama pengadukan, kombinasi pengadukan dengan magnetic stirrer dan sonikator, komposisi kitosan dengan *crosslink agent*, komposisi ekstrak dengan nanokitosan sehingga kadar flavonoid pada ekstrak lebih tinggi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ketua LPPM STIKES Cendekia Utama Kudus, Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Farmasi STIKES Cendekia Utama Kudus, Laboratorium Fisika dan Kimia FMIPA UNNES yang telah membantu pelaksanaan penelitian dengan baik. Terima kasih juga kami ucapkan kepada Kemenristek BRIN dan LLDIKTI Wilayah VI yang telah memberikan Dana Hibah Penelitian Dosen Pemula, dan semua pihak yang telah memberikan dukungan terhadap kelancaran proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Anlysn, E. & D. Dennis. (2006). *Modern physical organic chemistry*. California: university science books sausalito.
- Bansode. S.S., Banarjee, S.K., Gaikwad, S.L., Jadhav, R. & Thorat R.M. (2010). Microencapsulation: A review. *International J. Pharmaceutical Sciences Review and Research* 1: 38-43.
- Basri. (2009). *Formulasi tablet salut film ekstrak etanolik batang brotowali (Tinospora crispa (L) Miers) dengan bahan penyalut hidroksipropil metil selulosa dan polietilen glikol 400*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- 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. <http://dx.doi.org/10.1208/pt070250>.
- Fan, W., Yan, W., Xu, Z., & Ni, H. (2012). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 90: 21-27.
- Geraldine, E.T. & Hastuti, E.D. (2018). Formulasi krim tabir surya ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dan uji nilai SPF secara in vitro. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. vol. 15 (2), p. 92-98.

- Hsieh, F.M., Huang, C., Lin, T. F., Chen, Y. M., dan Lin, J. C., 2008, Study Of Sodium Tripolyphosphate-Crosslinked Chitosan Beads Entrapped With *Pseudomonas Putida* For Phenol Degradation. *Proc. Biochemi*, 43(1), 83-92.
- Jayanudin, J.; Rochmadi, R.; M. Kemal, R.; & Pangihutan, P. (2017). Pengaruh bahan penyalut terhadap efisiensi enkapsulasi oleoresin jahe merah, *ALCHEMY J. Penelitian Kimia*, vol.13, p.275-287.
- Luntungan, A.H., Mandey, L.C. Rumengan, I.F.M. & Suptijah, P. (2017). Pengaruh penyalutan Nanokitosan pada kandungan fenolik ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Jurnal Ilmuan Teknologi Pangan*. vol. 5(2), p.20-25.
- Lusiana, R.A., Siswanta, D., Mudasir, & Hayashita, T. (2013). The Influence of Pva.Cl.Citric Acid/Chitosan Membrane Hydrophobicity on The Transport of Creatinine and Urea, *Indonesian Journal of Chemistry*, 13, 3, 262-270.
- Mauliyani, A., Zaharah, T.A. & Ardiningsih, P. (2018). Aktivitas antibakteri dan antioksidan fraksi etil asetat kulit batang nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) yang tersalut kitosan-tripolifosfat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. p.97-103.
- Manoi, F. (2006). Pengaruh cara pengeringan terhadap mutu simplisia sambiloto. (1), 5. *Ebook Bul. Littro*. Vol. XVII No. 1, 2006, 1 – 5.
- Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish J. Environ. Stud*. vol.15, p.523-530.
- Ningsih, N., Yasni, S. & Yuliani, S. (2017). Sintesis nanopartikel ekstrak kulit manggis merah dan kajian sifat fungsional produk enkapsulasinya. *J. Teknol. dan Industri Pangan*. vol. 28 (1), p.27-35.
- Nurhasnawati, H., Handayani, F., & Sukarmi. (2017). Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu bol (*Syzygium malaccense* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, vol. 3(1), p.91-95.
- Pertiwi, R.B., Hidayah, I. N., Andrianty, D. & Hasbullah, U.H.A. (2019). Aktivitas antioksidan ekstrak buah parioto pada berbagai suhu pengolahan pangan. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*. vol. 3(1), p.22-30.
- Prasojo, B. A. & Siahaan, P. (2015). Pengaruh berat molekul kitosan terhadap efisiensi enkapsulasi bsa (bovine serum albumin) menggunakan agen crosslink asam sitrat. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, vol.18 (2), p.62 – 66.
- Priyadarshi, R., Sauraj, Kumar, B., & Negi, Y.S. (2018). Chitosan Film Incorporated with Citric Acid and Glycerol as an Active Packaging Material for Extension of Green Chilli Shelf Life. *Carbohydrate Polymers*. Vol. 195, p. 329-338.
- Pujiastuti, E. & Saputri, R.S. (2019). Pengaruh metode pengeringan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah parioto (*Medinilla speciosa* Blume). *Cendekia Journal of Pharmacy*. vol. 3(1), p. 44-64.
- Setiyadi, A.D.P. (2017). Evaluasi sifat fisik dan kandungan fenol mikrokapsul ekstrak daun jahe merah dengan pati singkong dan CMC sebagai bahan penyalut. Skripsi. Program Studi S-1 Teknologi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian. Semarang: Universitas Diponegoro.

- Sugita, P., Wukirsari, T., Sjahriza, A. & Wahyono, D. (2009). Sumber biomaterial masa depan. Bogor: ITB Press.
- Tiyaboonchai, W. 2003. Chitosan nanoparticles : A promising system for drug delivery . Naresuan University Journal. vol.11 (3), p.51-56.
- Wachidah, L.N. (2013). Uji aktivitas antioksidan serta penentuan kandungan fenolat dan flavonoid total dari buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Prodi Farmasi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Zeng R, Tu M, Liu H, Zhao J, Zha Z & Zhou C. 2009. Preparation, structure, drug release and bioinspired mineralization of chitosan-based nanocomplexes for bone tissue engineering. *Carbohydr Polym* 78: 107–111.