



Received 11 October 2022  
Accepted 29 February 2022  
Published 30 December 2022

Open Access

DOI: 10.35472/jsat.v6i2.1100

## FORMULASI NANOEKAPSULASI EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) /KITOSAN-NATRIUM TRIPOLIPOSFAT (NaTPP)

Vivi Purwandari <sup>a,b</sup>, Isnaeni <sup>b</sup>, Rizka Rahmi <sup>a</sup>, A.Z. Akbari <sup>c</sup>, M.Z. Akbari <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Departemen Kimia, Fakultas Sain, Teknologi dan Informasi, Universitas Sari Mutiara Indonesia, Medan, Indonesia

<sup>b</sup> Pusat Riset Fotonik, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Indonesia, Banten, Indonesia

<sup>c</sup> Politeknik Kimia Industri Medan, Indonesia

\* Corresponding E-mail: [vivipurwandari@sari-mutiara.ac.id](mailto:vivipurwandari@sari-mutiara.ac.id); [vi2.kancil@gmail.com](mailto:vi2.kancil@gmail.com)

**Abstract:** Moringa (*Moringa oleifera*) contains several antioxidant compounds such as *quercetin* and chlorogenic acid. However, antioxidants have weaknesses, namely that they are easily damaged by exposure to oxygen, light, high temperatures, and drying. One way to maintain and increase the stability of antioxidants is by encapsulation. The purpose of this study was to determine the optimum formulation of *quercetin* nanoencapsulation of moringa leaf extract using chitosan and sodium tripolyphosphate (Na-TPP) using the ultrasonication method. Moringa leaf extract was obtained by repeated ultrasonication 1x 15, 3x15, and 5x15 minutes, frequency 24 kHz, and using alcohol 96%. The encapsulation process was carried out with three variable ratios of the amount of chitosan: Na-TPP added to 10 mL of Moringa leaf extract solution (F0), namely 5:1 (F1), 2:1 (F2), and 1:1 (F3). Test results for flavonoids as *quercetin* using a UV-Vis spectrophotometer showed that the *Quercetin* content in Moringa leaf extract ultrasonicated 5x15 minutes was 12.146%, the characterization of the Particle Size Analyzer (PSA) showed encapsulated particle sizes of 170.3 and 209.7 nm with polydisperse index <0.5, the antioxidant activity test using the DPPH method showed that F0 was 61.4% and F2 had the highest antioxidant activity, namely 81.2%. Analysis of the morphology of nanoparticles using Scanning Electron Microscopy (SEM) showed that the particles were spherically distributed evenly. Nanoencapsulation of Moringa leaf extract has resulted and an increase in the antioxidant activity of Moringa leaf extract after encapsulation using Chitosan-NaTPP, from 61.4% to 81.2% (F2).

**Keywords:** Moringa leaf, ultrasonication, nanoencapsulation, antioxidant

**Abstrak:** Kelor (*Moringa oleifera*) mengandung beberapa senyawa antioksidan seperti *quercetin* dan asam klorogenik. Namun antioksidan memiliki kelemahan yaitu sifatnya yang mudah rusak akibat paparan oksigen, cahaya, suhu tinggi serta pengeringan. Salah satu cara untuk menjaga dan meningkatkan stabilitas antioksidan adalah dengan enkapsulasi. Tujuan penelitian ini adalah menentukan formulasi optimum nanoenkapsulasi *quercetin* ekstrak daun kelor menggunakan Kitosan dan Natrium Tripoliposfat (Na-TPP) dengan metode ultrasonikasi. Ekstrak daun kelor diperoleh dengan cara ultrasonikasi berulang 1x 15, 3x15, dan 5x15 menit, frekwensi 24 kHz, dan menggunakan pelarut alkohol 96%. Proses enkapsulasi dilakukan dengan tiga variable perbandingan jumlah kitosan : Na-TPP yang ditambahkan pada 10 mL larutan ekstrak daun kelor (F0) yaitu 5:1 (F1), 2:1 (F2) dan 1:1 (F3). Hasil uji flavonoid sebagai quersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa kadar Quersetin pada ekstrak daun kelor hasil ultrasonikasi 5x15 menit sebesar 12,146%, karakterisasi *Particle Size Analyser* (PSA) menunjukkan ukuran partikel enkapsulasi 170,3 dan 209,7 nm dengan indeks polidispersi < 0,5, uji aktifitas antioksidan dengan metode DPPH memperlihatkan bahwa F0 61,4% dan F2 memiliki aktifitas antioksidan tertinggi yaitu 81,2%. Analisa morfologi nanopartikel menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) terlihat partikel berbentuk sferis yang terdistribusi secara merata. Telah dihasilkan nanoenkapsulasi ekstrak daun kelor dan terjadi peningkatan aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor setelah dilakukan enkapsulasi menggunakan Kitosan-NaTPP yaitu dari 61,4% menjadi 81,2% (F2).

