

**PEMBUATAN NANOEMULSI FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKTRAK
ETANOL DAUN JAMBU Biji (*Psidium guajava L*) DALAM BENTUK *Self-
Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Gelar Sarjana Sains (S.Si) pada Program Studi Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
Yogyakarta



Diajukan Oleh:

M. ILHAM SETIAWAN

No Mahasiswa : 16612051

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2022

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya. Sehingga saya dapat menyusun dan menyelesaikan laporan skripsi ini di tengah wabah COVID-19. Untuk itu Ku persembahkan karya ini untuk orang-orang yang mengenalku, menyayangiku, mencintaiku dan secara khusus saya sampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang selalu mendengarkan do'a dan memberikan segala kemudahan serta ridho-Nya hingga terselesaikannya laporan ini.
2. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan doa, dukungan dan semangat dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Nur Cahyo Iman Prakoso sebagai pembimbing I dan ibu Dhina Fitriastuti sebagai pembimbing II dan segenap dosen Prodi Kimia FMIPA UII yang telah memberikan ilmu, bimbingan, dan dukungan.
4. Ika Imeldasari yang selalu membantu dan mendukung di saat susah maupun senang.
5. Anak – anak kontrakan yang telah mendukung dan menyemangati sekaligus mengejek dalam proses pembuatan skripsi ini.
6. Wild Rift yang selalu membangkitkan semangat ketika sedang malas dalam proses pembuatan skripsi ini.

**PEMBUATAN NANOEMULSI FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKTRAK
ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava L*) DALAM BENTUK *Self-
Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS)**

SKRIPSI

yang diajukan Oleh :

M. ILHAM SETIAWAN

No. Mahasiswa : 16612051

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Prodi Ilmu Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia :

Dewan Penguji

Tanda Tangan

1. Nurcahyo Iman Prakoso, S.Si., M.Sc.

2. Dhina Fitriastuti, S.Si., M.Sc.

3. Amri Setyawati, S.Si., M.Sc.

4. Imam Sahroni, S.Si, M.Sc.

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.

KATA PENGANTAR

Segala puja dan puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT karena atas limpahan rahmat, hidayah, serta inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul **“Pembuatan Nanoemulsi Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L*) Dalam Bentuk *Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS)”**

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat akademis yang harus ditempuh untuk mendapatkan gelar sarjana sains pada program studi kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.

Atas bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan doa, dukungan dan semangat dalam penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Nurcahyo Iman Prakoso, S.Si., M.Sc selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, serta berbagai masukan dalam penyusunan skripsi.
3. Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Ketua Prodi Kimia FMIPA UII.

Penulis menyadari banyak kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan skripsi ini, oleh karena itu pemberian saran dan kritik yang bersifat membangun diharapkan oleh penulis sehingga berguna untuk menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis maupun bagi pembaca.

Yogyakarta 9 Desember 2021

Penulis

M. ILHAM SETIAWAN

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
BAB I PENDAHULUAN	3
1.1 Latar Belakang	3
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Masalah	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Nanopartikel	6
2.2 Daun jambu biji (<i>Psidium Guajava L</i>)	6
2.3 Self Nanoemulsifying Drug Delivery System	7
BAB III DASAR TEORI	9
3.1 Daun Jambu Biji	9
3.2 Maserasi dengan Etanol 96%	9
3.3 Nanopartikel	10
3.4 Teknologi Nanopartikel	10
3.5 Karakterisasi ukuran Nanopartikel	12
3.6 Fraksinasi dengan Etil Asetat	12
3.7 Self Nano-emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)	13
3.8 Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)	14
3.8.1 Liquid Chromatography (LC)	15
3.8.2 Mass Spectroscopy (MS)	16
3.9 Transmission Electron Microscopy (TEM)	17
3.10 Particle Size Analyzer (PSA)	19
3.11 Hipotesis	19
BAB IV METODE PENELITIAN	21
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	21

4.2 Alat dan bahan	21
4.3 Identifikasi Variabel	21
4.4 Cara Kerja	22
4.4.1 Penyiapan Daun Jambu Biji	22
4.4.2 Uji Determinasi	22
4.4.3 Ekstraksi dengan Metode Maserasi	22
4.4.4 Fraksinasi	23
4.4.5 Analisis Dengan LC-MS/MS	23
4.5 Penapisan Fitokimia	23
4.5.1 Uji Alkaloid	23
4.5.2 Uji Flavonoid	23
4.5.3 Uji Tanin/Fenol	24
4.5.4 Uji Terpenoid	24
4.6 Pembuatan SNEDDS	24
4.7 Uji PSA	24
4.7.1 Ukuran Partikel	24
4.7.2 Zeta Potensial	25
4.8 Uji TEM	25
BAB V PEMBAHASAN	26
5.1 Determinasi Tanaman	26
5.2 Preparasi Sampel	26
5.3 Ekstraksi Daun Jambu Biji (<i>Psidium Guajava L.</i>)	26
5.4 Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (<i>Psidium Guajava L.</i>)	28
5.5 Penapisan Fitokimia	29
5.5.1 Uji Alkaloid	30
5.5.2 Uji Flavanoid	30
5.5.3 Uji Tanin/Polifenol	32
5.5.4 Uji Terpenoid	33
5.6 Analisis kandungan senyawa dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium guajava L.</i>) menggunakan LC-MS/MS	35
5.7 Pembuatan SNEDDS fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium Guajava L.</i>)	47

5.8 Karakterisasi SNEDDS Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (<i>Psidium Guajava L.</i>)	48
5.8.1 Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel	49
5.8.2 Zeta Potensial	50
5.8.3 Morfologi	52
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	54
6.1 Kesimpulan	54
6.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ilustrasi interaksi nanopartikel dalam tubuh.....	11
Gambar 2. Ilustrasi konsep sistem penghantaran obat auto nanoemulsifikasi.....	14
Gambar 3. Prinsip kerja TEM.....	18
Gambar 4. Reaksi pada uji alkaloid.....	29
Gambar 5. Reaksi flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat.....	30
Gambar 6. Reaksi uji tanin atau polifenol dengan FeCl ₃	31
Gambar 7. Reaksi pada uji terpenoid dengan pereaksi <i>Liebermann Burchard</i>	33
Gambar 8. Kromatogram fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium Guajava L.</i>).....	35
Gambar 9. Kromatogram senyawa yang teridentifikasi oleh LC-MS/MS, (A) waktu retensi 10.73 (B) 10.55 (C) 10.28 (D) 6.88 (E) 5.46.....	36
Gambar 10. Spektrum massa senyawa kandidat C ₃₅ H ₄₂ O ₉ , (A) <i>low energy</i> (B) <i>high energy</i>	38
Gambar 11. Struktur senyawa taxinine.....	39
Gambar 12. Spektrum massa senyawa kandidat C ₂₆ H ₄₈ O ₁₅ , (A) <i>low energy</i> (B) <i>high energy</i>	40
Gambar 13. Struktur senyawa oktil 4-O-[2-O-(α -L-fukopiranosil)- β -D-galaktopiranosil]- β -D-glukopiranosida.....	40
Gambar 14. Spektrum massa senyawa kandidat C ₃₄ H ₄₀ O ₉ , (A) <i>low energy</i> (B) <i>high energy</i>	41
Gambar 15. Struktur senyawa 17-hidroksiingenol.....	42
Gambar 16. Spektrum massa kuersetin, (A) <i>low energy</i> (B) <i>high energy</i>	43
Gambar 17. Struktur senyawa kuersetin.....	43
Gambar 18. Spektrum massa kuersetin-3-O- α -L-arabinopiranosida, (A) <i>low energy</i> (B) <i>high energy</i>	44
Gambar 19. Struktur senyawa kuersetin-3-O- α -L-arabinopiranosida.....	45
Gambar 20. Hasil analisis TEM dengan perbesaran hingga 80.000 kali, (B) Air.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Variabel penelitian.....	20
Tabel 2. Hasil rendemen ekstrak etanol daun jambu biji.....	26
Tabel 3. Hasil uji organoleptik ekstrak etanol daun jambu biji.....	26
Tabel 4. Hasil rendemen fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji.....	27
Tabel 5. Hasil uji organoleptik fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji.....	27
Tabel 6. Hasil uji fitokimia fraksi daun jambu biji.....	28
Tabel 7. Hasil analisis LC-MS/MS dengan sumber pengionan positif.....	37
Tabel 8. Hasil karakterisasi ukuran dan distribusi ukuran partikel formulasi SNEDDS dengan PSA	48
Tabel 9. Hasil karakterisasi zeta potensial formulasi SNEDDS dengan PSA.....	49

PEMBUATAN NANOEMULSI FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava L*) DALAM BENTUK *Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS)

INTISARI

M. ILHAM SETIAWAN

NIM: 16612051

Diantara jenis tumbuhan di Indonesia salah satu penggunaan tanaman obat tradisional yang digunakan adalah Jambu biji (*Psidium guajava L.*). Daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) yang digunakan adalah fraksi semipolarnya, yaitu fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*). Tujuan fraksinasi untuk mengelompokkan kandungan senyawa pada ekstrak yang didasarkan pada kepolarannya. Nanoemulsi adalah sistem transparan atau bening dengan ukuran globul seragam dan sangat kecil (biasanya dalam kisaran 2-500 nm). *Self-nanoemulsifying drug delivery systems* (SNEDDS) merupakan campuran isotropik minyak, surfaktan, kosurfaktan dan obat yang membentuk nanoemulsi minyak dalam air ketika diemulsikan dengan air. Konsep dari teknologi ini adalah formulasi antara minyak, surfaktan, dan kosurfaktan yang mengandung obat. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah kromatografi kolom gravitasi. Dari penelitian ini akan memberikan informasi mengenai proses aktivitas, pembuatan dan kualitas ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) yang berbentuk nanoemulsi. Proses ekstraksi daun jambu biji menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Kemudian berlanjut pada proses fraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom dengan pelarut etil asetat. Hasil analisis LC-MS/MS menunjukkan beberapa senyawa dalam fraksi yaitu senyawa kandidat $C_{35}H_{42}O_9$, senyawa kandidat $C_{26}H_{48}O_{15}$, senyawa kandidat $C_{34}H_{40}O_9$, quercetin dan quercetin-3-O- α -L-arabinopiranosida. Pembuatan nanopartikel dalam penelitian ini menggunakan metode SNEDDS dengan perbandingan minyak : surfaktan : ko-surfaktan (30:50:20) serta penambahan fraksi sebanyak 40%, 60% dan 80%. Adapun hasil PSA yang diperoleh yaitu pada formulasi 40% ukuran partikel 164,8 nm, formulasi 60% ukuran partikel 341,3 nm, formulasi 80% dengan ukuran partikel 379,7 nm, juga hasil analisis TEM dimana bentuk morfologi yang belum merata dari formulasi paling optimal.

Kata kunci: nanoemulsi, etil asetat, SNEDDS

MANUFACTURING NANOEMULSION OF ETHYL ACETATE FRACTION FROM Ethanol Extract of Guava Leaf (*Psidium guajava* L) IN THE FORM of Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)

ABSTRACT

M. ILHAM SETIAWAN

NIM: 16612051

One of the traditional medicinal plants used among numerous plants in Indonesia is guava (*Psidium guajava* L). The part of guava leaf (*Psidium guajava* L.) that used was the semipolar fraction, namely the ethyl acetate fraction of the ethanol extract of the guava leaf (*Psidium guajava* L.). The purpose of fractionation is to classify the content of compounds in extracts based on their polarity. Nanoemulsions are transparent or translucent systems with uniform and very small globule sizes (usually in the 2-500 nm range). Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) are isotropic mixtures of oils, surfactants, cosurfactants and drugs that form an oil-in-water nanoemulsion when emulsified with water. The concept of this technology is the formulation of an oil, surfactant, and cosurfactant containing a drug. The method used in this research is gravity column chromatography. This research will provide information about the activity process, manufacture and quality of guava leaf (*Psidium guajava* L.) ethanol extract in the form of nanoemulsions. The guava leaf extraction process was carried out by maceration method using 96% ethanol as solvent. Followed by fractionation by column chromatography method using ethyl acetate solvent. The results of the analysis by LC-MS/MS showed that the compounds contained in the fraction were candidate compounds $C_{35}H_{42}O_9$, candidate compounds $C_{26}H_{48}O_{15}$, candidate compounds $C_{34}H_{40}O_9$, quercetin and quercetin-3-O- α -L-arabinopiranoside. Manufacture of nanoparticles using the SNEDDS method with a ratio of oil: surfactant: co-surfactant (30:50:20) and the addition of a fraction of 40%, 60% and 80%. The PSA results obtained are the 40% formulation with a particle size of 164.8 nm, the 60% formulation with a particle size of 341.3 nm, the 80% formulation with a particle size of 379.7 nm, also the results of the TEM analysis where the uneven morphology of the most optimal formulation.

Keyword: nanoemulsion, ethyl acetate, SNEDDS

BABI

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keberlimpahan hayati yang dimiliki oleh Indonesia menjadikan Indonesia negara kaya akan keanekaragaman hayati didalamnya, ada sekitar 40.000 jenis tumbuhan aerta 1.300 diantaranya merupakan jenis tumbuhan yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat. Saat ini *Trend Back to Nature* sedang naik di kalangan masyarakat Indonesia begitu juga dalam dunia pengobatan alasannya obat yang berasal dari tanaman cenderung lebih mudah didapat, selain itu relatif murah, serta memiliki efek samping yang relatif rendah (Arnida dkk., 2016). Salah satu tanaman obat tradisional yang sering digunakan adalah Jambu biji (*Psidium guajava. L*). Buah jambu biji (*Psidium guajava. L*) mempunyai kandungan vitamin C dan fenol yang bisa menjadi anti oksidan (Gull dkk, 2012). Buah jambu biji (*Psidium guajava. L*) memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid, terpinoid, dan tannin (Rahmawati dkk., 2013). Menurut Sangi dkk., 2008 buah jambu biji (*Psidium guajava. L*) juga mengandung metabolit sekunder lainnya yaitu saponin dan alkaloid. Bagian-bagian jambu biji seperti daun, buah, dan bahkan kulit memiliki potensi penggunaan sebagai agen terapi terhadap kanker (Sato dkk., 2016). Daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) juga memiliki khasiat seperti antibakteri, antioksidan, antikanker, anti ulkus (Porwal dkk., 2012).

Daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) yang digunakan adalah fraksi semipolarnya, yaitu fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*), sehingga diperlukan maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan fase gerak etil asetat. Tujuan fraksinasi untuk mengelompokkan kandungan senyawa pada ekstrak yang didasarkan pada kepolaranya. Sedangkan dipilih fraksi etil asetat karena senyawa pada fraksi semipolar lebih banyak dari pada fraksi polar dan non polar. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Maharani (2017) menunjukkan bahwa fraksi etanolair (polar), etil asetat (semi polar) dan n-heksana (non polar) daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) memiliki rendemen sebesar 28,12%, 47% dan 11,38%. Nita (2019) memperoleh fraksi etanol, etil asetat dan n-heksana daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) sebesar 74,67%, 2,08%, 0,91%.

Bahan aktif yang terdapat pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) diubah dalam sediaan nanopartikel, karena ukuran nano memiliki banyak kelebihan.

Beberapa kelebihan nanoemulsi adalah kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel koloidal (Buzea dkk., 2007), karena ukurannya yang nano dapat mengatasi kelarutan zat aktif yang sukar larut, memperbaiki bioavailabilitas yang buruk, dan memodifikasi sistem penghantaran obat sehingga obat dapat langsung menuju daerah yang spesifik (Mohanraj dan Chen, 2006). Berdasarkan penelitian Fitria (2017) yang memformulasikan meloksikam menjadi bentuk sediaan SNEDDS dapat meningkatkan kelarutannya, dengan waktu emulsifikasi sebesar 20,6 detik, drug loading sebesar 26,52 ppm dan persen transmitan sebesar 47,86%.

Nanoemulsi adalah sistem transparan atau bening dengan ukuran globul seragam dan sangat kecil (biasanya dalam kisaran 2-500 nm). Nanoemulsi stabil secara kinetik. Namun karena memiliki stabilitas jangka panjang (tanpa flokulasi/koalescence) membuat nanoemulsi menjadi unik dan terkadang disebut mendekati stabilitas termodinamik (Tadros, 2005).

Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) diubah dalam sediaan nanopartikel. Nanopartikel merupakan sistem obat terbaru yang meningkatkan tingkat pengiriman obat ke reseptor (Anindhita dan Oktaviani, 2016). Di dunia farmasi, formulasi untuk meningkatkan kemampuan senyawa aktif menembus reseptor sangat dibutuhkan, salah satunya adalah *Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS). Metode ini berguna dalam peningkatan ketersediaan hayati zat aktif di dalam tubuh, meningkatkan kelarutan, laju disolusi, serta absorpsi zat aktif dalam tubuh terutama untuk obat-obatan yang memiliki kelarutan rendah (Anindhita dan Oktaviani, 2016). Adapun keuntungan dari SNEDDS ialah berkemampuan untuk meningkatkan daya larut obat dalam lumen saluran pencernaan (GI). Nanoemulsi bersifat transparan, tembus cahaya sistem emulsi serta dispersi minyak air yang stabil dengan lapisan film surfaktan atau surfaktan molekul, memiliki ukuran tetesan 100 nm - 500 nm (Martien R dkk., 2017).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dari uraian diatas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh ukuran nanoemulsi terhadap bentuk morfologi yang paling optimal?
2. Senyawa apa saja yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava L.*)?
3. Bagaimana kualitas nanoemulsi fraski etil asetat yang dihasilkan dari daun jambu biji?

1.3 Tujuan Masalah

1. Mengetahui pengaruh ukuran nanoemulsi terhadap bentuk morfologi yang paling optimal.
2. Mengetahui senyawa apa saja yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava L.*).
3. Mengetahui kualitas nanoemulsi fraski etil asetat yang dihasilkan dari daun jambu biji.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini akan memberikan informasi mengenai proses aktivitas, pembuatan dan kualitas ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) yang berbentuk nanoemulsi serta tahapan-tahapan dalam proses ekstraksi (maserasi) dan juga untuk memanfaatkan potensi bahan alam daun jambu biji sebagai agrobisnis Indonesia yang melimpah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nanopartikel

Saat ini, tengah dikembangkan suatu sistem penghantaran obat terbaru yaitu dengan penggunaan Teknologi Nano sebagai suatu sistem dalam penghantaran obat masa depan. Sediaan nanopartikel memiliki beberapa kelebihan seperti mampu menembus sel target dengan lebih cepat dan tepat sasaran. Sediaan nanopartikel sendiri dapat diartikan dengan formulasi suatu partikel yang terdispersi pada ukuran nanometer atau skala per seribu mikron. Terdapat perbedaan pendapat dikalangan para ahli mengenai batasan ukuran partikel yang pasti untuk sistem penghantaran obat. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan ukuran nanopartikel pada sistem penghantaran obat dengan teknologi nanopartikel secara umum. Beberapa sumber menyebutkan bahwa pada ukuran diameter di bawah 100 nm nanopartikel baru akan menunjukkan sifat khasnya, namun batasan ini sulit dicapai untuk sistem nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat. Secara umum nanopartikel obat harus mengandung jumlah obat yang cukup dalam matriks pada tiap butir partikel, sehingga ukurannya akan relatif lebih besar dibanding nanopartikel non-farmasetik. Meskipun demikian tetap disepakati bahwa nanopartikel merupakan partikel yang memiliki ukuran di bawah 1 mikron ((Buzea dkk., 2007).

