

KARAKTERISASI FISIKOKIMIA NANO KRISTAL EKSTRAK HERBA SELEDRI (*APIUM GRAVEOLENS L.*) DENGAN PERBEDAAN KONSENTRASI POLOXAMER 188

Henni Rosaini^{1*}, Rina Wahyuni¹, Boyke Panata Sinaga¹, Wahyu Margi Sidoretno²

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

²D III Analis Farmasi dan Makanan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Abdurrah
email : hauraarya@stifarm-padang.ac.id

ABSTRACT

Celery (*Apium graveolens L.*) is a plant from the Apiaceae family which contains flavonoids, saponins, tannins, essential oils, apiin, apigenin, choline, asparagine, vitamins A, B, C. The apigenin contained in celery is included in the BCS (Biopharmaceutics Classification System) system.) class II, which have low solubility and high permeability (low solubility and high intestinal permeability drugs). The research method used is laboratory experimental, where to increase solubility using the nanocrystalline method. The purpose of this study was to determine the effect of differences in the concentration of poloxamer 188 on nanocrystalline characterization, based on the results of the Particle Size Analyzer (PSA) and zeta potential, while to identify functional groups using infrared spectrophotometry (FT-IR). The formula tested was differentiated based on the use of Poloxamer 188, there were three formulas F1, F2 and F3. Research results on physiococcal parameters; The particle size analyzer (PSA), shows the particle size distribution at F1 of 1648.5 nm, F2 of 1049.6 nm, and F3 of 1483.2 nm. The results of the zeta potential value at F1 is -11.2, while F2 is -12.5 and F3 is -8.9. FT-IR analysis shows the presence of a C = O functional group and a -NO₂ functional group in formulas 1, 2, and 3 which are not present in apigenin as a marker compound for celery, on the contrary there is a CN functional group on apigenin which is not present in F1, F2, and F3. So from FT-IR analysis it can be concluded that celery extract does not have apigenin marker compounds and the addition of poloxamer 188 50% (F2) gets the smallest nanocrystalline size.

Keywords: Nanocrystal, Calery, Poloksamer 188, solubillity

ABSTRAK

Seledri (*Apium graveolens L.*) merupakan tanaman dari family Apiaceae yang mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, minyak atsiri, apiin, apigenin, kolin, asparagin, vitamin A, B, C. Apigenin yang terkandung dalam seledri termasuk dalam sistem BCS (*Biopharmaceutics Classification System*) kelas II, yang memiliki kelarutan rendah dan permeabilitas tinggi (*low solubility and high intestinal permeability drugs*). Metode penelitian yang digunakan adalah *laboratory experimental*, dimana untuk meningkatkan kelarutan menggunakan metode nanokristal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh perbedaan konsentrasi poloxamer 188 terhadap karakterisasi nanokristal, berdasarkan hasil dari *Particle Size Analyzer (PSA)* dan *zeta potensial*, sedangkan untuk identifikasi gugus fungsi menggunakan spektrofotometri infra merah (*FT-IR*). Formula yang diujikan diperbedakan berdasarkan penggunaan poloxamer 188, terdapat tiga formula F1, F2, dan F3. Hasil penelitian pada parameter fisiokimia; *particle size analyzer (PSA)*, menunjukkan distribusi ukuran partikel pada F1 sebesar 1648,5 nm, F2 sebesar 1049,6 nm, dan F3 sebesar 1483,2 nm. Hasil nilai *zeta potensial* pada F1 adalah -11,2 sedangkan F2 adalah -12,5 dan F3 sebesar -8,9. Analisa FT-IR menunjukkan adanya gugus fungsi C=O dan gugus fungsi -NO₂ pada formula 1, 2, dan 3 yang tidak terdapat pada apigenin sebagai senyawa penanda seledri, sebaliknya terdapat gugus fungsi C-N pada apigenin yang tidak terdapat pada F1, F2, dan F3. Sehingga dari

analisis FT-IR dapat disimpulkan bahwa ekstrak seledri tidak memiliki senyawa penanda apigenin serta pada penambahan poloxamer 188 50% (F2) mendapatkan ukuran nanokristal yang paling kecil.

Kata kunci: Nanokristal, Seledri, poloksamer 188, kelarutan.

PENDAHULUAN

Seledri atau celery (*Apium graveolens* L) merupakan salah satu jenis herbal untuk mengatasi penyakit hipertensi. Seledri merupakan tanaman dari famili Apiaceae yang tumbuh menyebar sepanjang benua Eropa, Asia, daerah tropis dan subtropis Afrika. Seledri mengandung flavonoid, saponin, tannin 1%, minyak atsiri 0,033%, flavo-glukosida (apiin), apigenin, kolin, asparagin, vitamin A, B dan C (Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2016).