**Kata Kunci :** Daun Kelor, ultrasonikasi, nanoenkapsulasi, antioksidan



## Original Article

e-ISSN: 2581-0545 - <https://journal.itera.ac.id/index.php/jsat/>



### Pendahuluan

Masyarakat pada umumnya sedikit memahami manfaat daun kelor untuk kesehatan. Daun kelor dalam pembuatan teh sangat bermanfaat untuk kesehatan karena mengandung kandungan flavonoid sebagai antioksidan dan anti inflamasi [1]. Daun kelor mengandung dua jenis zat bioaktif yaitu *quercetin* dan kaempferol [2]. Studi yang dilakukan oleh Charoensin (2014) membuktikan bahwa ekstrak daun *M. oleifera* memiliki aktivitas antioksidan, serta sifat sitotoksik dan kemopreventif. Oleh karena itu, mungkin bermanfaat sebagai tanaman obat untuk obat anti kanker alternatif baru dan produk *nutraceutical* [3].

Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama tiga hari pada temperatur kamar, terlindung dari cahaya [4] [5]. Penambahan tahapan ultrasonikasi (ekstraksi ultrasonik) merupakan salah satu teknik yang dapat membantu masuknya pelarut dalam sel tanaman, sehingga didapatkan metabolit sekunder yang lebih banyak [6]. Teknik ini mengandalkan energi gelombang yang menyebabkan proses kavitasi, yaitu suatu proses pembentukan gelembung-gelembung kecil akibat adanya transmisi gelombang ultrasonik [7]. Ketika mengenai suatu larutan, energi ultrasonik menyebabkan timbulnya rongga akustik, dengan struktur bergelembung yang kemudian pecah [8]. Proses kavitasi tersebut membantu osmosis pelarut ke dalam dinding sel tanaman [9]. Getaran ultrasonik (>20.000 Hz) memberikan efek pada proses ekstrak dengan prinsip meningkatkan permeabilitas dinding sel, menimbulkan gelembung spontan sebagai stres dinamis serta menimbulkan fraksi interfase [10][11]. Hasil ekstraksi tergantung pada frekuensi getaran, kapasitas alat dan lama proses ultrasonikasi.

Antioksidan sangat mudah mengalami reaksi oksidasi [12] yang diakibatkan oleh adanya pengaruh lingkungan seperti suhu, logam berat, cahaya dan reaktif dalam sehingga menyebabkan penurunan manfaat antioksidan [13][14]. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk melindungi keaktifan bahan dalam ekstrak daun kelor adalah melalui teknologi nanoenkapsulasi, yang merupakan teknik menyalut bahan inti dengan tujuan melindungi bahan inti

dari pengaruh eksternal pada ukuran nano [15]. Aplikasi nanoteknologi untuk pangan menunjukkan kecenderungan yang terus meningkat. Teknologi ini menawarkan keunggulan dalam meningkatkan bioavailabilitas bahan aktif, pengendalian pelepasan bahan aktif serta memperbaiki sifat sensoris [16]. Nanopartikel merupakan partikel koloid padat dengan diameter 1-1000 nm [17]. Mengandung material makromolekuler dan dapat digunakan untuk pengobatan sebagai pembawa obat yang senyawa aktifnya telah terlarut, terjerat, dan terenkapsulasi [18].