2.2 Daun jambu biji (*Psidium Guajava L*)

Tumbuhan jambu biji (*Psidium guajava L.*) merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai obat alternative secara tradisional untuk penyakit tertentu seperti diare, luka, dan penyakit kulit (Kamanth et al. 2008). Saat ini sudah banyak penelitian pengujian aktivitas daun jambu biji dilakukan yaitu sebagai antioksidan (Kuber et al. 2013), antimikrob (Goncalves et al. 2008), antiradang (Ojowole 2006), antidiabetes (Mukhtar et al. 2006), dan antikanker (Joseph dan Priya, 2010). Namun penelitian aktivitas daun jambu sebagai obat antikanker masih sangat terbatas. Menurut Sato et al. (2010), penelitian yang dengan pengujian aktivitas antikanker dari jambu biji menggunakan kultur sel hanya ada tujuh. Adapun sel kanker yang digunakan untuk uji aktivitas antikanker dari jambu biji ini antara lain adalah sel kanker prostat (Ryu dkk. 2012),

kanker serviks (Joseph dan Priya. 2010), kanker usus (Lee dan Park 2010), kanker mulut, kanker lambung (Manthey dkk. 2001), dan kanker sel darah (Manosroi dkk. 2006). Hasil penelitian-penelitian itu menunjukkan bahwa daun jambu sangat berpotensi sebagai obat antikanker karena dapat mencegah ataupun menghambat pertumbuhan sel kanker (Rishika dan Sharma 2012). Dibandingkan dengan cara lain seperti kemoterapi atau radiasi, pengobatan penyakit kanker dengan menggunakan tanaman herbal seperti daun jambu biji lebih menjanjikan dan tidak memberikan efek samping (Itharat dan Ooraikul 2007).

2.3 Self Nanoemulsifying Drug Delivery System

Self Nanoemulsifying Drug Delivery System merupakan campuran isotropik minyak, surfaktan dan kosurfaktan dan obat yang membentuk nanoemulsi minyak dalam air ketika diemulsikan dengan air (Gursoy dan Benita, 2004) Proses self-emulsification terjadi secara spontan karena energi bebas yang diperlukan membentuk nanoemulsi sangat rendah (Date dkk., 2010). Ukuran tetesan nanoemulsi yang sangat kecil memungkinkan penyerapan obat menjadi lebih efisien (Kumar dkk., 2011). Selain itu, peningkatan kelarutan obat dalam sistem SNEDDS memungkinkan adanya pengurangan dosis sehingga dapat mengurangi efek samping yang berhubungan dengan dosis (Nielsen dkk., 2008). Teknologi auto-emulsifikasi *Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS)* merupakan pengembangan terkini sistem nanoemulsi untuk aplikasi oral melalui saluran gastrointestinal (Wadhwa dkk., 2011). Konsep dari teknologi ini ialah formulasi antara minyak, kosurfaktan, dan surfaktan yang mengandung obat, yang selanjutnya akan masuk ke saluran cerna dan bercampur dengan cairan usus yang mengandung air.

Akan terjadi emulsifikasi spontan yang menghasilkan globul berukuran nanometer ketika formula bercampur dengan cairan usus. Sistem autoemulsi yang dibuat dengan metode ini menunjukkan karakter yang baik, karena emulsifikasi membentuk nanopartikel terjadi secara spontan dengan ukuran partikel bervariasi dengan rata-rata 170 nm. Sistem ini stabil dan dapat melepaskan obat secara keseluruhan di dalam media dalam 20 menit karena tidak dipengaruhi oleh perbedaan tingkat keasaman (Date dan Nagarsenker, 2007).

Beberapa kelebihan SNEDDS telah dibuktikan melalui penelitian yang dilakukan oleh Beandrade, (2018) yang melakukan formulasi terhadap ekstrak jinten hitam (*Nigella Sativa*). Hasil penelitiannya menunjukkan SNEDDS optimal mengandung ekstrak jinten hitam 200 mg/g sistem, adapun sistem SNEDDS terdiri dari 67,344% surfaktan (10,102% croduret 50 ss dan 57,242% tween 80), 15% minyak ikan hiu cucut botol, 17,656% PEG 400 sebagai ko-surfaktan dengan hasil ukuran zeta potensial -43,5 mV dan nanoemulsi sebesar 16,3 nm, dengan polidispersitas (PI) 0,202. Formula optimal SNEDDS ini menghasilkan rasio sel makrofag dan indeks fagositosis lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak jinten hitam tanpa formulasi ($p < 0,05$). Hasil *extract loading* system SNEDDS mencapai 600 mg ekstrak/g sistem serta stabil disimpan selama 90 hari pada suhu ruang dan stabil ketika diuji stabilitas dengan teknik *freezethawing*.

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antiinflamasi adalah daun jambu biji. Kandungan utama dari ekstrak daun jambu biji diantaranya adalah sejumlah senyawa polifenol, flavanoid dan triterpenoid (Peng RY dkk., 2008). Sebagai sistem penghantaran obat, nanoemulsi dapat berpenetrasi pada permukaan kulit yang kasar dan hal inilah yang menyebabkan peningkatan penetrasi zat aktif (Boucemal dkk, 2004). Salah satu metode pembentukan nanoemulsi adalah dengan *Self Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS).

BAB III

DASAR TEORI

3.1 Daun Jambu Biji

Jambu biji (*Psidium guajava L.*) adalah tanaman tropis yang berasal dari Brasil, yang disebarkan ke Indonesia melalui Thailand. Jambu biji dengan daging buah berwarna putih atau merah kaya akan vitamin A dan C dan pada daunnya terkandung beberapa senyawa kimia antara lain, flavonoid, kuersetin, tanin, saponin, minyak atsiri dan alkaloid. Beberapa penelitian telah menjelaskan bahwa flavonoid, tanin, alkaloid, minyak atsiri dan beberapa komponen tersebut memiliki kemampuan farmakologi sebagai antidiare, antiinflamasi, antihipertensi, dan kemampuan farmakologi lainnya (Tanaz dkk., 2014). Buah jambu biji (*Psidium guajava. L*) mempunyai kandungan vitamin C dan fenol yang bisa menjadi antioksidan (Gull dkk., 2012). Buah jambu biji merah memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid, terpinoid, dan tannin (Rahmawati dkk., 2013). Daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) banyak digunakan sebagai pengobatan tradisional, karena mengandung senyawa bioaktif seperti katekin, galangin, asam homogentisat, asam galat, kaempferol dan sianodin 3 glikosida yang diketahui aktif sebagai antikanker (Chen dkk., 2015).

3.2 Maserasi dengan Etanol 96%

Berbagai metode ekstraksi bahan tanaman yang telah dilakukan antara lain metode maserasi, sokletasi, perlokasi, infundasi, digestasi, dekokta dan destilasi (Senja dkk., 2014). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan cara dingin yaitu maserasi dengan pelarut etanol (C_2H_5OH) karena pada prinsipnya pelarut harus memenuhi *pharmaceuticalgrade*. Penggunaan pelarut etanol konsentrasi 96% dengan alasan dari beberapa referensi yang didapat menyatakan bahwa ekstrak etanol 96% yang diketahui mempunyai toksisitas terendah dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Sehingga pada penelitian ini digunakan etanol dengan konsentrasi 96% (Damar dkk., 2014).

Ekstraksi dilakukan dengan maserasi memasukkan 1 kg serbuk kering simplisia kedalam botol (maserator) kemudian dilakukan penambahan etanol 96% sampai seluruh simplisia terendam, setelahnya botol ditutup rapat. Selanjutnya dilakukan perendaman selama 6 jam pertama dan sesekali diaduk agar zat aktif yang terdapat pada simplisia terlarut, kemudian didiamkan selama 18 jam. Pemisahan maserat dilakukan dengan menggunakan kertas saring, proses penyaringan dilakukan sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Hasil maserat dipekatkan menggunakan vakum rotary evaporator pada suhu $\pm 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ hingga kental. Kemudian ekstrak kental dikeringkan di oven pada suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ agar sisa pelarut hilang sehingga didapatkan ekstrak kental yang bebas etanol (Departemen Kesehatan, 2008).

3.3 Nanopartikel

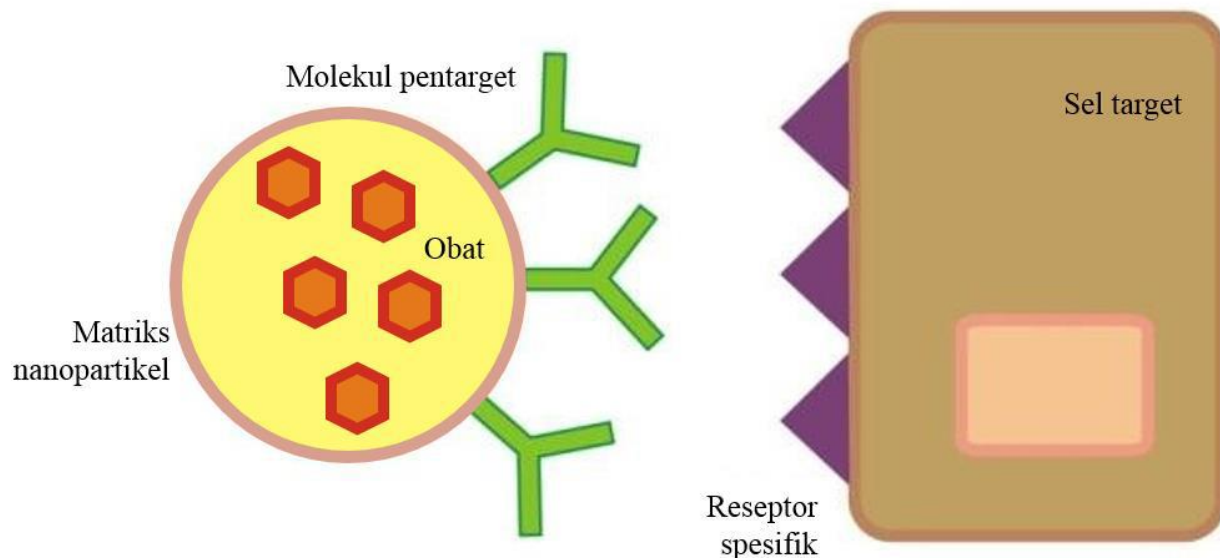
Nanopartikel adalah sediaan dengan ukuran partikel antara 1-1000 nm, dan dapat digunakan sebagai sistem penghantaran obat lepas lambat. Obat dilepaskan secara perlahan melalui mekanisme erosi dan difusi dari partikel. Nanopartikel merupakan bentuk sediaan farmasi yang menawarkan sejumlah keuntungan misalnya dapat digunakan untuk sediaan lepas terkontrol dan bisa mempertahankan stabilitas bahan aktifnya. Proses inkorporasi bahan aktif dapat dicapai melalui proses enkapsulasi dan dapat digunakan untuk menghantarkan obat dengan profil pelepasan terkontrol dalam jangka waktu yang lama (Listyaningrum dkk., 2015). Metode-metode yang umum digunakan dalam pembuatan nanopartikel, antara lain: *spray drying (atomization)*, *polyelectrolyte complexation/ionotropic gelation*, *supercritical fluid precipitation*, emulsifikasi tunggal dan ganda (Utami dkk., 2013).

3.4 Teknologi Nanopartikel

Saat ini telah dikembangkan formulasi sediaan obat dalam ukuran nanopartikel. Nanopartikel memiliki kemampuan dalam menembus ruang-ruang antar sel yang hanya bisa ditembus oleh ukuran partikel koloidal (Buzea dkk., 2007). Kemampuan nanopartikel dalam menembus dinding sel tinggi baik melalui difusi maupun opsonifikasi, selain itu nanopartikel mempunyai fleksibilitas untuk dikombinasikan dengan berbagai teknologi lain sehingga berpotensi tinggi untuk dikembangkan dalam berbagai keperluan dan target. Kelebihan lain dari penggunaan nanopartikel ialah adanya peningkatan afinitas dari sistem karena peningkatan luas permukaan kontak pada jumlah yang sama (Kawashima, 2000). sehingga, nanopartikel memberikan pilihan

yang baik karena dapat memberikan efek farmakologis pada dosis yang lebih efisien (Hu dan Li, 2011).

Nanopartikel sediaan sediaan farmasi bisa berupa sistem obat dalam matriks seperti nanosfer, nanoliposom, nanoemulsi, nanokapsul, dan nanospray. Nanospray merupakan salah satu bentuk sediaan obat yang sangat efektif dalam penghantaran zat aktif obat kepada reseptor yang ada di dalam tubuh. Salah satu metode yang digunakan dalam pembuatan sediaan nanospray adalah menggunakan konsep *lipid based formulation*. Pengembangan terkini dalam sistem nanoemulsi ialah pengaplikasian oral melalui saluran gastrointestinal yaitu teknologi auto-emulsifikasi (*Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDs)*) (Wadhwa dkk., 2011)



Gambar 1. Ilustrasi interaksi nanopartikel dalam tubuh (Martien dkk., 2012)

Konsep dari teknologi ini ialah formulasi antara minyak, kosurfaktan, dan surfaktan yang mengandung obat, yang selanjutnya akan masuk ke saluran cerna dan bercampur dengan cairan usus yang mengandung air. Emulsifikasi spontan yang menghasilkan globul berukuran nanometer didapatkan ketika formula bercampur dengan cairan usus. Sistem autoemulsi yang dibuat dengan metode ini menghasilkan karakter yang baik karena emulsifikasi membentuk nanopartikel secara spontan dengan ukuran partikel dengan banyak variasi tergantung media dispersinya, dengan rata-rata 170 nm. Sistem ini dapat melepaskan obat secara keseluruhan di dalam media dalam 20 menit dan stabil karena tidak dipengaruhi oleh perbedaan tingkat keasaman (Date dan Nagarsenker, 2007).

3.5 Karakterisasi ukuran Nanopartikel

Karakteristik nanopartikel yang perlu diketahui antara lain ukuran dan distribusi partikel dan zeta potensial dari nanopartikel yang telah dihasilkan. Sifat seperti distribusi ukuran, diameter partikel rata-rata, muatan mempengaruhi stabilitas fisik dan distribusi nanopartikel. Sifat seperti morfologi permukaan, ukuran dan bentuk keseluruhan ditentukan oleh teknik mikroskopi elektron (Bathia, 2016). Zeta potensial adalah muatan partikel dalam medium spesifik ataupun medium pendispersinya. Zeta potensial akan memperlihatkan besarnya gaya tolak menolak antara muatan partikel yang sama dan berdekatan. Nilai zeta potensial yang tinggi baik positif maupun negatif mampu memberikan stabilitas yang baik karena dapat mencegah terjadinya agregasi dari partikel, yaitu minimal cukup ± 30 mV atau mendekati 30 mV. Dengan adanya zeta potensial yang tinggi menimbulkan gaya tolak menolak dan stabilisasi secara elektrik dari dispersi nanopartikel. Ketika nilai zeta potensial yang dimiliki nanopartikel kecil maka akan terjadi gaya tarik menarik yang lebih besar dibandingkan gaya tolak menolaknya, sehingga dapat memicu terjadinya koagulasi dan flokulasi (Amalia dkk., 2015).

3.6 Fraksinasi dengan Etil Asetat

Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya. Pada umumnya dalam melakukan fraksinasi digunakan dua metode yaitu dengan menggunakan corong pisah dan kromatografi kolom (Trifani, 2012). Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah kromatografi kolom gravitasi. Kromatografi kolom adalah suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada peristiwa adsorpsi dengan memanfaatkan kepolaran senyawa dan gaya gravitasi (Mutmainnah dkk., 2017).

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah kromatografi kolom gravitasi. Pemisahan komponen secara kromatografi kolom dilakukan dalam suatu kolom yang diisi dengan fase diam dan dialiri fase gerak untuk memisahkan komponen dengan memanfaatkan kepolaran senyawa dan gaya gravitasi (Mutmainnah dkk., 2017).

Pada metode kromatografi kolom hal penting yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut diantaranya adalah selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan, dan

harga pelarut (Akbar, 2010). Pada penelitian ini digunakan pelarut etil asetat karena mudah diuapkan, tidak higroskopis, memiliki toksisitas rendah dan bersifat semi polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar dari sampel (USP, 2007; Rowe dkk., 2009; Wardhani dan Sulistyani, 2012).

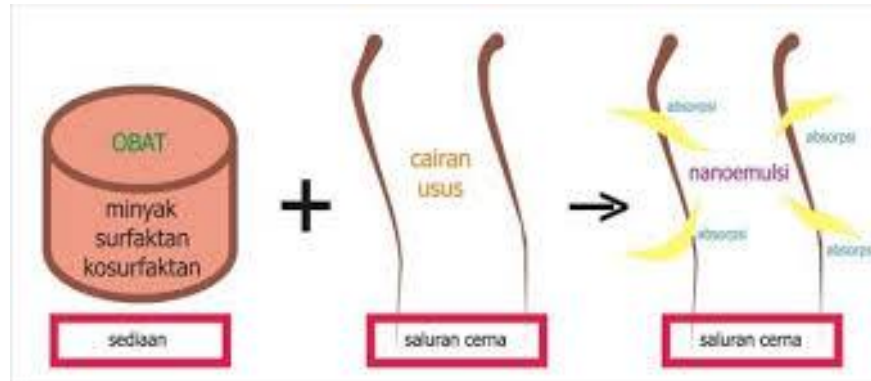
3.7 Self Nano-emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)

SNEDDS merupakan suatu sistem penghantaran obat dengan kandungan campuran minyak, ko-surfaktan, surfaktan, dan obat didalamnya yang membentuk nanoemulsi secara spontan (self-emulsifying) saat masuk dalam fase air. Setelah dikonsumsi hasil pencampuran sediaan SNEDDS dalam cairan lambung akan membentuk nanoemulsi. Nanoemulsi dipilih karena terdapat kandungan minyak yang dapat membawa asam mefenamat yang sukar larut dalam air di dalamnya. Ukuran SNEDDS yaitu sekitar 10-200 nm. Sediaan SNEDDS memiliki keunggulan mampu membentuk nanoemulsi secara spontan di dalam saluran cerna serta memiliki hasil tetesan yang berukuran nanometer. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan pendahulu sediaan SNEDDS dapat menurunkan dosis dan frekuensi dosis karena meningkatnya bioavailabilitas serta memiliki stabilitas tinggi (Chaudhary et al., 2019).