Kitosan adalah polisakarida yang banyak terdapat di alam setelah selulosa [19]. Kitosan merupakan suatu senyawa poli (N-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranos) atau glukosamin hasil deasetilasi kitin/ poli (N-asetil-2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranos) [20]. Kitosan mempunyai sifat spesifik yaitu adanya sifat bioaktif, biokompatibel, pengkelat, antibakteri dan dapat terbiodegrasi. Kitosan yang diikat silang secara ionik menunjukkan derajat swelling yang rendah [21]. Kitosan terikat silang ini juga mudah diatur sesuai dengan fungsi yang diinginkan, seperti hidrofilisitas [22], kerapatan [23] dan kristalinitas [24]. Metode gelasi ionik dengan sonikasi juga digunakan untuk sintesis nanopartikel kitosan-TPP dan menghasilkan nanopartikel [25].

Berdasarkan uraian di atas dan penelitian terdahulu, penelitian ini bertujuan menentukan formulasi enkapsulasi yang terbaik pada ekstrak daun kelor menggunakan kitosan sebagai enkapsulat dan NaTPP sebagai agen pengikat silang. Metode ultrasonikasi digunakan pada ekstraksi dan enkapsulasi pada daun kelor

### Metode

#### Material

Daun kelor (USM-Indonesia, Medan), alkohol 96% (Sigma Aldrich), Asam Klorida 37% (Sigma Aldrich), Kuersetin (Sigma Aldrich), Kitosan (Sigma Aldrich), Natrium Tripolifosfat, Na-TPP (Sigma Aldrich), Asam acetat glasial (Sigma Aldrich), Air bebas ion (Bratachem-Medan), 2,2- diphenyl-1-picryl hidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich)

*Ultrasonic Bath*, *Rotary Evaporator* (Heidolph Tipe Heizbad Hal-VAP®), oven listrik (Modena®), *magnetic stirrer*,



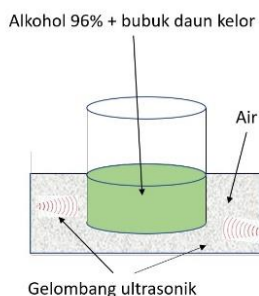
sentrifugator (PLC Series®), *Particle Size Analyzer* (Beckman Coulter®), *Scanning Electron Microscopy* (Hitachi TM 3000) dan spektrofotometri UV-Vis (Reyleigh®)

## Prosedur

### Ekstraksi Ultrasonikasi Serbuk Daun Kelor

Daun kelor dicuci dengan air mengalir dan dijemur hingga kering, kemudian daun diblender hingga berbentuk serbuk dan diayak dengan ayakan 100 mesh agar diperoleh serbuk dengan ukuran kecil dan seragam.

Bubuk daun kelor ditimbang sebanyak 50 gram dengan pelarut 500 mL alkohol 96%. Perbandingan antara bahan dan pelarut adalah 1:10. Ekstraksi ultrasonikasi dilakukan dengan lama ekstraksi selama 15 menit pada suhu kamar [26], ilustrasi ekstraksi ultrasonikasi ditunjukkan pada Gambar 1. Ekstrak yang diperoleh disaring sehingga diperoleh filtratnya dan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh diukur kandungan quersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hal yang sama dilakukan dengan variasi lama waktu ekstraksi 3x15 menit, dan 5x15 menit.



**Gambar 1.** Proses Ekstraksi Daun Kelor dengan Cara Ultrasonikasi

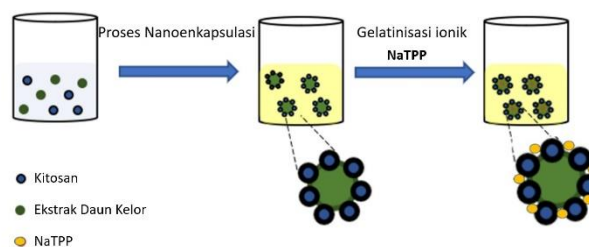
### Nanoenkapsulasi Ekstrak Daun Kelor dengan Kitosan-NaTPP