Ukuran globul bisa berpengaruh pada stabilitas sediaan emulsi. Pada umumnya sediaan miksoemulsi selalu menunjukkan masalah sedimentasi dan *creaming*, namun sediaan nanoemulsi tidak menunjukkan masalah tersebut. Hal ini terjadi karena ukuran globul yang sangat kecil sehingga tidak menyebabkan terjadinya sedimentasi dan *creaming*. Selain itu, ukuran globul yang kecil juga bisa mencegah flokulasi (Jaiswal et al., 2015).

Pada teknologi farmasi pengembangan sistem pengiriman obat dengan suatu formulasi yang dapat meningkatkan kemampuan senyawa aktif untuk menembus itu sangat dibutuhkan, salah satunya ialah *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS). SNEDDS mempunyai kemampuan untuk menjadi sistem penghantaran obat yang baik untuk obat dengan tingkat absorpsi rendah. Konsep dari teknologi SNEDDS ialah formulasi antara minyak, kosurfaktan, dan surfaktan yang mengandung obat. Nanoemulsion mempunyai sifat transparan, memiliki

ukuran tetesan 100 nm - 500 nm, tembus cahaya sistem emulsi serta dispersi minyak air yang stabil karena ada lapisan film surfaktan atau surfaktan molekul, (Martien R dkk., 2017).



Gambar 2. Ilustrasi konsep sistem penghantaran obat auto nanoemulsifikasi (Martien dkk., 2012)

Beberapa keuntungan formulasi SNEDDS antara lain mampu meningkatkan bioavailabilitas zat aktif obat melalui penggunaan secara oral, mengurangi frekuensi pemberian obat karena memiliki sistem yang stabil, membawa dan menyampaikan zat aktif obat hingga ke sel targetnya tanpa mempengaruhi atau dipengaruhi oleh kondisi sekitarnya dan juga meningkatkan luas permukaan didalam saluran cerna (Makadia dkk., 2013).

3.8 *Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*

Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS) merupakan suatu teknik analisis penggabungan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dan spesifisitas deteksi spektrometri massa. Ion bermuatan dideteksi oleh spektrometer massa dan kemudian kromatografi cair memisahkan komponen – komponen sampel. Data LC-MS berguna dalam memberikan informasi mengenai identitas, berat molekul, dan kuantitas komponen sampel tertentu (Agilent, 1998).

Analisis kandungan senyawa dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*psidium guajava* l.) digunakan jenis instrumen UPLC-QTOF-MS/MS. Pada sistem LC, eluen yang

dipakai adalah campuran dari fase gerak A (air + 0,1% asam format) dan fase gerak B (asetonitril + 0,1% asam format) berdasarkan sistem eluasi gradient yaitu perubahan waktu akan mempengaruhi perbandingan jumlah kedua pelarut. Campuran tersebut dapat mempercepat pemisahan di dalam kolom secara efisien kurang lebih dalam waktu 10- 15 menit (Farg dkk., 2016). Fase diam yang digunakan dalam penelitian ialah C18 atau oktadesil silika. Oktadesil silika (C18) menjadi pertimbangan karena berkemampuan memisahkan senyawa-senyawa dengan berbagai kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi (Gupta dkk., 2013)

Pada sistem MS menggunakan sumber ion *Electrospray ionization* (ESI) pengionan positif dan analisator MS *Quadrupole time of flight* (Q-ToF). ESI adalah metode ionisasi teknik *spray* dalam mendapatkan berat molekul dari senyawa metabolit. Ion yang dapat terdeteksi bisa berupa $[M-H]^-$, $[M+H]^+$, analit dengan tambahan seperti K^+ , H_3O^+ , Na^+ , NH_4^+ dan molekul dari fase gerak, seperti metanol atau asetonitril. Pada metode ESI ada beberapa kation yang sering terbentuk yaitu ion pseudomolekul hasil adisi antara analit dengan proton $(H)^+$. Sehingga nilai m/z dalam spektra akan sering bernilai $(M+H)^+$ atau $(2M+H)^+$, M merupakan bobot molekul analit. Pengionan positif membuat analit menjadi menjadi kation atau terprotonasi (Kazakevich dan Lobrutto, 2007). Kemudian ion-ion yang didapatkan dipisahkan dengan analisator jenis Q-ToF-MS. Hasil pemisahan akan dideteksi menggunakan detektor yang hasilnya akan menampilkan kromatogram yang diolah menggunakan aplikasi MassLynx versi 4.1. hasil tersebut bisa menampilkan spektra dari tiap-tiap kromatogramnya (Maharani dkk., 2016).

3.8.1 Liquid Chromatography (LC)

Kromatografi cair ialah satu teknik yang tepat dalam pemisahan molekul atau ion yang terlarut dalam suatu larutan. Ketika larutan sampel berinteraksi dengan fase stasioner, molekul-molekul didalamnya akan berinteraksi dengan fase stasioner, namun karena adanya perbedaan daya serap (*adsorption*), partisi (*partitioning*), pertukaran ion (*ion exchange*), atau ukuran maka interaksinya berbeda. Perbedaan tersebut menyebabkan pemisahan antara komponen satu dengan yang lainnya dan dapat mengetahui perbedaannya berdasarkan lama waktu transit komponen melewati kolom. Ada beberapa jenis kromatografi cair yaitu *high performance liquid chromatography* (HPLC), *supercritical fluid chromatography*, *reverse phase chromatography*, serta *size exclusion chromatography* (Saifudin, 2014).

Prinsipnya adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya. Senyawa dipisahkan atas dasar interaksi relatif dengan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak) dan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam). Cara penyuntikan dilakukan untuk memasukan cuplikan ke dalam aliran fasa gerak. Pada prosesnya akan terjadi pemisahan komponen-komponen campuran di dalam kolom, berdasarkan kepolaran dan kecepatannya campuran analit akan terpisah keluar dari kolom untuk sampai ke detektor (waktu retensinya), hal ini akan teramati oleh detektor dalam bentuk kromatogram (Hendrayana, 2006; Sastrohamidjojo, 2005).

Komponen-komponen dari LC adalah : (Gandjar dan Rohman, 2007).

a. Wadah Fase gerak

Wadah fase gerak harus bersih dan lembam (inert). Wadah pelarut kosong ataupun labu laboratorium dapat digunakan sebagai wadah fase gerak dengan kapasitas 1-2 liter.

b. Pompa

pompa yang mempunyai syarat sebagaimana syarat wadah pelarut yakni: pompa harus inert terhadap fase gerak. Tujuan penggunaan pompa atau sistem penghantaran fase gerak adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduсібel, konstan, dan bebas dari gangguan.

c. Injector

Untuk memasukkan sampel ke dalam kolom.

d. Kolom

terdapat fase diam untuk berlangsungnya proses pemisahan solut/analit

e. Detector

Detektor digunakan untuk mendeteksi analit yang telah dipisahkan.

3.8.2 Mass Spectroscopy (MS)

Spektroskopi Massa adalah suatu metode untuk mendapatkan berat molekul dengan cara mencari perbandingan massa terhadap muatan dari ion yang muatannya diketahui dengan mengukur jari-jari orbit melingkarnya dalam medan magnetik seragam. Penggunaan

kromatografi gas dapat dipadukan dengan spektroskopi massa. Paduan keduanya dapat menghasilkan data yang lebih akurat dalam pengidentifikasian senyawa yang dilengkapi dengan struktur molekulnya (Fowlis, 1998).

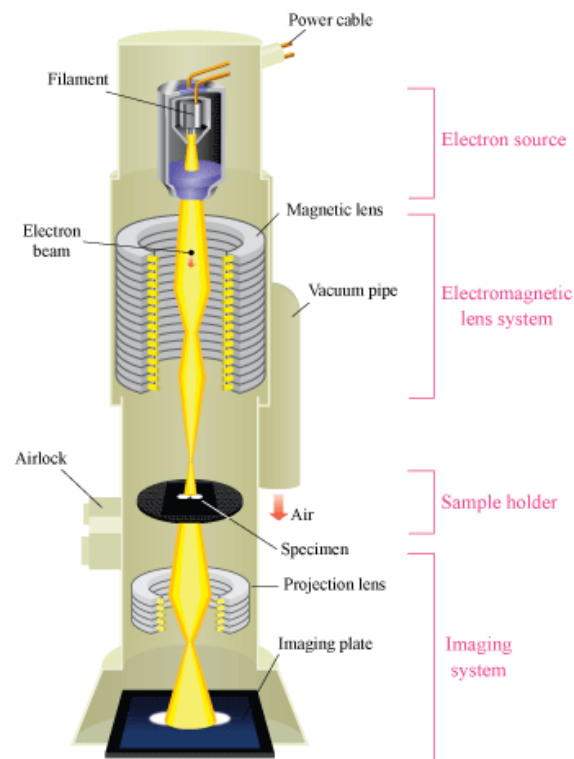
Konsep dari spektrometri massa pada umumnya relatif mudah yaitu suatu senyawa akan terionisasi yang kemudian terjadi pemisahan ion berdasarkan perbandingan massa/muatannya dan selanjutnya jumlah ion yang dihasilkan mewakili setiap satuan massa/muatan terekam sebagai sebuah spektrum. Contoh yang sering digunakan pada mode elctron-impact (EI), alat spektrometer massa akan memisahkan molekul pada fase gas dengan sinar elektron berenergi tinggi serta merekam hasilnya di sebuah spektrum ion positif yang telah terpisah berdasarkan massa per muatan (m/z) (Silverstein, dkk., 2005).

Mass Spectroscopy (MS) bekerja dengan molekul pengion yang kemudian akan memilah dan mengidentifikasi ion menurut massa, sesuai rasio fragmentasi mereka (m/z). Dua komponen kunci dalam proses ini adalah sumber ion (ionsource) yang akan menghasilkan ion, dan analisis massa (mass analyzer) yang menseleksi ion (Agilent, 2001). Spektrometri massa terdiri dari tiga elemen: ion source, mass analyzer, dan detektor. Ion source merupakan komponen yang membuat analit dapat masuk ke dalam spektrometer dan terionisasi. Mass analyzer memisahkan ion dengan massa permuatan dan detektor mencatat jumlah ion yang dihasilkan (Hernandez dkk., 2005).

3.9 *Transmission Electron Microscopy (TEM)*

TEM merupakan instrumen yang memiliki ketelitian lebih tinggi dibandingkan dengan SEM dalam hal pengamatan bentuk fisik partikel. TEM dapat mengamati bayangan hingga ukuran kecil dalam nanometer dengan hasil yang baik. Pada TEM, sampel dibuat sangat tipis dan ditembak dengan berkas elektron yang memiliki energi tinggi sampai menembus permukaannya dan sebagian lagi tidak tembus akibat terhalang oleh partikel. Sama halnya dengan SEM, elektron tersebut kemudian ditangkap dan diterjemahkan sebagai tampilan bayangan gambar dilayar komputer. Hasil karakterisasi TEM lebih lengkap karena dapat menggambarkan bagian dalam sampel. Namun preparasi TEM akan lebih sulit karena sampel harus dibuat setipis mungkin agar dapat dilewati oleh elektron (Abdullah , M khairurrijal, 2009).

TEM mempunyai prinsip kerja yang sama seperti *projector slide* yaitu elektron ditransmisikan ke objek pengamatan dan hasilnya akan teramati melalui layar. Mekanisme kerja TEM adalah pistol elektron berupa lampu tungsten yang terhubung dengan sumber tegangan tinggi sekitar 100-300 kV dan kemudian ditransmisikan pada sampel yang tipis. Pistol tersebut akan memancarkan elektron secara termionik maupun emisis medan magnet ke sistem vakum. elektron tersebar ketika sebuah elektron melewati bagian sampel tipis suatu material. Sebuah sistem lensa elektromagnetik canggih kemudian memfokuskan elektron yang tersebar menjadi sebuah gambar atau pola difraksi maupun spektrum nanoanalitis yang tergantung pada sistem atau mode pengoperasiannya. Setiap mode memberikan penyajian berbeda-beda mengenai sampel. Mode difraksi akan menghasilkan informasi yang akurat tentang struktur kristal pada bagian-bagian tertentu. Mode pencitraan menghasilkan gambar yang dapat memperbesar ukuran sehingga struktur atom langsung dapat diperoleh. Mode nanoanalitik menunjukkan elemen-elemen yang terdapat dalam sampel. Ketiga mode tersebut berguna untuk mencari material yang lebih kuat, keping dengan ukuran mikro yang bisa bekerja lebih cepat atau nanokristal yang lebih kecil didasarkan pada informasi yang alatnya berikan (Hofer, 2014).



Gambar 3. Prinsip kerja TEM

3.10 Particle Size Analyzer (PSA)

Particle Size Analyzer (PSA) memakai prinsip kerja *Laser Diffraction* yaitu penghamburan berkas sinar dan cahaya ketika partikel-partikel melewatinya. Distribusi intensitas penghamburan ini akan menghasilkan distribusi ukuran partikel yang akan dianalisis oleh komputer (Rawle, 2010). Karakteristik nanopartikel yang perlu diketahui antara lain ukuran, distribusi partikel dan zeta potensial dari nanopartikel yang telah dihasilkan.

Metode pengukuran partikel pada PSA (*Particle Size Analyzer*) yang biasanya digunakan ialah metode basah. Jika dibandingkan dengan metode kering atau metode ayakan dan analisa gambar, metode ini dinilai lebih akurat. Terutama sampel dalam orde nanometer yang cenderung mempunyai aglomerasi tinggi. Hal ini disebabkan partikel akan diuraikan ke dalam media dengan demikian partikel tidak saling aglomerasi. sehingga, ukuran partikel yang terbaca ialah ukuran dari single particle. Selain itu hasil pengukuran ditunjukkan dengan bentuk distribusi, sehingga hasil pengukuran dapat dianggap sudah menggambarkan kondisi sampel secara keseluruhan. Melalui analisis PSA hasil distribusi ukuran nanopartikel diharapkan berada pada rentang nanometer dengan keseragaman ukuran yang baik (Rusli, 2011).

3.11 Hipotesis

1. Formulasi SNEDDS dapat menghasilkan ukuran tetesan berupa nanoemulsi. Ukuran tetesan yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh komposisi minyak, surfaktan dan kosurfaktan (Date dkk., 2010).
2. Pengukuran kualitas dari nanoemulsi fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) menggunakan instrumen *particle size analyzer* (PSA) mempengaruhi bentuk morfologi nanoemulsi yang dihasilkan.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Riset dan Pengembangan Kimia, Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas MIPA, dan Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia, serta Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, D.I.Yogyakarta.

4.2 Alat dan bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu serbuk daun jambu biji (*Psidium Guajava L*) yang diperoleh dari pasar jamu-jamu tradisional Yogyakarta, etanol teknis 96%, etil asetat, tween 20, capryol, PEG, aquadest, PBS(*Phospat buffer saline*), media kultur RPMI, tripsin-EDTA, DMSO(Dimetil Sulfoksida), SDS (Sodium Dodesil Sulfat) 10% dalam 0,1 N HCl, DMEM (*Dulbecco's Modified EagleMedium*).

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Particle Size Analyzer* (Horiba Scientific, Nano Particle Analyzer SZ-100), seperangkat alat gelas (Pyrex), *syringe pump* (SPLab02 Shenchen, China), *magnetic stirer*, *rotary evaporator*, *Transmission Electron Microscopy*, timbangan analitik (Ohaus Pioneer PA214, China), sonikator, oven.

4.3 Identifikasi Variabel

Pada percobaan kali ini variabel-variabel yang digunakan ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. variabel penelitian

Capryoll	Tween 20	PEG	Konsetrasi %
30	50	20	40
30	50	20	60
30	50	20	80

4.4 Cara Kerja

Proses penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan, yaitu persiapan bahan baku, uji determinasi, ekstraksi, fraksinasi, analisis dengan LC-MS/MS, penapisan fitokimia, Pembuatan nanoemulsi, uji PSA, uji TEM.

4.4.1 Penyiapan Daun Jambu Biji

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daun dari jambu biji (*Psidium guajava* L.) diasumsikan sebagai variabel bebas dimana bahan baku tersebut didapatkan dari membeli kepada penyedia bahan baku. Bahan baku tersebut dikering-anginkan sampai kering. Sebanyak 700 gram sampel kering selanjutnya diblender hingga menjadi serbuk. Serbuk disimpan dalam botol untuk digunakan pada langkah penelitian selanjutnya.

4.4.2 Uji Determinasi

Uji determinasi dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Universitas Gajah Mada D.I Yogyakarta. Dengan sampel berupa ranting tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) beserta daun dan bunganya.

4.4.3 Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Cara maserasi digunakan untuk melakukan ekstraksi yaitu dengan memasukkan 750 gram serbuk kering simplisia ke dalam botol kemudian dilakukan penambahan etanol 96% yang dilanjutkan dengan menutup rapat botol. Selama 24 jam dilakukan perendaman, setelah itu dipisahkan maserat dengan menggunakan corong Buchner, diulangi maserasi kurang lebih tiga kali. Perolehan maserat dipekatkan dengan *vakum rotary evaporator* disuhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ agar mendapatkan ekstrak kental. Hasil yang didapat kemudian ditimbang dan dihitung untuk mengetahui % rendemen yang didapatkan menggunakan persamaan (1).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat akhir sampel (g)}}{\text{berat awal sampel (g)}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

4.4.4 Fraksinasi

Ekstrak kental etanol 96% sebanyak 263,935 gram diimpregnasi menggunakan silika dan dilakukan fraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom menggunakan pelarut etil asetat. Fraksi yang diperoleh dipisahkan kembali dengan *vakum rotary evaporator* pada temperatur ± 50 °C untuk mendapatkan ekstrak kental. Hasil kemudian ditimbang dan dihitung untuk mengetahui % rendemen yang didapatkan menggunakan persamaan (1).

4.4.5 Analisis Dengan LC-MS/MS

Analisis dilakukan di Pusat Penelitian kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Dengan sampel berupa ekstrak kental daun jambu biji (*Psidium guajava* L.).

4.5 Penapisan Fitokimia

4.5.1 Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan fraksi etil asetat ke dalam 5 mL pelarutnya, kemudian dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama dijadikan sebagai tabung kontrol. Tabung kedua tiap fraksi ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff dan Wagner. Terbentuknya endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid. Reaksi dengan pereaksi dragendorff akan terbentuk endapan merah jingga dan dengan pereaksi wagner terbentuk endapan coklat (Harborne, 1987).

4.5.2 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan melarutkan fraksi etil asetat ke dalam 5 mL pelarutnya, kemudian dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama dijadikan sebagai tabung kontrol. Tabung kedua ditambahkan 0,05 gram serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 1987).

4.5.3 Uji Tanin/Fenol

Uji tannin/polifenol dilakukan dengan melarutkan fraksi dilarutkan fraksi etil asetat dengan 5 mL pelarutnya, kemudian dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama sebagai kontrol, tabung kedua ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1%. Uji positif ditandai dengan munculnya warna hitam atau biru tua (Harborne, 1987).

4.5.4 Uji Terpenoid

Uji terpenoid dilakukan dengan melarutkan fraksi etil asetat dengan 5 mL pelarutnya, kemudian dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama sebagai kontrol, tabung kedua ditambahkan asam asetat anhidrat 0,5 mL dan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Terbentuknya cincin biru kehijauan menunjukkan adanya steroid, sedangkan adanya terpenoid ditunjukkan dengan cincin kecoklatan pada perbatasan larutan (Ciulei, 1984).

4.6 Pembuatan SNEDDS

Setiap formulasi dibuat sebanyak 1,25 ml dengan konsentrasi fraksi 40%, 60% dan 80%. Pembuatan SNEDDS dilakukan dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) sebanyak 0,5 g ; 1 g dan 1,5 g, masing-masing dimasukkan ke dalam vial, kemudian masing-masing vial ditambahkan 0,125 mL Capryoll, 0,875 mL tween 20, dan 0,25 mL PEG (Poli Etylen Glikol) 400. Setiap penambahan bahan disonikasi selama 4x2 menit.

4.7 Uji PSA

4.7.1 Ukuran Partikel

Sebanyak 1 ml formulasi SNEDDS dilarutkan dalam 100 ml akuades, diaduk perlahan hingga membentuk dispersi. Selanjutnya diukur ukuran partikel masing-masing formulasi menggunakan Particle Size Analyzer (PSA) (Rahayu, 2016).

4.7.2 Zeta Potensial

Formulasi SNEDDS yang telah dibuat dilarutkan dalam aquades (1:100) dicampur dengan ultrasonik sampai homogen, kemudian larutan jernih ditentukan nilai zeta potensialnya dengan menggunakan Particle size analyzer (PSA) (Rahayu, 2016).

4.8 Uji TEM

Terhadap formulasi SNEDDS yang paling optimal diambil sebanyak 1 ml dilarutkan dalam 100 ml akuades, kemudian diambil 1 tetes larutan tersebut dan diteteskan pada copper grid yang telah dilapisi dengan alat Auto Carbon Coated (JOEL JEC-560, Japan). Kemudian dimasukkan ke dalam holder dan dianalisis pada percepatan 120 kV dengan magnifikasi 60000 (kristiani dkk., 2019).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman berfungsi untuk mengetahui kandungan kandungan juga kebenaran dari tanaman jambu biji yang digunakan sebagai bahan uji. Tujuan dilakukannya hal ini yaitu agar dapat menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan digunakan sebagai bahan penelitian. Determinasi dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Berdasarkan hasil determinasi, diketahui bahwa sampel tanaman jambu biji yang digunakan berasal dari spesies *Psidium guajava* L., famili *myrtaceae*, Ordo *myrtales*, kelas *magnoliopsida*, sub divisi *spermatophytina*, divisi *tracheophyta*. Hasil determinasi disajikan pada Lampiran 1.

5.2 Preparasi Sampel

Sebelum melakukan peparasi sampel adapun beberapa perlakuan yang terlebih dahulu yang mesti dilakukan yaitu proses pencucian, pengeringan, dan penghancuran. Daun jambu biji dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terpapar sinar matahari langsung untuk menghindari kerusakan komposisi kimia pada sampel daun jambu biji. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dan mencegah tumbuhnya jamur pada duan jambu biji, sehingga daun dapat tahan lebih lama. Daun jambu biji yang telah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk. Memperkecil ukuran daun dilakukan untuk memperbesar luas permukaan, sehingga kontak antara sampel dan pelarut juga semakin besar. Hal ini dapat memudahkan proses pengambilan komponen kimia yang terdapat dalam daun jambu biji.

5.3 Ekstraksi Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.)

Sampel serbuk daun jambu biji diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Penggunaan pelarut etanol 96% karena sifatnya polar dan sangat volatil sehingga baik digunakan sebagai pelarut ekstrak (Aafifah, 2012). Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada suhu ruangan sehingga dapat menghindari rusaknya metabolit sekunder yang bersifat termolabil. Saat perendaman sampel akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam

dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Mukhriani, 2014; Darwis, 2000). Proses maserasi dilakukan dengan metode 750 gram sampel direndam dalam botol kaca dengan suhu ruang pada jangka waktu 24 jam.

Saat proses ekstraksi berlangsung rendaman yang disimpan dalam suhu ruang tersebut terlindungi dari sinar matahari secara langsung agar mencegah terjadinya reaksi katalisis oleh sinar matahari, supaya tidak terjadi kerusakan metabolit sekunder pada sampel. Maserat yang masih mengandung pelarut kemudian dipekatkan menggunakan vakum rotary evaporator pada temperatur ± 50 °C hingga tidak terdapat lagi pelarut yang tersisa. Rendemen yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 2 dan perhitungan rendemen pada Lampiran.

Tabel 2. Hasil rendemen ekstrak etanol daun jambu biji

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%)
750	263,935	35,19

Pada tahap ini juga dilakukan uji organoleptik untuk mengetahui bentuk fisik dari ekstrak daun jambu biji (*Psidium Guajava L.*). Proses uji dilakukan secara manual dengan penglihatan secara langsung yang tertulis di Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengujian organoleptik ekstrak etanol daun jambu biji

Analisis ekstrak	Hasil
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Hijau tua pekat
Bau	Khas jambu buji

5.4 Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava L.*)

Pada penelitian ini tujuan dari fraksinasi yaitu untuk mengelompokkan kandungan senyawa yang ada pada ekstrak berdasarkan kepolarannya dengan menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi. Pemisahan komponen secara kromatografi kolom dilakukan dalam suatu kolom yang diisi dengan fase diam dan dialiri fase gerak untuk memisahkan komponen dengan memanfaatkan kepolaran senyawa dan gaya gravitasi (Mutmainnah dkk., 2017). Prinsip dari kromatografi kolom gravitasi ini yaitu terdapat fase diam dan dialiri fase gerak untuk memisahkan komponen berdasarkan kepolaran senyawa dengan gaya gravitasi. Fase diam berupa silica gel dan fase geraknya adalah pelarut etil asetat, sehingga senyawa yang didapat adalah senyawa yang bersifat semi-polar, karena etil asetat bersifat semi-polar. Fraksi yang masih mengandung pelarut kemudian dipekatkan menggunakan vakum rotary evaporator pada temperatur ± 50 °C hingga tidak terdapat lagi pelarut yang tersisa. Rendemen yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4 dan perhitungan rendemen pada Lampiran

Tabel 4. Hasil rendemen fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji.

Berat fraksi (g)	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%)
263,93	46,06	17,45

Sama halnya dengan proses maserasi, pada proses ini juga dilakukan pemeriksaan secara organoleptik terhadap fraksi etil asetat daun jambu biji (*Psidium Guajava L.*) dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji organoleptik fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji.

Organolepsi	Hasil
Bentuk	Cairan kental
Warna	Hijau tua
Bau	Tidak berbau

5.5 Penapisan Fitokimia

Skrining fitokimia adalah metode untuk menentukan jenis metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan karena sifatnya yang dapat bereaksi secara khas dengan pereaksi tertentu. Tujuan skrining fitokimia untuk memberikan gambaran mengenai golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu ekstrak secara kualitatif (Kristanti dkk., 2008). Uji fitokimia merupakan salah satu uji yang bertujuan untuk menentukan kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam sampel, pengujian dilakukan dengan melihat adanya perubahan warna, terjadi buih atau endapan setelah diberikan pereaksi khusus terhadap masing-masing golongan senyawa. Uji yang dilakukan meliputi pengujian polifenol/tanon, terpenoid, flavanoid dan alkaloid. Hasil uji pada Tabel 6.

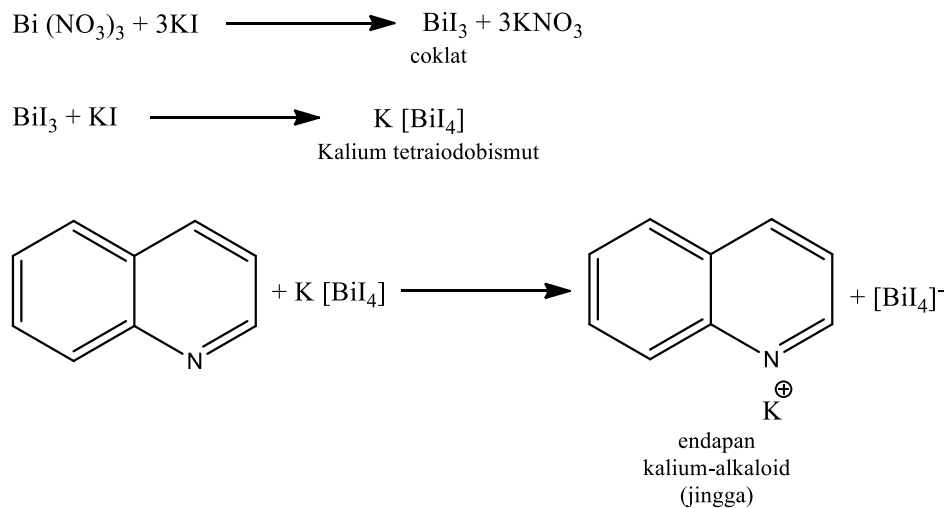
Tabel 6. Hasil uji fitokimia fraksi daun jambu biji

Bahan uji	Uji fitokimia	Pereaksi	pengamatan	Hasil uji
	Alkaloid	<i>Dragondorff</i>	Larutan kuning kecoklatan	-
Fraksi etil asetat	Flavonoid	HCl + Mg	Ada endapan (larutan hijau)	+
	Tanin/polifenol	FeCl ₃	Ada endapan (Larutan kehijauan)	+
	Terpenoid	Asam asetat anhidrat +H ₂ SO ₄	Ada endapan (Larutan kehijauan)	+

Keterangan : (+) : Positif (terdapat senyawa)
(-) : Negatif (tidak terdapat senyawa)

5.5.1 Uji Alkaloid

Uji adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan warna jingga pada pereaksi *Dragendorff* yang dibuat dari bismuth nitrat dan dilarutkan pada HCl. Penambahan asam bertujuan untuk mencegah reaksi hidrolisis bismut karena garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil. Hasil positif uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid yang berasal dari pembentukan ikatan kovalen koordinasi antara atom N pada alkaloid dengan ion K^+ yang merupakan ion logam. Reaksi pada uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 10.



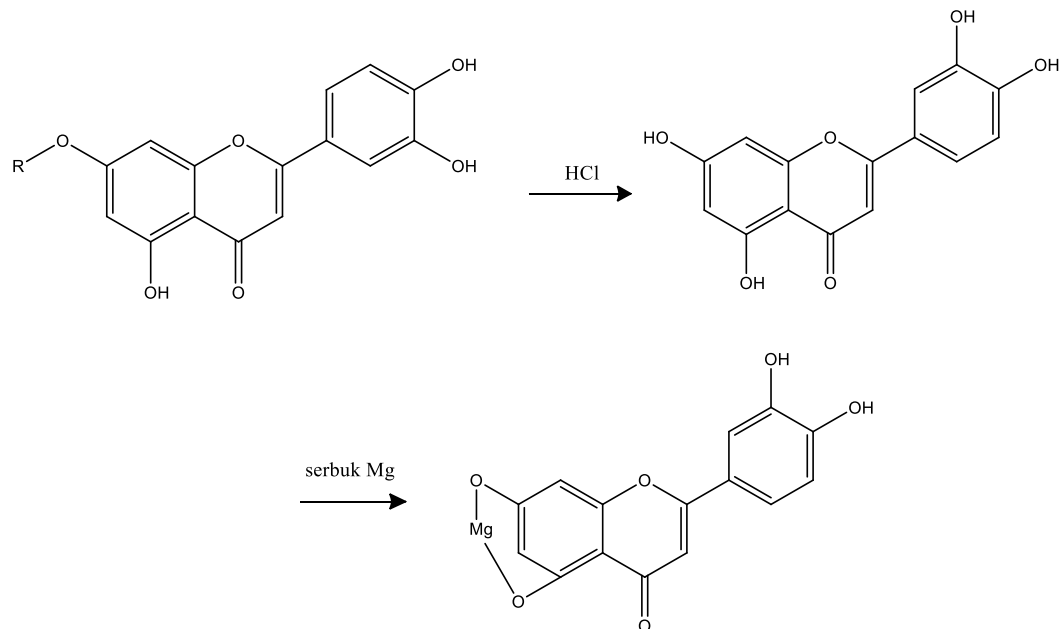
Gambar 4. Reaksi pada uji alkaloid (Setyowati dkk., 2014).

Berdasarkan hasil uji yang telah dilakukan, fraksi etil asetat daun jambu biji menunjukkan hasil negatif, yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan yang berwarna jingga.

5.5.2 Uji Flavanoid

Senyawa flavonoid dilaporkan memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antibakteri, antidepresan, antioksidan dan antitumor. Senyawa golongan flavonoid

merupakan senyawa polifenol dengan susunan C₆-C₃-C₆ sebagai kerangka dasar. Uji flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Wilstater yaitu HCl dan serbuk Mg. Penambahan HCl pekat dimaksudkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H⁺ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa (Marliana dkk., 2005). Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton. Hal ini menandakan bahwa flavonoid bereaksi dengan pereaksi HCl dan Mg. Reaksi yang terjadi ditunjukkan seperti Gambar 5.



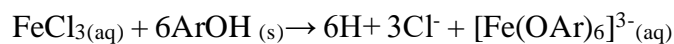
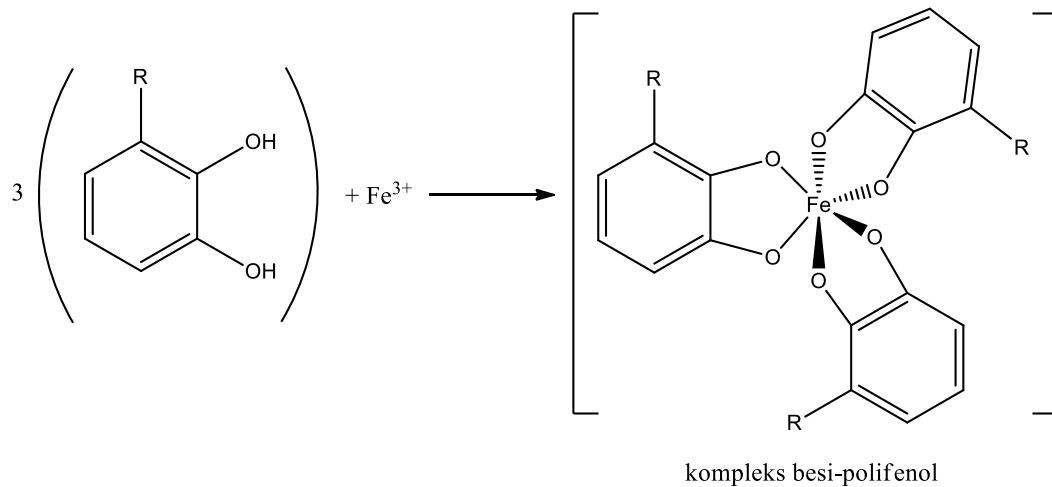
Gambar 5. Reaksi flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat.

Berdasarkan hasil uji flavonoid yang telah dilakukan menunjukkan hasil yang positif dengan adanya perubahan warna larutan yang menjadi warna hijau juga terbentuknya endapan, dengan ini menunjukkan adanya glikon yang bereaksi dengan pereaksinya.

5.5.3 Uji Tanin/Polifenol

Tanin memiliki kemampuan mengendapkan protein sehingga merupakan bagian himpunan dari polihidroksi fenol yang dapat dibedakan dari fenol lain, hal ini terbukti ketika tanin direaksikan dengan gelatin akan membentuk suatu endapat. Endapan tersebut disebabkan karena antara tanin dan protein pada gelatin terdapat ikatan hidrogen. Ikatan terbentuk karena atom H terikat dengan 2 atom O atau terikat dengan atom O dan N dari struktur tanin dan gelatin (Sriwahyuni, 2010). Pada tumbuhan, tanin mempunyai fungsi untuk pertahanan diri dari serangan fungi, bakteri, insekta herbivore, virus, dan vertebrata herbivora. Bukan hanya itu, tannin juga berperan dalam pencegahan degradasi nutrisi yang berlebihan dalam tanah. (Leinmuller et al, 1991).

Uji tanin dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 . Uji ini akan memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau kehitaman pada sampel. Tanin apabila direaksikan dengan FeCl_3 akan membentuk warna hijau kehitaman. Terjadinya warna hijau kehitaman ini karena terbentuknya senyawa kompleks antara logam Fe dan gugus hidroksil pada senyawa tanin (Effendy, 2007). Reaksi uji tanin atau polifenol dengan FeCl_3 ditunjukkan pada Gambar 6.