Kitosan sebanyak 200 mg dilarutkan dalam 100 mL asam asetat 2%. NaTPP sebanyak 100 mg dilarutkan dalam 100 mL akuades. Ekstrak kental daun kelor ditimbang 100 mg, dilarutkan dalam campuran 35 mL etanol absolut dan 15 mL akuabides, didiamkan selama 30 menit. Pisahkan larutan

dengan endapan. Diambil 10 mL larutan kemudian ditambahkan larutan NaTPP dan Kitosan dengan perbandingan 1:5 (10 mL NaTPP + 50 mL Kitosan) aduk dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 400 rpm selama 10 menit, dilanjutkan dengan perlakuan sonikasi selama 30 menit hingga terbentuk suspensi nanopartikel. Supernatan yang terbentuk dipisahkan. Formulasi F2 dan F3 ditunjukkan pada Tabel 1. Karakteristik supernatant dilakukan dengan uji PSA, uji DPPH, dan SEM. Ilustrasi proses nanoenkapsulasi ditunjukkan pada Gambar 2.

**Tabel 1.** Formula Nanoenkapsulasi Ekstrak Daun Kelor

Bahan	F1	F2	F3
Ekstrak Daun Kelor (mg)	100	100	100
Kitosan 0,2% dalam asam asetat 2% (mL)	50	40	30
NaTPP 0,1% dalam akuades (mL)	10	20	30



**Gambar 2.** Proses Nanoenkapsulasi

## Hasil dan Pembahasan

Pembuatan ekstrak daun kelor dilakukan dengan ekstraksi menggunakan metode ultrasonikasi. Ekstraksi merupakan teknik pemisahan kimia yang digunakan untuk memisahkan dan menarik satu atau lebih komponen/senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Penggunaan metode ultrasonikasi dilakukan karena lebih aman, singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen

kasar. Ekstraksi dengan ultrasonikasi menyebabkan dinding sel tumbuhan pecah akibat getaran ultrasonik sehingga memudahkan senyawa yang terkandung didalamnya dengan mudah ditarik oleh pelarut [27].

Uji skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak daun kelor untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun kelor. Hasil dari uji skrining fitokimia disajikan pada Tabel 2

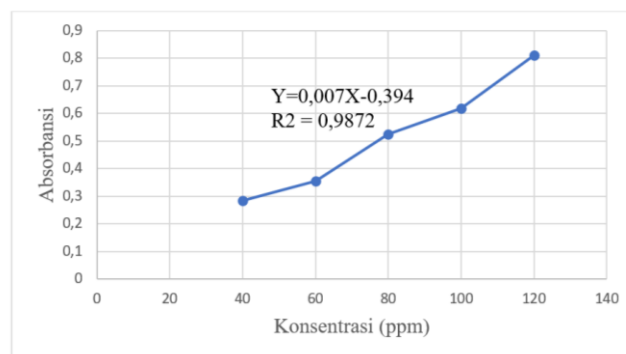
**Tabel 2.** Hasil Uji Skrining Fitokimia dari Ekstrak Daun Kelor

No	Uji Golongan	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Saponin	+
3	Steroid/Terpenoid	+
4	Tanin	-
5	Flavonoid	+

Uji kadar flavonoid sebagai *quercetin* dilakukan dengan penambahan  $AlCl_3$  pada ekstrak daun kelor, menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks berwarna, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang kearah *visible* (tampak) yang ditandai dengan terbentuknya warna jingga. Penambahan asam asetat bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah *visible* [28]. Proses inkubasi sebelum pengukuran absorbansi selama 20 menit bertujuan agar reaksi antara *quercetin* yang ada pada daun kelor dengan  $AlCl_3$  dan  $CH_3COOH$  berjalan sempurna dan memberikan intensitas warna yang jelas. Variasi konsentrasi larutan standar *quercetin* yang digunakan adalah 40-120 ppm yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 431 nm dengan waktu inkubasi selama 20 menit. Kurva kalibrasi larutan standar *quercetin* adalah hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi *quercetin* dan diperoleh persamaan regresi linier yang digunakan dalam penentuan kadar flavonoid sebagai *quercetin* ekstrak daun kelor. Data absorbansi dan kurva larutan standar *quercetin* masing-masing dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3.