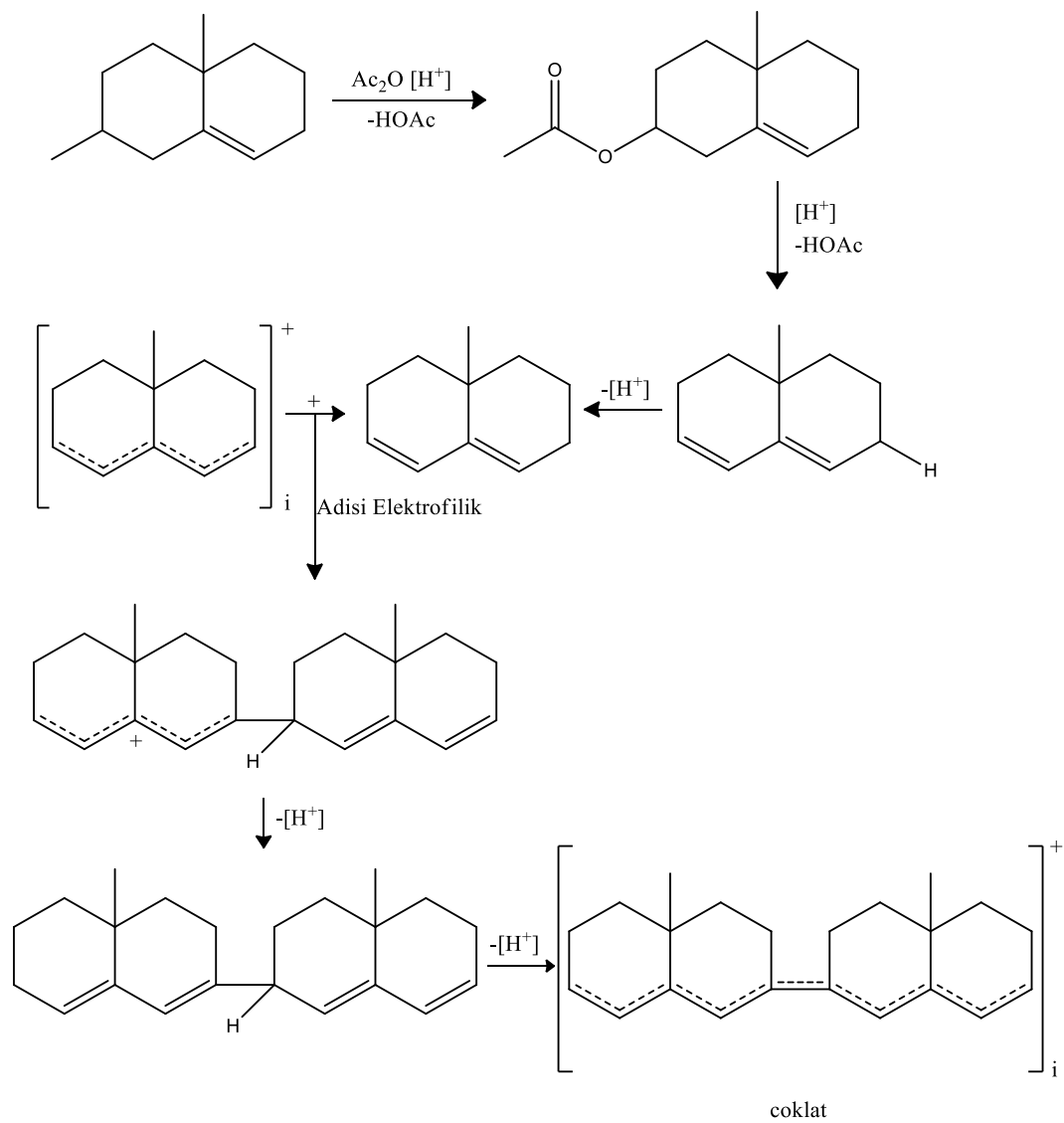
Gambar 6. Reaksi uji tanin atau polifenol dengan FeCl_3 .

Berdasarkan hasil uji tanin/polifenol yang telah dilakukan, hasil yang ditunjukkan merupakan hasil yang positif, karena terjadinya perubahan larutan menjadi hijau juga terbentuknya endapan berwarna hitam, hal ini menunjukkan adanya senyawa tanin yang bereaksi dengan FeCl_3 .

5.5.4 Uji Terpenoid

Uji terpenoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Liebermen-Burchard yaitu berupa campuran antara asam asetat anhidrat dengan H_2SO_4 pekat. Terbentuknya cincin kecoklatan pada perbatasan larutan menunjukkan adanya senyawa terpenoid (Ciulei, 1984). Dimana timbulnya warna tersebut disebabkan oleh adanya oksidasi pada senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsip dalam reaksi uji terpenoid adalah kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan karbokation. Reaksi tersebut dimulai dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrat. Kemudian gugus asetil lepas dan terbentuk ikatan rangkap. Reaksi berlanjut dengan terjadinya pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya dan mengakibatkan ikatan rangkap berpindah.

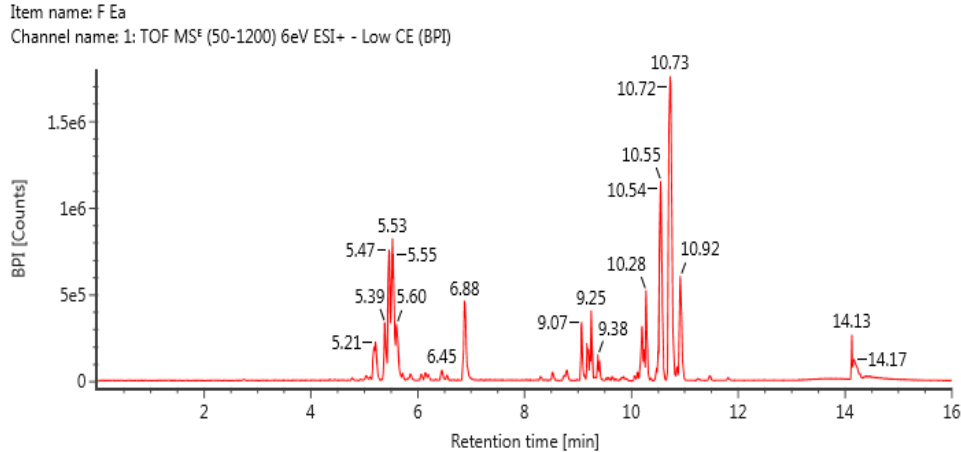
Selanjutnya senyawa mengalami resonansi dan bertindak sebagai karbokation. Karbokation menyebabkan terjadi reaksi adisi elektrofilik, diikuti dengan pelepasan hidrogen beserta elektronnya, sehingga senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan warna coklat pada larutan (Siadi, 2012). Reaksi tersebut dapat ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Reaksi pada uji terpenoid dengan pereaksi *Liebermann Burchard* (Setyowati dkk.,2014).

5.6 Analisis kandungan senyawa dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dengan LC-MS/MS

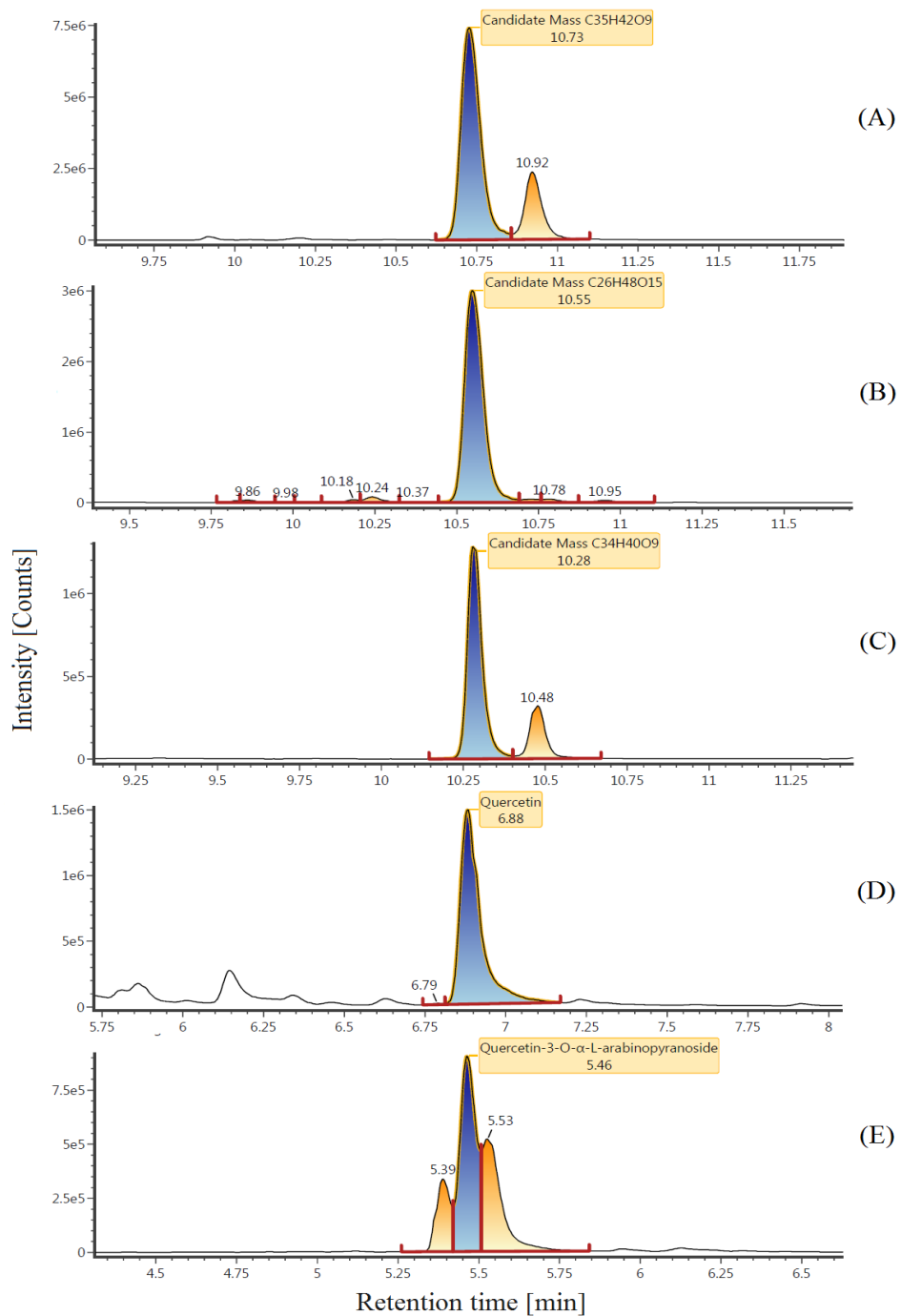
Liquid chromatography-tandem massspectrometry adalah teknik analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifikasi deteksi spektrometri massa. Kromatografi cair memisahkan komponen komponen sampel dan kemudian ion bermuatan dideteksi oleh spektrometer massa, data LC-MS/MS dapat digunakan untuk memerikan informasi, tentang berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu (Sumbono, 2010). Gambar 8 menunjukkan kandungan senyawa dalam fraksi etil asetat daun jambu biji. Hal tersebut ditunjukkan dari munculnya beberapa puncak yang cukup tajam/ dominan diataranya puncak lain dengan waktu retensi 10.55; 10.73; 5.47; 6.89; 10.29. Puncak-puncak tersebut merupakan suatu senyawa yang diduga masih berupa campuran atau belum tunggal karena dalam sebuah fraksi seharusnya masih terdiri dari berbagai macam senyawa. Sehingga pada beberapa puncak yang intensitasnya cukup tinggi dipisahkan kembali dan didapatkan spektrum massa. Kromatogram dari fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava L.*) dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Kromatogram fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava L.*).

Gambar 8 menunjukkan beberapa puncak dengan waktu retensi yang berbeda - beda, setiap puncak dalam kromatogram merepresentasikan komponen tertentu. Setidaknya terdapat 5 puncak dengan intensitas terbesar pada waktu retensi yang

berbeda-beda, hal ini menunjukkan bahwa terdapat 5 senyawa yang paling dominan di dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*), seperti yang ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Kromatogram senyawa yang teridentifikasi oleh LC-MS/MS, (A) waktu retensi 10.73 (B) 10.55 (C) 10.28 (D) 6.88 (E) 5.46.

Gambar 9 menunjukkan kromatogram dari senyawa yang teridentifikasi, kelima senyawa memiliki waktu retensi yang berbeda-beda yaitu kromatogram (A) 10.73 (B) 10.55 (C) 10.28 (D) 6.88 (E) 5.46. Waktu retensi adalah waktu yang dibutuhkan oleh senyawa untuk bergerak melalui kolom menuju detektor. Waktu retensi berhubungan dengan kepolaran dari senyawa yang teridentifikasi karena adanya interaksi antara senyawa didalam sampel dan fase diam yang tersembankan didalam kolom. Fase diam yang digunakan bersifat non polar, sehingga senyawa yang memiliki waktu retensi terbesar adalah senyawa yang bersifat non polar dan akan terdeteksi terlebih dahulu oleh detector. Dari waktu retensi tersebut maka dapat diketahui urutan kepolaran senyawa yang teridentifikasi.

Senyawa yang telah dipisahkan oleh kromatografi akan diubah menjadi ion positif menggunakan sumber ion ESI (+). Hasil perolehan ion akan dipisahkan dengan analisator jenis Q-ToF-MS yang hasilnya akan diideteksi oleh detektor sehingga diperoleh spektrum massa yang akan menunjukkan berat molekul (m/z) dan intensitas sinyal yang akan memprediksi formula dan struktur senyawa yang teridentifikasi.

Pengenalan teknik ionisasi tekanan atmosfer (atmospheric pressure ionization / API) sangat memperluas jumlah senyawa yang dapat dianalisis dengan LC-MS/MS. Pada teknik ionisasi tekanan atmosfer, molekul analit terionisasi terlebih dahulu pada tekanan atmosfer. Ion-ion analit tersebut kemudian secara mekanis dan elektrostatis terpisah dari inti molekul. Teknik ionisasi tekanan atmosfer umumnya adalah:

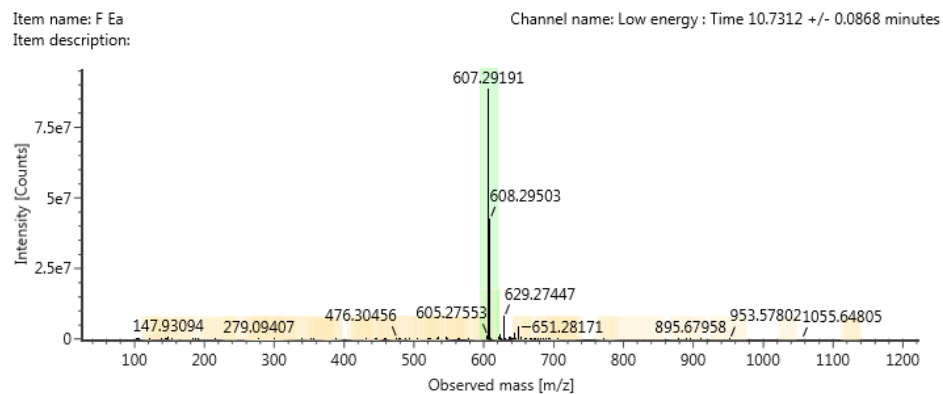
1. ionisasi elektrospray (electrospray ionization / ESI)
2. ionisasi kimia tekanan atmosfer (APCI)
3. photoionisasi tekanan atmosfer (APPI)

Dalam setiap pengukuran, sifat analit dan kondisi pemisahan memiliki pengaruh kuat untuk memberikan hasil terbaik dalam teknik ionisasi pada elektrospray, APCI, maupun APPI. Teknik yang paling efektif tidak selalu mudah untuk diprediksi (Agilent, 2001).

Tabel 7. Hasil analisis LC-MS/MS dengan sumber pengionan positif.

Nama senyawa	Observed m/z	Neutral mass (Da)	Observed RT (min)	Detector counts	Formula
<i>Candidate Mass</i> C ₃₅ H ₄₂ O ₉	607,2919	606,28288	10,73	4891824	C ₃₅ H ₄₂ O ₉
<i>Candidate Mass</i> C ₂₆ H ₄₈ O ₁₅	623,2871	600,29932	10.55	1917874	C ₂₆ H ₄₈ O ₁₅
<i>Candidate Mass</i> C ₃₄ H ₄₀ O ₉	593,2764	592,26723	10.29	543388	C ₃₄ H ₄₀ O ₉
Quercetin	303,0502	302,04265	6.88	663676	C ₁₅ H ₁₀ O ₇
Quercetin-3-O- α -L-arabinopyranoside	435,0925	434,08491	5.47	469330	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁

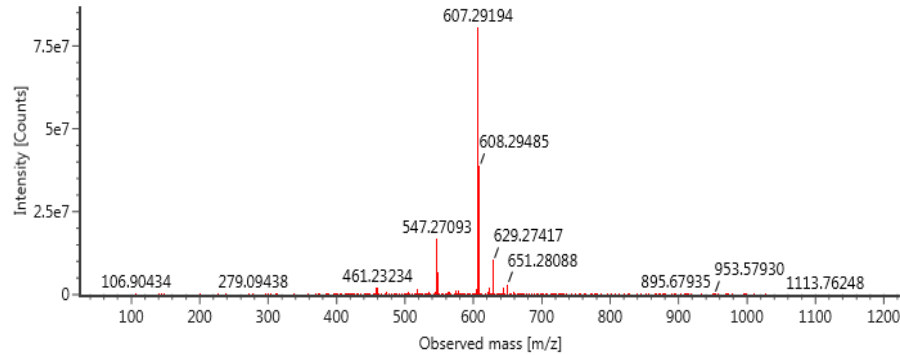
Tabel 7 menunjukkan bahwa terdapat 5 senyawa yang terdeteksi oleh MS yaitu *Candidate Mass* C₃₅H₄₂O₉ dengan waktu retensi 10,73, *Candidate Mass* C₂₆H₄₈O₁₅ pada 10,55, *Candidate Mass* C₃₄H₄₀O₉ pada 10,29, Quercetin pada 6,88 dan Quercetin-3-O- α -L-arabinopyranoside pada 5,47 menit.



(A)

Item name: F Ea
Item description:

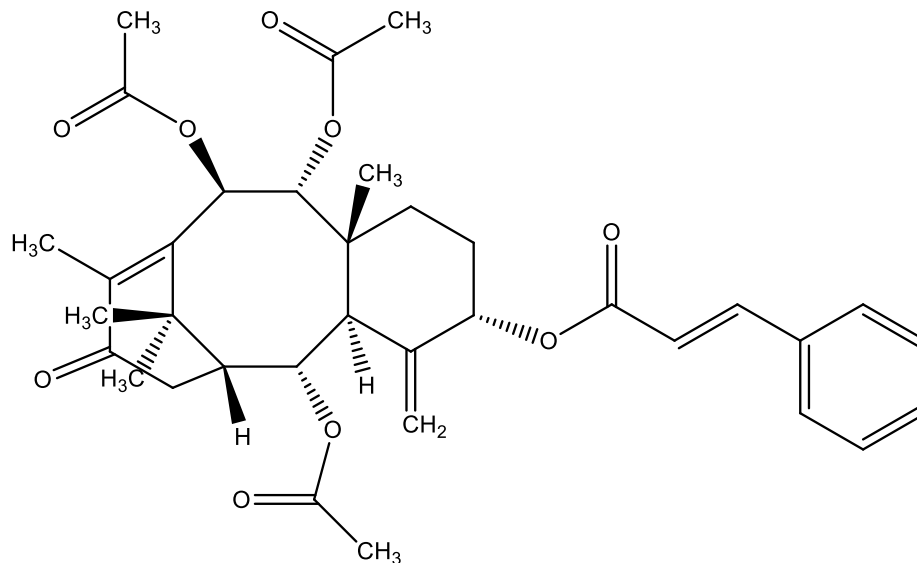
Channel name: High energy : Time 10.7312 +/- 0.0868 minutes



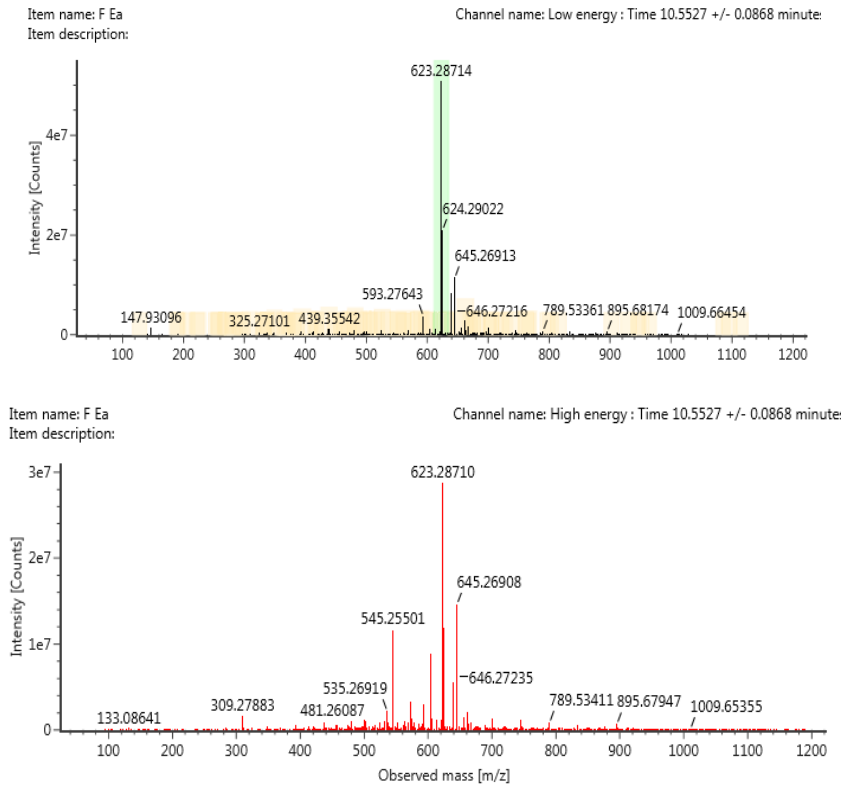
(B)

Gambar 10. Spektrum massa senyawa kandidat $C_{35}H_{42}O_9$, (A) *low energy* (B) *high energy*.