**Tabel 3.** Data Absorbansi Larutan Standar Quercetin Pada Panjang Gelombang 431 nm

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	40	0,283
2	80	0,354
3	60	0,525



**Gambar 3.** Kurva Larutan Standar Quercetin

Hasil yang diperoleh dari pengukuran absorbansi larutan standar *quercetin* menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan absorbansi. Hal ini sesuai dengan hukum Lambert-Beer yaitu semakin tinggi nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung di dalam suatu sampel [29]. Nilai koefisien relasi yang mendekati satu menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier sehingga persamaan tersebut dapat digunakan untuk menentukan kadar.

**Tabel 4.** Hasil Analisis Kadar *Quercetin* pada Panjang Gelombang 431 nm

No	Sampel	Absorbansi	Kadar(%)
1	1x15 menit	1,154	11,36
2	3x15 menit	1,133	11,165
3	5x15 menit	1,236	12,146

Penentuan kadar flavonoid sebagai *quercetin* (Tabel 4) dilakukan dengan instrumen spektrofotometer UV-Visible dengan 3 variasi waktu ultrasonikasi yaitu 1x15, 3x15, dan 5x15 menit menghasilkan kadar berturut-turut sebanyak 11,36; 11,165; dan 12,146%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak dengan variasi waktu ultrasonikasi 5x15 menit menghasilkan kadar yang paling tinggi yaitu 12,146%. Kadar flavonoid sebagai *quercetin* semakin meningkat seiring dengan bertambahnya waktu ultrasonikasi [30]. Teknik sonikasi (getaran *ultrasonic* >20 kHz menyebabkan proses kavitasi, yaitu gelembung-gelembung kecil yang terbentuk akibat gelombang ultrasonik dan membantu proses osmosis pelarut ke dalam dinding sel tanaman [9,10,11]. Hasil ekstraksi bergantung pada frekuensi getaran, kapasitas alat dan waktu proses

ultrasonikasi. Untuk proses enkapsulasi digunakan Ekstrak daun kelor hasil ultrasonikasi 5x15 menit.

### Karakterisasi Nanopartikel Enkapsulasi

**Tabel 5.** Ukuran Partikel Enkapsulasi

No	Sampel	Ukuran Partikel (nm)	Indeks Polidispersi (IP)
1	F0	563,9	0,563
2	F1	170,3	0,362
3	F2	219,7	0,233
4	F3	534,9	0,315

Hasil ukuran partikel pada Tabel 5 menunjukkan bahwa ukuran partikel pada F1, F2, dan F3 terus meningkat seiring bertambahnya jumlah NaTPP yang ditambahkan. NaTPP berfungsi sebagai agen pengikat silang, semakin banyak NaTPP yang ditambahkan, semakin banyak juga kitosan yang terikat silang. Ukuran partikel yang baik dalam sistem penghantaran obat untuk sediaan oral adalah kurang dari 300 nm [31]. Distribusi ukuran partikel dinyatakan dalam indeks polidispersitas (IP). IP kurang dari 0,5 bersifat monodispersi, sedangkan IP dengan nilai lebih dari 0,5 bersifat polidispersi [32]. Nilai IP yang dihasilkan dari keempat formula berada pada rentang 0,1-0,3. menunjukkan bahwa distribusi ukuran partikel yang dihasilkan bersifat monodispers, artinya formulasi ini memiliki distribusi partikel yang seragam. Formulasi F1 dan F2 merupakan formulasi yang baik dalam sistem penghantaran obat.

### Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 0,1 gr F0, F1, F2 dan F3 dilarutkan dalam 10 mL aquades dan dipipet sebanyak 0,6 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Ke dalam masing-masing labu ukur ditambahkan 1 mL larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 0,5 mM, lalu dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda, dihomogenkan dengan vortex, dan didiamkan selama 30 menit. Serapan larutan diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 516 nm (Molyneux, 2). Hasil dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Aktivitas Antioksidan dengan Uji DPPH Nanoenkapsulasi Ekstrak Daun Kelor

No	Sampel	Absorbansi Sampel	Aktivitas Antioksidan (%)
1	F0	0,193	61,4
2	F1	0,110	78
3	F2	0,094	81,2
4	F3	0,095	81

Note: Absorbansi Kontrol: 0,500

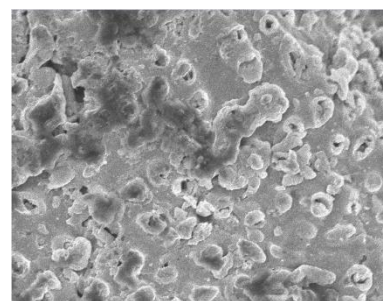
Persamaan:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{(\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel})}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\% \quad (1)$$

Pada Tabel 6 dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan bertambah dengan adanya kitosan-NaTPP [33]. Aktivitas antioksidan terbaik ada pada F2 dimana komposisi kitosan:NaTPP adalah 2:1. Terjadi peningkatan yang signifikan dengan adanya enkapsulasi ekstrak daun kelor menggunakan kitosan-NaTPP, hal ini disebabkan karena kitosan-NaTPP itu sendiri juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan [34].

### Morfologi Nanopartikel

Pengamatan morfologi sediaan nanopartikel yang terbentuk dilakukan dengan menggunakan (*Scanning Electron Microscopy*) (SEM) Jeol dengan pembesaran 6500 x.



**Gambar 4.** Morfologi Nanoenkapsulasi Ekstrak Daun Kelor (F2) dengan Pembesaran 6500x

Morfologi Nanoenkapsulasi ekstrak daun kelor dengan Kitosan-NaTPP menunjukkan banyaknya partikel yang berukuran hampir sama dan bulat. Hal ini membuktikan bahwa nanoenkapsulasi ekstrak daun kelor ini stabil dan tidak mudah teraglomerasi [35].

## Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa:

1. Kadar *quercetin* 12,146% diperoleh dari ekstrak daun kelor dengan cara ultrasonikasi berulang 5x15 menit.
2. Formulasi F2 nanoenkapsulasi ekstrak daun kelor/Kitosan-NaTPP memiliki karakteristik terbaik dengan ukuran partikel 219 nm, IP 0,233, bentuk morfologi bulat dan aktivitas antioksidan 81,2%.

## Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik untuk dideklarasikan.

## Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Pusat Penelitian Fotonik, Badan Riset dan Inovasi Nasional Indonesia yang telah memberikan fasilitas selama penelitian.

## Daftar Pustaka

- [1] A. M. Nurul, M., & Harun, "Systematic review of *Moringa oleifera*'s potential as antibacterial and anti-inflammatory in the oral cavity," *Eur. J. Mol. Clin. Med.*, vol. 7, no. 10, pp. 144-161., 2020.
- [2] K. H. Rahayu, I., & Timotius, "The effects of predrying treatments and different drying methods on Phytochemical Analysis, Antimutagenic and Antiviral Activity of *Moringa oleifera* L. Leaf Infusion: In Vitro and In Silico Studies," *Molecules*, vol. 27, no. 13, p. 4017, 2022.
- [3] C. Suphachai, "Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves," *J. Med. Plants Res.*, vol. 8, no. 7, pp. 318-325, 2014.
- [4] Suhartati T., "Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid Dari Kulit Akar Tumbuhan Sukun *Artocarpus Altilis* (Parkinson) Fosberg," *J. Sci. Appl. Technol. Teknol. Sumatera*, pp. 54-61, 2018.
- [5] P. Hidayat, R., & Wulandari, "Methods of extraction: Maceration, percolation and decoction," *Eureka Herba Indones.*, vol. 2, no. 1, pp. 68-74, 2021.
- [6] H. Hasriandi, "Optimasi Proses Ekstraksi Metabolit Sekunder dari Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana*) secara Ultrasonic Assisted Extraction," Universitas Hasanuddin, 2022.
- [7] T. S. Yunira EN, Suryani A, Dadang D, "Identifikasi Karakteristik Pengecilan Ukuran dengan Metode Sonikasi dari Formula Insektisida yang Ditambahkan Surfaktan Berbasis Sawit," *J. Sci. Appl. Technol. Teknol. Sumatera*, vol. 5, no. 1, pp. 85-91., 2021.
- [8] F. Vernes, L., Abert-Vian, M., El Maâtaoui, M., Tao, Y., Bornard, I., & Chemat, "Application of ultrasound for green extraction of proteins from spirulina. Mechanism, optimization, modeling, and industrial prospects," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 54, pp. 48-60., 2019.
- [9] S. Umaña, M., Calahorro, M., Eim, V., Rosselló, C., & Simal, "Measurement of microstructural changes promoted by ultrasound application on plant materials with different porosity," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 88, no. 106087, 2022.
- [10] C. Bernardi, S., Lupatini-Menegotto, A. L., Kalschne, D. L., Moraes Flores, É. L., Bittencourt, P. R. S., Colla, E., & Canan, "Ultrasound: A suitable technology to improve the extraction and techno-functional properties of vegetable food proteins," *Plant Foods Hum. Nutr.*, vol. 76, no. 1, pp. 1-11, 2021.
- [11] A. Rathore, R. S., & Divedi, "Sonication of tool electrode for utilizing high discharge energy during ECDM," *Mater. Manuf. Process.*, vol. 35, no. 4, pp. 415-429., 2021.
- [12] W. DA Anggraini Y, "Deteksi Golongan Senyawa Ekstrak Kasar Metabolit Ekstrasel Mikroalga Laut *Spirulina* sp. Sebagai Agen Antioksidan," *J. Sci. Appl. Technol.*, vol. 5(1):202-7, no. 1, pp. 202-207, 2021.
- [13] Z. Enaru, B., Drețcanu, G., Pop, T. D., Stănilă, A., & Diaconeasa, "Anthocyanins: Factors affecting their stability and degradation," *Antioxidants*, vol. 10, no. 12, p. 1967, 2021.
- [14] F. Gutiérrez-del-Río, I., López-Ibáñez, S., Magadán-Corpas, P., Fernández-Calleja, L., Pérez-Valero, Á., Tuñón-Granda, M., ... & Lombó, "Terpenoids and polyphenols as natural antioxidant agents in food preservation," *Antioxidants*, vol. 10, no. 8, p. 1264., 2021.
- [15] J. BRATOVCIC, A., & SULJAGIC, "Micro-and nano-encapsulation in food industry," *Croat. J. food Sci.*