Gambar 10 menunjukkan spektrum massa senyawa kandidat $C_{35}H_{42}O_9$. Telah diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 606,28288 (Da), namun berat molekul yang teridentifikasi sebesar 607,2919 m/z. Diperkirakan senyawa tersebut merupakan Taxinine. Ini terjadi dikarenakan molekul yang teridentifikasi teradisi oleh 1 proton H^+ sehingga berat molekul analit ditambah dengan berat 1 atom H yaitu 1.

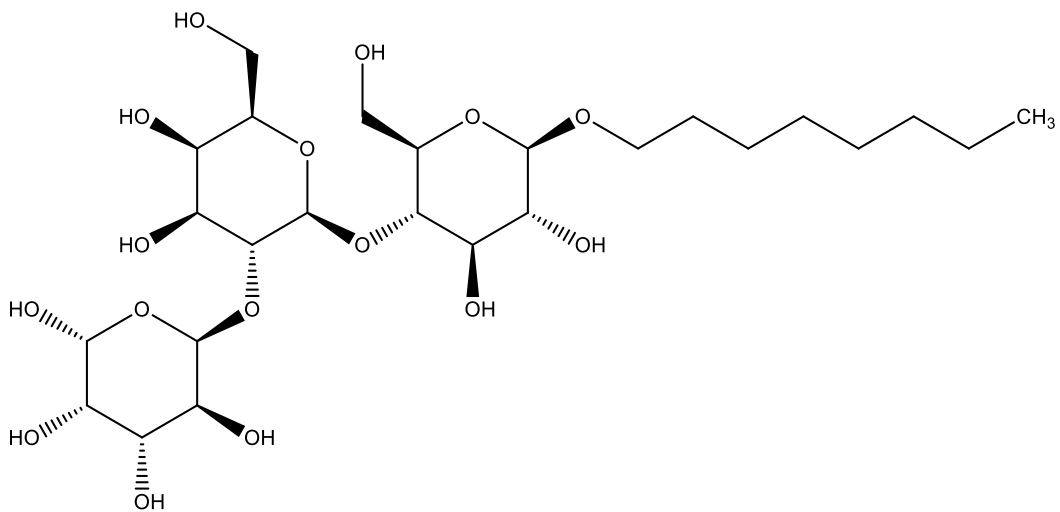


Gambar 11. Struktur senyawa taxinine

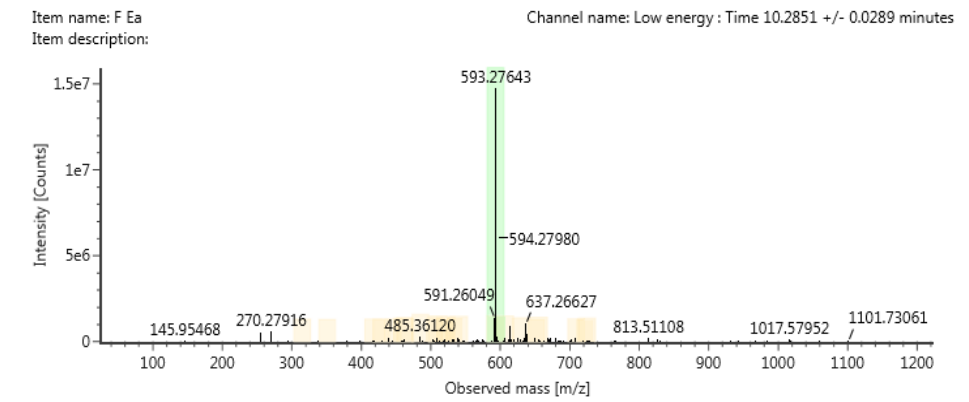


Gambar 12. Spektrum massa senyawa kandidat $C_{26}H_{48}O_{15}$, (A) *low energy* (B) *high energy*.

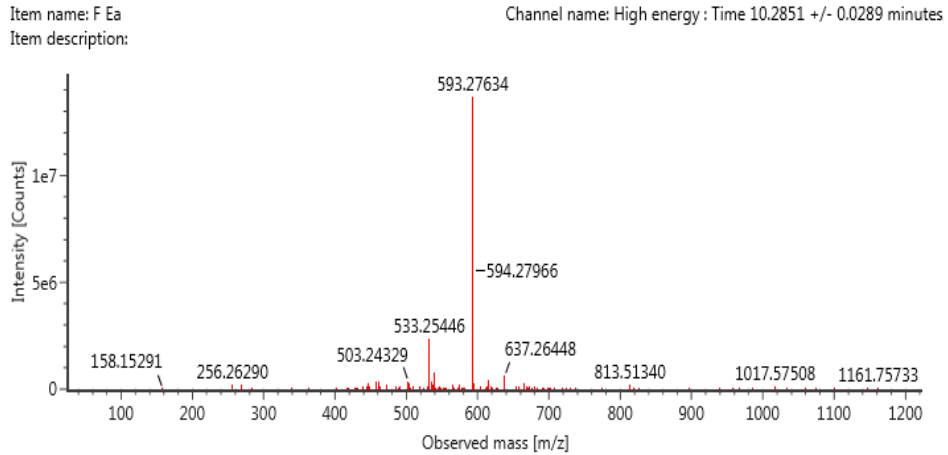
Pada gambar 12 menunjukkan spektrum massa senyawa kandidat $C_{26}H_{48}O_{15}$. Telah diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 600,29932 (Da), namun berat molekul yang teridentifikasi adalah 623,2871 m/z. Diperkirakan senyawa tersebut merupakan oktil 4-O-[2-O-(α -L-fukopiranosil)- β -D-galaktopiranosil]- β -D-glukopiranosida. Ini karena molekul yang teridentifikasi teradisi oleh 1 proton Na^+ sehingga berat molekul analit ditambah dengan berat 1 atom Na yaitu 23.



Gambar 13. Struktur senyawa oktil 4-O-[2-O-(α -L-fukopiranosil)- β -D-galaktopiranosil]- β -D-glukopiranosida.



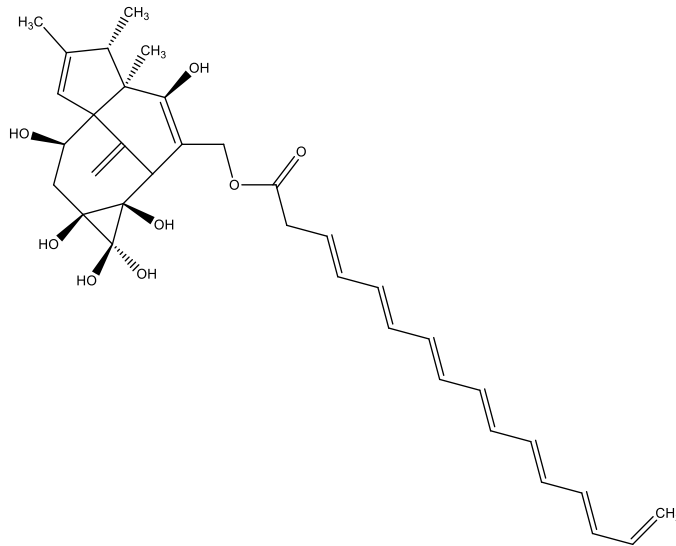
(A)



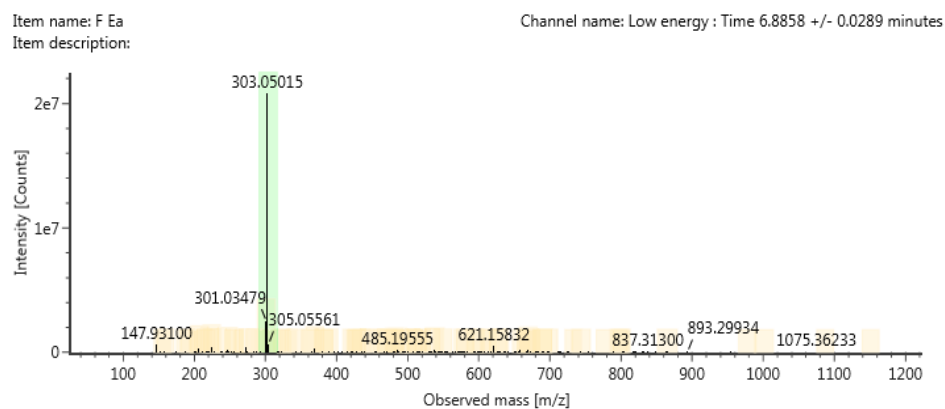
(B)

Gambar 14. Spektrum massa senyawa kandidat $C_{34}H_{40}O_9$, (A) *low energy* (B) *high energy*.

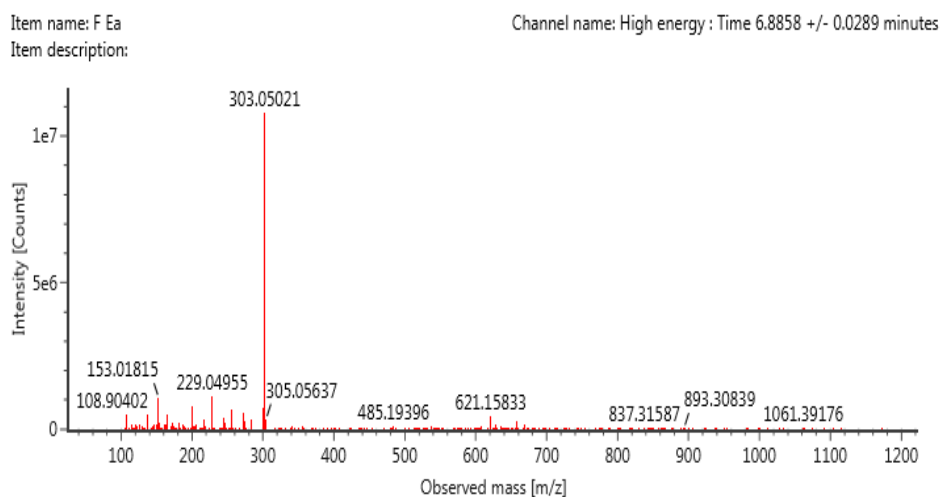
Pada gambar 14 spektrum massa senyawa kandidat $C_{34}H_{40}O_9$. Telah diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 592,26723 (Da), namun berat molekul yang teridentifikasi adalah 593,2764 m/z, Diperkirakan senyawa tersebut merupakan 17-hidroksiingenol. Ini karena molekul yang teridentifikasi teradisi oleh 1 proton H^+ sehingga berat molekul analit ditambah dengan berat 1 atom H yaitu 1.



Gambar 15. Struktur senyawa 17-hidroksiingenol.



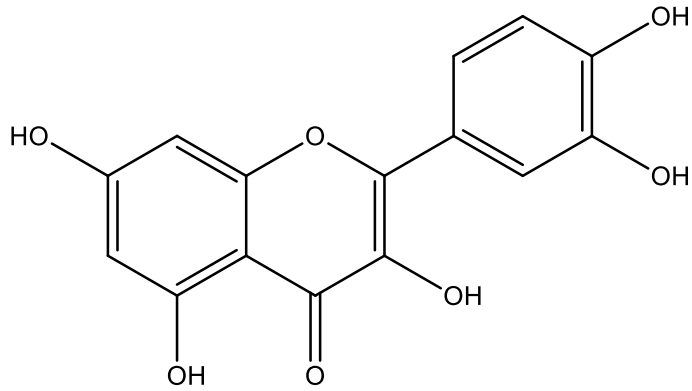
(A)



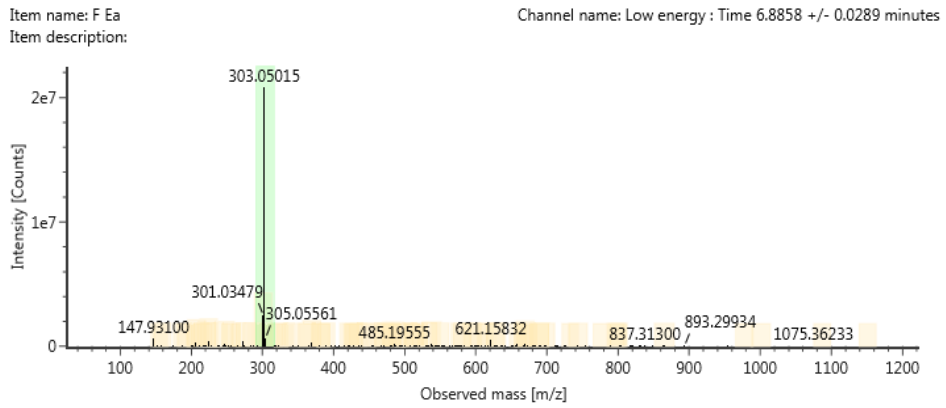
(B)

Gambar 16. Spektrum massa quercetin, (A) *low energy* (B) *high energy*.

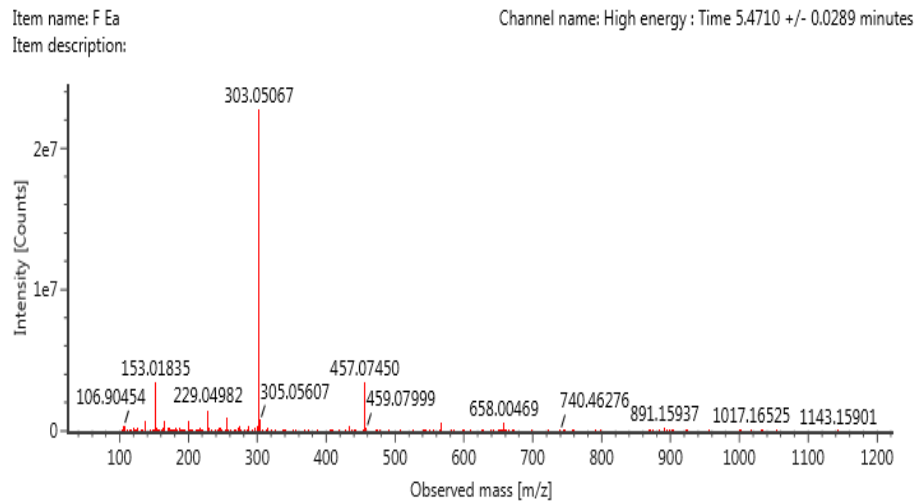
Gambar 16 menunjukkan spektrum massa quercetin dengan formula $C_{15}H_{10}O_7$, Dilihat dari formulanya bahwa senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 302,04265 (Da) , namun berat molekul yang teridentifikasi adalah 303,0502m/z, ini karena molekul yang teridentifikasi teradisi oleh 1 proton H^+ sehingga berat molekul analit ditambah dengan berat 1 atom H yaitu 1.



Gambar 17. Struktur senyawa quercetin.



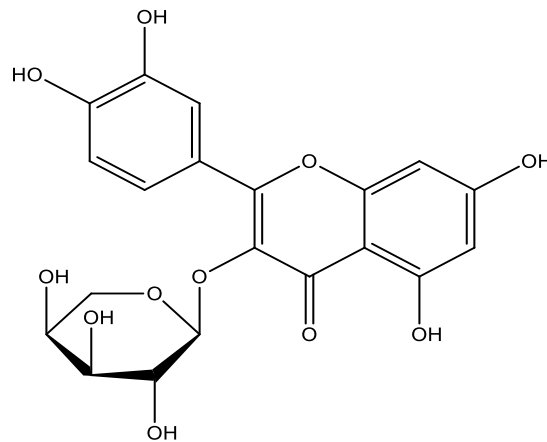
(A)



(B)

Gambar 18. Spektrum massa quercetin-3-O- α -L-arabinopiranosida, (A) *low energy* (B) *high energy*.

Pada gambar 18 menunjukkan bahwa spectra massa quercetin-3-O- α -L-arabinopiranosida dengan formula $C_{20}H_{18}O_{11}$. Telah diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 434,08491 (Da), namun berat molekul yang teridentifikasi adalah 435,0925m/z, ini karena molekul yang teridentifikasi teradisi oleh 1 proton H^+ sehingga berat molekul analit ditambah dengan berat 1 atom H yaitu 1.



Gambar 19. Struktur senyawa quercetin-3-O- α -L-arabinopiranosida.

Untuk menentukan senyawa manakah yang paling banyak terkandung di dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dapat dilihat pada Tabel 7, dari data *detector counts*. Dari data tersebut maka dapat diketahui bahwa senyawa terbanyak yang terkandung di dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) adalah senyawa kandidat $C_{35}H_{42}O_9$, senyawa kandidat $C_{26}H_{48}O_{15}$, quercetin, senyawa kandidat $C_{34}H_{40}O_9$, quercetin-3-O- α -L-arabinopiranosida.

Pada analisis kandungan senyawa dengan LC-MS/MS ini terdapat 5 senyawa yang teridentifikasi diantaranya $C_{26}H_{48}O_{15}$, $C_{35}H_{42}O_9$, Quercetin-3-O- α -L-arabinopyranoside, Quercetin, $C_{34}H_{40}O_9$. Daud M., dkk (2011) membuktikan bahwa salah satu senyawa flavonoid

yang terkandung dalam daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) yang memiliki potensi sebagai antikanker yaitu Quercetin. Karyani (2005) juga membuktikan bahwa daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) mengandung Quercetin dalam kadar yang tinggi yaitu sebesar 61,71%. Quercetin (3,3',4,5,7-pentahydroxyflavone) dapat beraksi sebagai antikanker pada regulasi siklus sel, berinteraksi dengan reseptor estrogen (ER) tipe II dan menghambat enzim tirosin kinase (Lamson dkk., 2000).

5.7 Pembuatan SNEDDS fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava L.*)

SNEDDS merupakan suatu sistem penghantaran obat dengan kandungan campuran minyak, ko-surfaktan, surfaktan, dan obat didalamnya yang membentuk nanoemulsi secara spontan (self-emulsifying) saat masuk dalam fase air. Setelah dikonsumsi hasil pencampuran sediaan SNEDDS dalam cairan lambung akan membentuk nanoemulsi. Nanoemulsi dipilih karena terdapat kandungan minyak yang dapat membawa asam mefenamat yang sukar larut dalam air di dalamnya. Ukuran SNEDDS yaitu sekitar 10-200 nm.

SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) mampu menjadi sistem penghantaran obat yang baik untuk obat protein maupun obat dengan tingkat absorpsi yang rendah. Konsep dari teknologi SNEDDS ialah formulasi antara minyak, kosurfaktan, dan surfaktan yang mengandung obat. Nanoemulsion mempunyai sifat transparan, memiliki ukuran tetesan 100 nm - 500 nm, tembus cahaya sistem emulsi serta dispersi minyak air yang stabil karena ada lapisan film surfaktan atau surfaktan molekul, (Martien R dkk., 2017).

Pada pembuatan SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) setiap formulasi dibuat sebanyak 1,25 mL dengan konsentrasi fraksi 40%, 60% dan 80%. Pembuatan nanoemulsi dilakukan dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) diambil sebanyak 0,5 gram; 0,75 gram dan 1 gram, masing-masing dimasukkan ke dalam vial, kemudian masing-masing vial ditambahkan 0,125 mL Capryol sebagai surfaktan, 0,875 mL tween 20 sebagai minyak, dan 0,25 mL PEG (*Poli Ethylen Glikol*) sebagai ko-surfaktan. Setiap penambahan bahan disonikasi selama 4x2 menit berfungsi sebagai memperkecil ukuran partikel. Saat zat aktif fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*)

ditambahkan capryoll, zat aktif yang bersifat hidrofobik akan larut kedalam capryol. Kemudian saat ditambahkan Tween 20, maka bagian hidrofobik dari Tween 20 akan melindungi capryol melalui interaksi yang terjadi, sedangkan bagian hidrofilik dari Tween 20 dapat berinteraksi dengan air sehingga akan membentuk tetesan emulsi yang terdispersi dalam air. Sama seperti Tween 20, penambahan PEG 400 akan terjadi interaksi yang sama. Fungsi PEG 400 adalah membantu Tween 20 untuk mengemulsi capryol yang membawa zat aktif kedalam air.

5.8 Karakterisasi SNEDDS Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava L.*)

Pada penelitian kali ini formulasi SNEDDS dibuat dengan variasi yang berbeda beda yaitu 40%, 60%, dan 80% dengan perbandingan yang berbeda dari tiap – tiap bahan yang digunakan yaitu capryoll, tween 20 dan PEG 400 masing – masing sebesar (30:50:20) seperti pada Tabel 1. Hal ini dilakukan untuk menentukan formulasi mana yang paling bagus juga yang memiliki ukuran nanoemulsi paling kecil. Pada karakterisasi SNEDDS ini meliputi pengujian ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, zeta potensial, dan morfologi nanoemulsi pada formulasi yang sangat optimal.

PEG banyak dimanfaatkan sebagai pembawa dispersi padat obat seperti klofazimin, simvastatin, dan etoposide (Narang and Srivastava, 2002). PEG memiliki berbagai macam berat molekul dengan rentang 200 – 300000 (Leuner and Dressman, 2000). Setiap berat molekul memiliki sifat yang beragam dalam memperbaiki disolusi obat. Ford et al. (1986) menyebutkan bahwa disolusi indometasin yang paling tinggi dihasilkan dengan urutan PEG 1500>4000>6000>20000. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Suresh et al., (2013) mengenai dispersi padat ekstrak kunyit PEG 4000 dan PEG 6000 dengan metode pelelehan. menunjukkan bahwa kurkumin dengan pembawa PEG 4000, disolusinya lebih tinggi dibandingkan pembawa PEG 6000. Hal ini karena disolusi berbanding terbalik dengan berat molekul PEGnya. Hasil penelitian itu mendukung teori semakin besar bobot molekul PEG maka akan semakin rendah koefisien difusinya dan begitu juga sebaliknya (Corrigan et al., 1979)

5.8.1 Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel

Ukuran partikel sangat penting untuk menentukan laju dan jumlah obat yang dapat dilarutkan dan diserap pada sistem pencernaan dalam tubuh manusia. Obat akan menyebar lebih cepat ke dalam sistem pencernaan manusia dengan ukuran yang lebih kecil. Semakin kecil ukuran partikel, maka semakin besar luas permukaan obat yang didapatkan. Hal ini akan meningkatkan penyerapan obat oleh nanopartikel ke dalam sistem pencernaan manusia, sehingga aktivitas obat lebih optimal dan efisien.

Pada setiap variasi formula perbandingan antara capryol : tween 20 : PEG (*Poli Etilen Glikol*) dengan masing-masing perbandingan yaitu (30:50:20). Tabel 8 menunjukkan bahwa ukuran partikel dengan berbagai konsentrasi ekstrak dapat dikategorikan sebagai nanopartikel, hal ini dikarenakan sebuah partikel dapat dikatakan nano apabila memiliki ukuran partikel diantara 1-1000 nm sudah dapat dikatakan sebagai sistem nanopartikel.

Selain itu formula yang dihasilkan sebagian besar telah memenuhi syarat ukuran yang bisa menembus jaringan epitel pada usus, yaitu berukuran di bawah 500 nm. Dari Tabel 8 dapat dijelaskan bahwa ukuran partikel pada formulasi dengan konsentrasi ekstrak 40% dapat dikatakan sebagai ukuran nano yang ideal. Hal ini dikarenakan ukuran partikel dari suatu ukuran nano yang ideal berada pada tidak lebih dari 200 nm atau berada disekitar 200 nm (Balakumar dkk., 2013).

Polidispersi indeks ialah penggambaran tingkat keseragaman ukuran partikel pada suatu komponen dengan kondisi distribusi partikel (Luo dkk., 2013). Semakin kecil nilainya berarti distribusi partikel komponennya memiliki tingkat keseragaman ukuran yang tinggi (Luo dkk., 2013)

Tabel 8. Hasil karakterisasi ukuran dan distribusi ukuran partikel formulasi SNEDDS dengan PSA

Formulasi	Ukuran Partikel (nm)				Polidispers Index (PI)			
	I	II	III	\bar{X}	I	II	III	\bar{X}
40 %	165,0	167,0	162,6	164,8	0,353	0,413	0,469	0,411
60 %	331,1	338,1	354,7	341,3	0,502	0,495	0,506	0,501
80 %	382,3	396,9	386,9	379,7	0,379	0,323	0,335	0,354

Tabel 8 menunjukkan bahwa setelah dilakukan 3 kali replikasi analisis, maka diperoleh rata-rata ukuran partikel formulasi 40% yaitu 164,8 nm dengan PI 0,411, formulasi 60% yaitu 341,3 nm dengan PI 0,501 dan formulasi 80% yaitu 379,7 nm dengan PI 0,354. Dari data tersebut diketahui bahwa semakin banyak jumlah fraksi yang diinkorporasikan ke dalam fasa minyak, maka ukuran globul yang terbentuk semakin meningkat. Hal ini menandakan adanya batasan jumlah fraksi yang dapat diinkorporasikan ke dalam fasa minyak untuk menghasilkan sediaan dengan ukuran globul yang diinginkan. Wu dkk. (2012) mengemukakan nano partikel mempunyai batas penerimaan nilai polidispersi indeks yaitu kurang dari 0,25. Pada Tabel 8 menunjukkan nilai PI dari semua formulasi lebih tinggi daripada 0,25 sehingga semua formulasi tersebut kurang baik tingkat keseragamannya.

5.8.2 Zeta Potensial

Zeta potensial ialah muatan partikel yang ada di permukaan suatu sistem koloid. Semakin tinggi zeta potensial mengakibatkan peluang terjadinya penggabungan partikel dari kecil menjadi besar (flokulasi) semakin kecil (Luo dkk., 2013). Pengukuran ini sangat penting dilakukan untuk mengetahui kestabilan ukuran partikel sediaan obat yang telah dibuat dalam ukuran nanopartikel tersebut. Nanopartikel dengan nilai potensial zeta lebih kecil dari -30 mV dan lebih besar dari +30mV memiliki stabilitas lebih tinggi (Murdock dkk., 2008). Sistem dispersi dengan nilai zeta

potensial yang rendah lebih mudah membentuk agregat seiring dengan gaya *Van der Waals* dalam interaksi partikel (Stefeld dkk., 2012).

Semakin tinggi nilai potensial zeta maka akan semakin mencegah terjadinya flokulasi. Dengan mengurangi nilai potensial zeta maka memungkinkan partikel untuk saling tarik menarik dan terjadi flokulasi. Semakin tipis lapisan dan semakin besar kemungkinan partikel-partikel bersatu menunjukkan semakin kecil zeta potensial,. Koloid yang sangat stabil akan dihasilkan jika nilai zeta potensial yang tinggi. Zeta potensial memiliki manfaat dalam menentukan stabilitas suspensi. Pengaplikasiannya ialah apabila zeta potensial suspensi kecil atau bahkan mendekati 0, maka partikel akan cenderung tarik-menarik yang pada akhirnya akan membentuk agregat dan dapat menyebabkan flokulasi (Prakash, S dkk, 2014).

Pengaruh perubahan nilai zeta potensial terhadap stabilitas sistem

Zeta potensial (mV)	Penilaian stabilitas
0 sampai ± 5	Koagulasi atau flokulasi cepat
± 10 sampai ± 30	<i>Incipient stability</i>
± 30 sampai ± 40	Stabilitas sedang
± 40 sampai ± 60	Stabilitas baik
Lebih dari ± 60	Stabilitas sangat baik

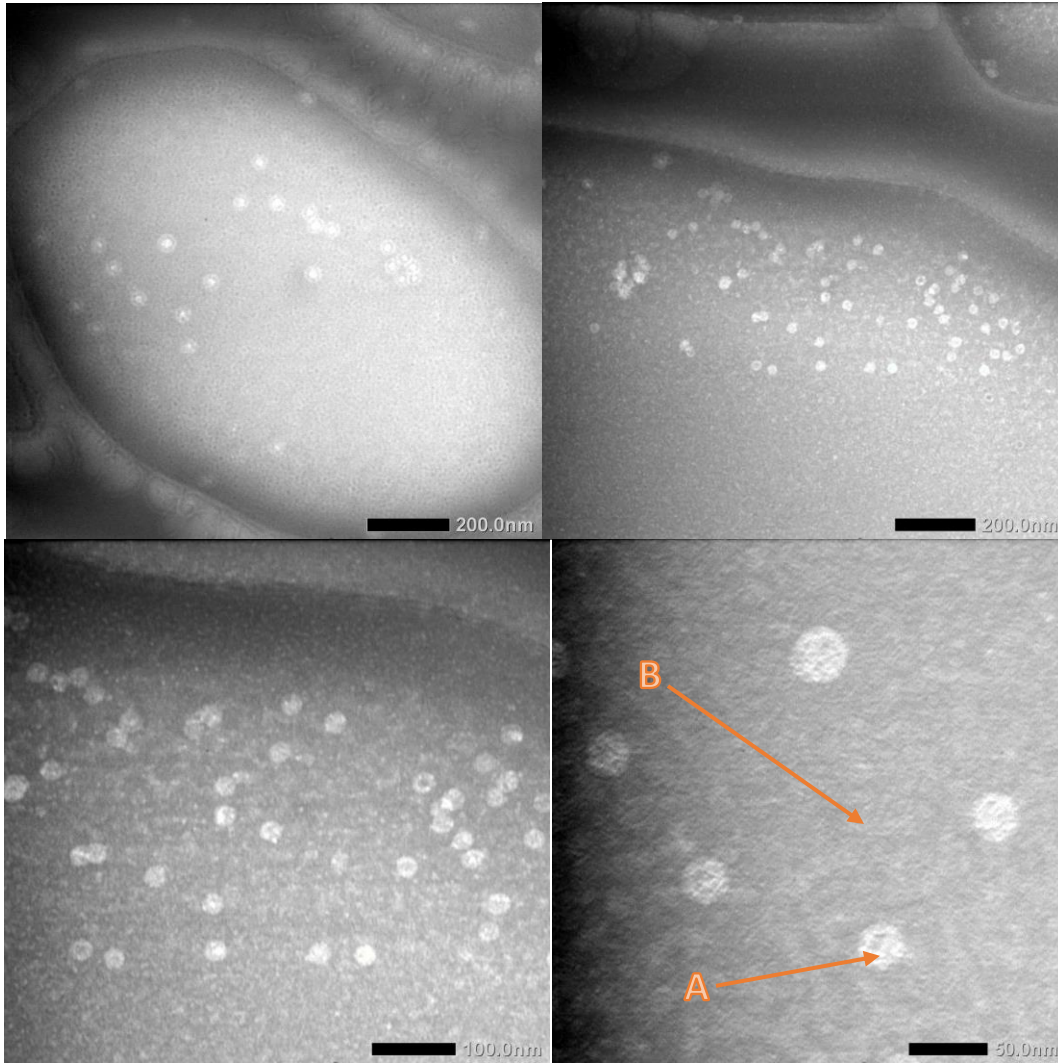
Tabel 9. Hasil karakterisasi zeta potensial formulasi SNEDDS dengan PSA.

Formulasi	Zeta Potensial (mV)			
	I	II	III	\bar{X}
40 %	-38,1	-39,4	-38,6	-38,7
60 %	-46,8	-46,3	-46,3	-46,4
80 %	-32,3	-32,5	-32,1	-32,3

Tabel 9 menunjukkan bahwa ketiga formulasi memiliki nilai zeta potensial yang negatif dimana globul dari formulasi tersebut juga bersifat negatif. Formulasi 40% memiliki nilai -38,7 mV, formulasi 60% memiliki nilai -46,4 mV, dan formulasi 80% memiliki nilai -32,3 mV. Jika dilihat dari pengertian mengenai zeta potensial yang dimana suatu nanopartikel memiliki stabilitas lebih tinggi apa bila nilai zeta nya lebih kecil dari -30 mV dan lebih besar dari +30 mV maka pada Tabel 9 artinya ketiga formulasi tersebut memiliki stabilitas yang tinggi.

5.8.3 Morfologi

Pada penelitian ini karakterisasi morfologi dilakukan dengan menggunakan TEM terhadap formulasi SNEDDS, karakterisasi ditunjukkan kepada formulasi 40% karena memiliki ukuran partikel terkecil. Tujuan dari karakterisasi ini yaitu dapat mengetahui ukuran partikel yang dihasilkan dari pengukuran distribusi partikel dan bentuk globul nanoemulsi. Hasil TEM dapat dilihat di Gambar 20.



Gambar 20. (A) Hasil analisis TEM dengan perbesaran hingga 80.000 kali, (B) Air.

Gambar 20 memperlihatkan globul nanoemulsi yang telah terdispersi dalam air, bulatan putih menunjukkan fraksi etil asetat ekstrak enanol daun jambu biji (*Psidium Guajava L.*) telah berada dalam nanoemulsi yang berbentuk globul seperti pada gambar.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan

1. Ukuran dari formulasi fraksi etil asetat ekstrak daun jambu biji yang paling optimal yaitu pada formulasi 40% dengan ukuran partikel 164, 8 nm sedangkan pada formulasi 60% dengan ukuran partikel 341,3 nm dan formulasi 80% dengan ukuran partikel 379,7 nm kurang optimal dikarenakan telah terjadi agregasi sehingga dapat memperbesar ukuran globul.
2. Senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) adalah Candidate Mass $C_{35}H_{42}O_9$, Candidate Mass $C_{26}H_{48}O_{15}$, Candidate Mass $C_{34}H_{40}O_9$, Quercetin dan Quercetin-3-O- α -L-arabinopyranoside.
3. Kualitas dari nanoemulsi fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava* L.) kurang optimal dapat dilihat dari ukuran partikel yang masih kurang homogen juga bentuk morfologi yang belum merata.

6.2 Saran

Formulasi SNEDDS masih harus dikembangkan untuk masa mendatang karena dapat mempermudah kinerja diberbagai bidang, juga untuk formulasi fraksi etil asetat ekstrak daun jambu biji (*Psidium Guajava* L.) masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan hasil yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M dan Khairurrijal. 2009. "Review :Karakterisasi Nanomaterial". *Jurnal Nanosains dan Nanoteknologi*. Vol 2 (1) :1-9
- Afifah, E,N. 2012. Penggunaan Penanda Molekuler Untuk Mempercepat Dan Mempermudah Perbaikan Kualitas Tanaman Teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). Makalah Seminar Budidaya Pertanian. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Agilent Technologies., 2001, Basics of LC-MS Agilent, USA, 5988-2045EN
- Akbar, H.R., 2010,Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid DaunDandang Gendis (*Clinacanthus Nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan,*Skripsi*,Bogor, IPB.
- Akbar B. 2010. Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. Jakarta : Adabia Press pp 6-7.
- Amalia, A., Jufri, M. & Anwar, E. 2015, Preparasi dan karakterisasi sediaan solid lipid nanoparticle gliklazid, *J Pharm Sci*, 13(1): 108 – 114.
- Anindhita, M. A., Oktaviani, N. (2016). Formulasi Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) dengan Virgin Coconut Oil (VCO) Sebagai Minyak Pembawa. *Jurnal Pena Madika*. 6 (2) : 103-111.
- Balakumar, K., Raghavan, C.V., Selvan, N.T., Prasad, R.H., dan Abdu, S., 2013. Self nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of rosuvastatin calcium: design, formulation, bioavailability and pharmacokinetic evaluation. *Colloids surfaces B Biointerfaces*, 112:337-43.
- Bathia, S., 2016, Nanoparticles Types, Classification, Characterization, Fabrication Methods and Drug Delivery Applications, *Springer Int. Publ. Switz*, 29, 32–91.
- Bray F, Ren JS, Masuyer E, and Ferlay J. 2013. Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. *Int J Cancer*. 132(5):1133–1145. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.27711>.