- Technol.*, vol. 11, no. 1, pp. 113–121, 2019.
- [16] J. M. Pateiro, M., Gómez, B., Munekata, P. E., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., & Lorenzo, "Nanoencapsulation of promising bioactive compounds to improve their absorption, stability, functionality and the appearance of the final food products," *Molecules*, vol. 26, no. 6, p. 1547, 2021.
- [17] S. Sidauruk, H., Munandar, A., & Haryati, "The production of nanoparticles chitosan from crustaceans shell using the top-down method.," *EDP Sci.*, vol. 147, p. 03025, 2020.
- [18] E. T. Webber, M. J., & Pashuck, "(Macro) molecular self-assembly for hydrogel drug delivery," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 172, pp. 275-295., 2021.
- [19] A. El Knidri, H., Belaabed, R., Addaou, A., Laajeb, A., & Lahsini, "Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 120, pp. 1181–1189, 2018.
- [20] H. T. Öztürk, A. A., & Kıyan, "Treatment of oxidative stress-induced pain and inflammation with dexketoprofen trometamol loaded different molecular weight chitosan nanoparticles: Formulation, characterization and anti-inflammatory activity by using in vivo HET-CAM assay," *Microvasc. Res.*, vol. 128, p. 103961, 2020.
- [21] P. Mikušová, V., & Mikuš, "Advances in chitosan-based nanoparticles for drug delivery.," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 17, p. 9652, 2021.
- [22] S. Eivazzadeh-Keihan, R., Radinekiyan, F., Maleki, A., Bani, M. S., Hajizadeh, Z., & Asgharnasl, "A novel biocompatible core-shell magnetic nanocomposite based on cross-linked chitosan hydrogels for in vitro hyperthermia of cancer therapy," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 140, pp. 407–414, 2019.
- [23] N. Crini, G., Torri, G., Lichtfouse, E., Kyzas, G. Z., Wilson, L. D., & Morin-Crini, "Dye removal by biosorption using cross-linked chitosan-based hydrogels," *Environ. Chem. Lett.*, vol. 17, no. 4, pp. 1645–1666, 2019.
- [24] M. R. Jawad, A. H., Abdulhameed, A. S., Kashi, E., Yaseen, Z. M., AlOthman, Z. A., & Khan, "Cross-linked chitosan-glyoxal/kaolin clay composite: parametric optimization for color removal and COD reduction of remazol brilliant blue R dye," *J. Polym. Environ.*, vol. 30, no. 1, pp. 164–178, 2022.
- [25] S. Algharib, S. A., Dawood, A., Zhou, K., Chen, D., Li, C., Meng, K., ... & Xie, "Preparation of chitosan nanoparticles by ionotropic gelation technique: Effects of formulation parameters and in vitro characterization," *J. Mol. Struct.*, vol. 1252, p. 132129, 2022.
- [26] A. Mohammadpour, H., Sadrameli, S. M., Eslami, F., & Asoodeh, "Optimization of ultrasound-assisted extraction of Moringa peregrina oil with response surface methodology and comparison with Soxhlet method," *Ind. Crops Prod.*, vol. 131, pp. 106–116, 2019.
- [27] S. Qian, J., Zhao, F., Gao, J., Qu, L., He, Z., & Yi, "Characterization of the structural and dynamic changes of cell wall obtained by ultrasound-water and ultrasound-alkali treatments," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 77, p. 105672, 2021.
- [28] P. Hao, M. H., Zhang, F., Liu, X. X., Wang, L. J., Xu, S. J., Zhang, J. H., ... & Xu, "Qualitative and quantitative analysis of catechin and quercetin in flavonoids extracted from *Rosa roxburghii* Tratt," *Trop. J. Pharm. Res.*, vol. 17, no. 1, pp. 71–76, 2018.
- [29] Z. Huang, G., He, J., Zhang, X., Feng, M., Tan, Y., Lv, C., ... & Jin, "Applications of Lambert-Beer law in the preparation and performance evaluation of graphene modified asphalt," *Constr. Build. Mater.*, vol. 273, p. 121582, 2021.
- [30] S. Baba, W. N., Abdelrahman, R., & Maqsood, "Conjoint application of ultrasonication and redox pair mediated free radical method enhances the functional and bioactive properties of camel whey-quercetin conjugates," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 79, p. 105784, 2021.
- [31] W. Pham, D. T., & Tiyaboonchai, "Fibroin nanoparticles: A promising drug delivery system," *Drug Deliv.*, vol. 27, no. 1, pp. 431–448, 2020.
- [32] B. S. Bhattacharyya, S., & Sogali, "Application of statistical design to assess the critical process parameters of ethanol injection method for the preparation of liposomes," *Dhaka Univ. J. Pharm.*

*Sci.*, vol. 18, no. 1, pp. 103–111, 2019.

- [33] H. Jiang, T., Ye, S., Liao, W., Wu, M., He, J., Mateus, N., & Oliveira, "The botanical profile, phytochemistry, biological activities and protected-delivery systems for purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.): An up-to-date review," *Food Res. Int.*, 2022.
- [34] N. M. D. Arozal, W., Louisa, M., Rahmat, D., Chendrana, P., & Sandhiutami, "Development, characterization and pharmacokinetic profile of chitosan-sodium tripolyphosphate nanoparticles based drug delivery systems for curcumin," *Adv. Pharm. Bull.*, vol. 11, no. 1, p. 77, 2021.
- [35] S. K. Khandel, P., Yadaw, R. K., Soni, D. K., Kanwar, L., & Shahi, "Biogenesis of metal nanoparticles and their pharmacological applications: present status and application prospects.," *J. Nanostructure Chem.*, vol. 8, no. 3, pp. 217–254, 2018.