- Burdall, E.S., Hanby, M.A., Landsdown, R.J.M., and Speirs, V. 2003. Breast cancer cell line. *Breast Cancer Research*. 5(2), 89-95
- Buzea, C., Blandino, I.I.P., and Robbie, K., 2007, Nanomaterial and nanoparticles: sources and toxicity, *Biointerphases*, 2, 170–172.
- Brunner, dan Suddarth. 2003. Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah. Jakarta: EGC.
- Ciulei, J., 1984, Methodology for Analysis of Vegetables and Drug, Faculty of Pharmacy, Bucharest.
- Chaudhary, S., Aqil, M., Sultana, Y., & Kalam, M. A. (2019). Self-nanoemulsifying drug delivery system of nabumetone improved its oral bioavailability and anti-inflammatory effects in rat model. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51, 736-745.
- Chen, C.Y., Zhao, X.Q., Yen, H.W., Ho, S.H., Cheng, C.L., Lee, D.J., Bai, F.W., and Chang, J.S., (2013), Microalgae-based carbohydrates for biofuel production, *Biochemical Engineering Journal*, 78, pp. 1-10.
- Chen, et al. (2012). Graphene Oxide: Preparation, Functionalization, and Electrochemical Application. *Chemical Review*, 112, 6027-6053.
- Chen, K.C., Hsieh, C.L., Peng, C.C., Hsieh-Li, H.M., Chiang, K.D., and Peng, R.Y., 2007, Brain derived prostate cancer DU-145 cells are effectively inhibited in vitro by guava leaf extracts, *Nutr. Cancer*, 58, 93-106.
- Corrigan, G. I., Murphy, C. A., and Timoney, R. F., 1979, Dissolution Properties of Polyethylene Glycols and Polyethylene Glycol-Drug Systems, *International Journal of Pharmaceutics*, 4, 67–74.
- Damar, A.C., Revolta, M.J.R., and Defny, S., 2014. *Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Kayu Kapur (Melanolepsis Multiglanduloso Reinch f).* *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(4), 11-21
- Darwis, D. 2000, Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati. Padang: Universitas Andalas Press.

- Date, A.A., and Nagarsenker, M.S., 2007, Design and evaluation of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for cefpodoxime proxetil, *Int. J. Pharmaceutics*, 329: 166-172 .
- Departemen kesehatan RI, 2007. *Instalasi Deteksi Dini Dan Promosi Kesehatan RS Kanker Dharmais*, Jakarta
- Departemen kesehatan RI., 2008. *Instalasi Deteksi Dini Dan Promosi Kesehatan RS Kanker Dharmais*, Jakarta
- Dwitiyanti., 2015. Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) sebagai Antikanker Payudara. *Pharm Sci Res*, 2(2)
- Ditjen POM., 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Effendy., 2007, *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid I*, Banyu Media Publishing, Malang.
- Ford, J. L., Stewart, A. F., and Dubois, J., 1986, The Properties of Solid Dispersions of Indomethacin or Phenylbutazone in Polyethylene Glycol, *International Journal of Pharmaceutics*, 28, 11–22.
- Gale, S dan Charette, D. 1999. *Rencana Asuhan Keperawatan Onkologi*. Jakarta: EGC.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Jakarta.
- Ghozali,dan Imam.2008. *Model Persamaan Struktural Konsep dan Aplikasi dengan program AMOS 16.0*. Semarang: Badab Penerbit Universitas Diponegoro.
- Gonçalves, dkk. (2016). Construct validity and reliability of Olweus bully/victim questionnaire- Brazilian version. *Psicologia: Reflexão e Crítica* Vol. 29 No. 27 hlm. 1-8.
- Gull, I., Saeed, M., Shaukat, H., Aslam, S. M., Samra, Z. Q., dan Athar, A. M. 2012. Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobial*. 11(8): 1-6.

- Gupta, D.K.M.K., Anand, V.R., dan Khajuria, R.K., 2013, Development of a Validated UPLC-qTOF-MS/MS Method for Determination of Bioactive Constituent from Glycyrrhiza Glabra, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 3(3).
- Gursoy, R.N., dan Benita, S., 2004, Self-Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) for improved Oral Delivery of Lipophilic Drug, *Biomed and Pharmacother*, 58, 173-182.
- Harahap, Y., 2007. Uji Sitotoksitas Sediaan Jadi Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl) Terhadap Sel MCF-7 Secara *In Vitro*. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 6(2).
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, Edisi ke dua, ITB, Bandung.
- Hendrayana, S., 2006, *Kimia Pemisahan*, Rosdakarya, Bandung.
- Hernández, F., Sancho, J. V., dan Pozo, O. J., 2005, Critical review of the application of liquid chromatography/mass spectrometry to the determination of pesticide residues in biological samples, *Anal Bioanal Chem*, 382(4): 934-946.
- Himawan R. F. (2010). *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)*.
- Hofer, F., 2014, *Transmission Electron Microscopy and Nanoanalysis. FELMIZFE: Electron Microscopy And Nanoanalysis* portal.tugraz.at/portal/page/portal/felmi/research/TEMandNanoanalysis. Diakses pada tanggal 17 Maret 2019.
- Hu, M., and Li, X., 2011, *Oral bioavailability : basic principles, advance concept, and application*, John Wiley & Sons, Inc, New Jersey.
- Itharat, A., and Oraikul, B., 2007, Research on Thai medicinal plants for cancer treatment, *Med Plant Res*, 1(2), 287-317.
- [IARC] International Agency for Research on Cancer. 2013. Latest World Cancer Statistics. Lyon (FRA): International Agency for Research on Cancer.
- Jaiswal, M., Dudhe, R., & Sharma, P. K. (2015). Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. *3 Biotech*, 5(2), 123-127. doi:10.1007/s13205-014-0214-0

- Joseph B., and Priya, M., 2011, Review On Nutritional, Medicinal and Pharmacological Properties of Guava (*Psidium guajava* Linn.), *Int J Pharm and Bio Sci*, 2(1), 53-69.
- Karyanti, D.E., 2005, Perbandingan kadar quercetin dan pola generik 35 varietas jambu biji (*Psidium guajava* L.), *Skripsi*, UHAMKA, Jakarta.
- Kawashima, Y., Yamamoto, H., Takeuchi, H., and Kuno, Y., 2000, Mucoadhesive DL-lactide/glycolide copolymer nanospheres coated with chitosan to improve oral delivery of elcatonin, *Pharmaceutical Development and Technology*, 5(1): 77-85.
- Kazakevich, Y., dan Lobrutto, R., 2007, HPLC for Pharmaceutical Scientist, John Wiley dan Sons, Inc: New Jersey. PP. 25 – 192.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B., 2008, *Buku Ajar Fitokimia*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Kristiani, M., Ramayani, S.L., Yunita, K., dan Saputra, M., 2019, Formulasi dan Uji Aktivitas Nanoemulsi Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap *Salmonella typhii*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol. 16 No. 1.
- Kumar, R.S., Syamala, U.S., Revathi, P., Devaki, S., Raghuver, P., Gowthamarjan, K., 2013, Self nano-emulsifying drug delivery system of olanzapine for enhanced oral bioavailability: in vitro, in vivo characterization and in vitro-in vivo correlation, *Journal of Bioequivalence and Bioavailability*, 5:201-208.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Buku ajar patologi. 7 nd ed , Vol. 1. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2007 : 189-1.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Buku ajar patologi .7 nd ed, Vol. 2. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2007 : 860-1.
- Lamson, D.W dan brignall, M.S(2000). Antioxidant and Cancer III; Quercetin. *journal Altern me rev* 2000., vol 5 (3) 196 – 208.
- Lee, SB., and Park, HR., 2010, Anticancer activity of guava (*Psidium guajava* L.) branch extract against HT-29 human colon cancer cells, *J Med Plant Res*, 4, 891-896.

- Leinmuller E, Steingass H, Menke KH. 1991. Tannins in ruminant feedstuffs. *Anim Res Develop* 33: 9-62.
- Leuner, C. and Dressman, J., 2000, Improving Drug Solubility for Oral Delivery Using Solid Dispersions, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 47–60.
- Listyaningrum, S., Sukmawati, A., Wahyuni, A.S., and Yuliani, R., 2015, Formulasi dan Evaluasi Mikropartikel Dexamethasone Lepas Lambat dengan Matriks Ethyl Cellulose (EC), *Ecommunity*, 58-69.
- Maharani, S.A., 2017, Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar, Dan Nonpolar Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) Terhadap Sel Kanker Kolon Widr, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Makadia, H. A., Bhatt, A. Y., Parmar, R. B., Paun, J. S. & Tank, H. M. (2013). Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS): Future Aspects. *Asian J. Pharm. Res*; 3(1); 21-24.
- Manosroi, J., Dhumtanom, P., and Manosroi, A., 2006, Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines, *Cancer Lett*, 235, 114-120.
- Manthey, J.A., Grohmann, K., and Guthrie, N., 2001, Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation, *Curr Med Chem*, 8, 135-153.
- Marliana, S.D., Suryanti, V., dan Suyono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol, *Biofarmasi*, 3(1): 26-31.
- Martien, R., Adhyatmika, I.I.D.K., Farida, V., dan Sari, D.P., 2012, Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat, *Majalah Farmasetik*, 1,8.
- Mukhriani., 2014, Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*, Volume VII No.2.

- Murdock, R.C., Braydich, L., Schrand, A.M., Schlager, J.J., and 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.
- Mutmainnah, P.A., Hakim, A., dan Savalas, L.R.T., 2017, Identifikasi Senyawa Turunan Hasil Fraksinasi Kayu Akar *Artocarpus Odoratissimus*, *JPPIPA*, 3(2).
- Narang, A. S. and Srivastava, A. K., 2002, Evaluation of Solid Dispersions of Clofazimine, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28 (8), 1001– 1013.
- Peng RY, Hsieh CL, Chen KC, 2008, :Review on the medicinal use of *Psidium gujava* L. In *Phytopharmacology and Therapeutic Values II*, Vol. 20. (Govil JN, ed.) Studium Press, Houston, pp. 215–248
- Prakash, S., Mishra, R., Malviya, R., & Sharma, P. K. (2014). Measurement techniques and pharmaceutical applications of zeta potential: a review. *Journal of Chronotherapy and Drug Delivery*, 5(2), 33-40.
- Rahayu, E., 2016, Preparasi Dan Karakterisasi Nanosuspensi KitosanTripolifosfat Sebagai Pembawa Deksametason Natrium Fosfat Menggunakan Metode Gelasi Ionik, Skripsi, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Rahardjo, P., 2014, Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta, Swadaya, Jakarta.
- Rahmawati, Alni, dkk., 2013, Statistika, Edisi 1, Laboratorium Manajemen FE Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Rawle, A., 2010, Basic Principles of Particle Size Analysis – Technical Paper of Malvern Instuments, Worcesstershire, United Kingdom.
- Raymond W R. 2007. *Cancer Biology*. Ed ke-4. Michigan (US): Oxford University Pr.
- Richie, R. C and Swanson, J., 2003. Breast cancer: A Review of the Literature. *Journal of Insurance Medicine*, 35, 85–101.

- Rusli, P. R. 2011. Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Titanium Dioksida Fasa Anatase dengan Metode Sol Gel (Skripsi). Universitas Negeri Medan. Medan.
- Ryu, H.N., Park, R.K., Kim, M.S., Yun, M.H., Nam, D., Lee, G.S., Jang, J.H., Ahn, S.K., Kim, H.S., and Shim, S.B., 2012, A hexane fraction of guava leaves (*Psidium guajava* L.) induces anticancer activity by suppressing AKT/mammalian target of rapamycin/ribosomal p70 S6 kinase in human prostate cancer cells, *J Med Food*, 15(3), 231-241.
- Sangi M., dkk (2008) “ Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minsaha Utara”. *Chemistry Progress*. 1, 47-53.
- Sastrohamidjojo, H., 2005, *Kromatografi*, Liberty, Yogyakarta.
- Sato A dan Elizabeth F. 2012. Nutritional Status and Weight Gain in Pregnant Women. *May-June; 2012* (3): 462-8.
- Senja, Yulia Rima, dkk. (2014). Perbandingan Metode Ekstraksi dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea* L var. *capitata* f. *Rubra*). *Journal of Faculty Of Pharmacy Univesitas Gadjah Mada*, Vol 19 (1), 43-48.
- Setyowati, W.A.E, dkk. (2014). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Jurnal Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*. ISBN (979363175-0): 271-280.
- Siadi, K., 2012, Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Sebagai Biopestisida Yang Efektif Dengan Penambahan Larutan NaCl, *Jurnal MIPA Universitas Negeri Semarang*, 35(1), 77-83.
- Sriwahyuni I. 2010. Uji fitokimia ekstrak tanaman anting-anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan variasi pelarut dan uji toksisitas menggunakan brine shrimp (*artemia salina* leach). Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Stefeld, J., Sean, A., McKenna, A., and Patel, T., 2012, *Nanocomposix's Guide To Dynamic Light Scattering Measurement And Analysis*, NanoComposix, San Diego.

- Suresh, K., Yogesh, C., Priyanka, B., Khushbu, S., and Manisha, B., 2013, Enhancement of Solubility and Dissolution Rate of Curcumin by Solid Dispersion Technique, *International Research Journal of Pharmacy*, 4 (5), 226–232.
- Tadros, T.F. 2005. *Applied Surfactants*. United Kingdom: Wiley-vch Verlag GmbH and co.KgaA, Weinheim. Halaman 8-10.
- Tannaz, J., Brijesh, S., and Poonam, G.D., 2014. Bactericidal Effect of Selected Antidiarrhoeal Medicinal Plants on Intracellular Heat-Stable Eterotoxin-Producing Escherichia Coli. *Indian Journalof Pharmaceutical Sciences*, 76(3), 229-35.
- USP Convention, 2007, United States of Pharmacopeia National Formulary, USP 30/NF 25, United States Pharmacopeial Convention, Twinbrook Parkway.
- Utami, D.A., Hendradadi, E., dan Hariyadi, D.M., 2013, Pengaruh Kecepatan Pengadukan Terhadap Karakteristik Fisik Mikrosfer Ovalbumin-Alginat dengan Metode Aerosolisasi, *PharmaScientia*, 2, 1–8.
- Wadhwa, J., Nair, A., and Kumria, R., 2011, Self-emulsifying therapeutic system: a potential approach for delivery of lipophilic drugs, *Braz. J. Pharm. Sci*, 47, 447–465.
- Wardhani, L.K., dan Sulistyani, N., 2012, UjiAktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera Scandens* (L.) Moq.) Terhadap *Shigella Flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis, *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, Vol. 2(1): 1-16.
- WHO., 2014, *Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2014*, WHO Press, Geneva.
- Wu, J.W., Hsieh, C.L., Wang, H.Y., dan Chen, H.Y., 2009, Inhibitory effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extracts and its active compounds on the glycation process of protein, *Food Chem*, 113:78-84.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman jambu biji



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN

Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpun (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274)580839

SURAT KETERANGAN

Nomor : 014796/S.Tb./I/2020

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama : Andri Ramadhani
NIDN : 16612073
Asal instansi : Fakultas MIPA - UII Yogyakarta

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

Kingdom : Plantae
Divisio : Tracheophyta
Classis : Magnoliopsida
Ordo : Myrtales
Familia : Myrtaceae
Genus : Psidium
Species : *Psidium guajava* L.
Sinonim : *Guajava pumila* (Vahl.) Kuntze, *Myrtus guajava* (L.) Kuntze,
Psidium cujavus L., *Syzygium ellipticum* K. Schum & Lauterb
Nama Lokal : Jambu batu, Jambu biji, Jambu klutuk, Giawas

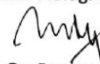
identifikasi tersebut dibantu oleh Abdul Razaq Chasani, Ph.D
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Mengetahui,
Dekan Fakultas Biologi
Universitas Gadjah Mada

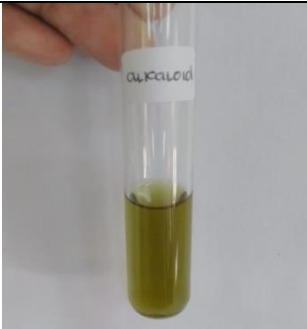
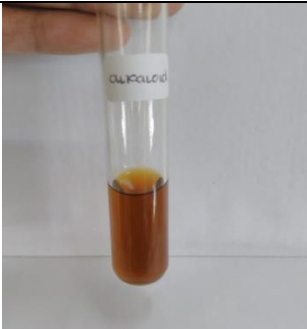

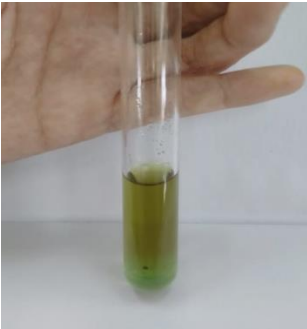
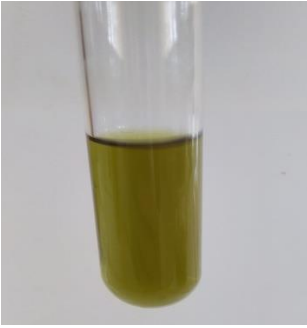
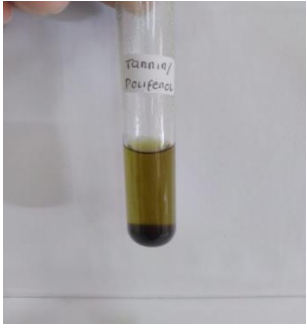
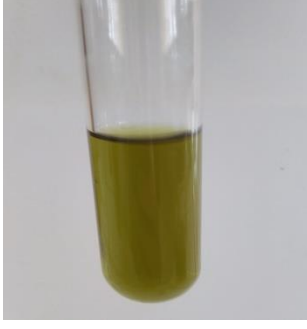




Prof. Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.
NIP. 197003261995121001



Yogyakarta, 14 Januari 2020
Kepala Laboratorium
Sistematika Tumbuhan
Fakultas Biologi UGM


Prof. Dr. Purnomo, M.S.
NIP. 195504211982031005

Lampiran 2. Hasil uji penapisan fitokimia

Uji Fitokimia	Gambar	
	Sebelum	Sesudah
Alkaloid		
Flavonoid		
Tanin/poli fenol		
Terpenoid		

Lampiran 3. Nanoemulsi fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji

Formulasi	Gambar
40%	
60%	

80%



Lampiran 4. Perhitungan

7.1 Perhitungan rendemen ekstrak kasar dan fraksi

- **Rendemen ekstrak kasar**

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{berat hasil}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$\% \text{Rendemen} = \frac{263,935 \text{ g}}{750 \text{ g}} \times 100\% = 35,19\%$$

- **Rendemen fraksi**

$$\% \text{Rendemen fraksi etanol} = \frac{103,87}{139,1} \times 100\%$$

$$\% \text{Rendemen} = \frac{46,06 \text{ g}}{263,935 \text{ g}} \times 100\% = 17,451\%$$