Apigenin termasuk dalam sistem klasifikasi biofarmasi (BCS) kelas II, yang memiliki kelarutan rendah dan permeabilitas tinggi (Zhang *et al.*, 2012). Salah satu metode yang baru dikembangkan untuk meningkatkan kelarutan zat yaitu dengan formulasi nanokristal.

Nanokristal didefinisikan sebagai kristal yang memiliki ukuran partikel dalam nanometer antara 10 nm-1000 nm (Liu, 2013). Pengecilan ukuran partikel dalam rentang nanometer dapat meningkatkan luas permukaan partikel, kelarutan jenuh dan kecepatan disolusi sehingga bioavailabilitas obat dapat meningkat. Sistem nanokristal terdiri dari air, zat aktif obat dan stabilisator (Junyaprasert & Morakul, 2015).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zhang *et al* (2013), bahwa pada saat uji disolusi, bubuk apigenin yang terlarut yaitu 40 % dengan waktu 120 menit. Sedangkan nanokristal apigenin yang terlarut dalam medium disolusi yaitu 90 % dengan waktu 20 menit.

Pada penelitian ini menggunakan poloxamer 188 sebagai stabilisator untuk mencegah terjadinya agregasi. Poloxamer 188 bersifat tidak toksik dan tidak mengiritasi. Poloxamer 188 terdiri dari rantai polioksietilen bersifat hidrofilik dan rantai polioksipropilen bersifat hidrofobik. Rantai hidrofobik yang dapat teradsorpsi dan menghasilkan interaksi pada permukaan kristal obat, rantai hidrofilik dapat menutupi partikel obat sehingga memberikan halangan sterik dan mencegah terjadinya agregasi (Rowe *et al.*, 2009; Liu, 2013).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dalam penelitian ini akan dibuat nanokristal antara ekstrak herba seledri dengan perbedaan konsentrasi poloxamer 188 sebagai stabilisator menggunakan metode penggilingan basah. Pembuatan nanokristal ekstrak herba seledri dengan poloxamer 188 ini diharapkan masih terbentuknya nanokristal yang stabil.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Timbangan digital analitik (PrecisaXB 220A), *planetary Ball Mill* (Retsch, Type PM 100), *rotari evaporator* (Buchi, interface I-100), *Particle size analyzer* (Horiba, Partica LA-960), *Fourier Transformation Infra-Red Spectrophotometer* (Perkinelmer), *Spray drying* (Bu-chi B-2901), dan alat lainnya yang menunjang penelitian. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah; Herba seledri (*Apium graveolens* L), Poloxamer 188 (Merck), etanol 96% (Bratachem), Kloroform (Bratachem), metanol *Pro analysis* (Merck), air suling (Ikaphermindo) dan bahan lainnya.

Metoda

1. Pengambilan Sampel dan Identifikasi Tumbuhan

Sampel yang digunakan adalah herba seledri (*Apium graveolens* L.) yang diambil langsung di Koto Laweh Padang Panjang, Sumatera Barat. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Andalas (ANDA), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas (UNAND) Padang.

2. Pemeriksaan Bahan Baku Poloxamer 188

Pemeriksaan Poloxamer 188 dilakukan menurut metode yang tercantum dalam *Handbook of Pharmaceutical Excipient* (6thed), meliputi: pemerian dan kelarutan (Rowe *et al.*, 2009).

3. Penyiapan dan Karakterisasi Simplisia Herba Seledri

Pada umumnya proses pembuatan simplisia melalui tahap yaitu, pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, penyimpanan dan pemeriksaan mutu (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985). Karakterisasi spesifik meliputi penentuan sari yang larut dalam air, penentuan sari yang larut dalam etanol, sedangkan parameter non spesifik meliputi penentuan susut pengeringan, penentuan kadar abu, penentuan kadar abu tidak larut asam. etanol (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

4. Pembuatan Ekstrak dan Karakterisasi Ekstrak Herba Seledri

Pembuatan ekstrak pada penelitian ini menggunakan cara maserasi, dimana simplisia kering ditimbang 400 g dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup rapat dan direndam menggunakan etanol 50 % sebanyak 1,2 L sampai simplisia terendam secara keseluruhan, pada selama 6 jam pertama, sekali-kali diaduk kemudian didiamkan selama 18 jam. Setelah 24 jam, saring rendaman menggunakan kain flanel untuk memisahkan maserat dan sisa maserasi. Proses ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Semua maserat dikumpulkan dilanjutkan dengan proses *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental. Hitung randemen yang diperoleh, di timbang dan dicatat (Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2004). Karakterisasi spesifik yang dilakukan meliputi identitas, pemeriksaan organoleptis. Karakterisasi non spesifik yang dilakukan meliputi penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu yang tidak larut asam. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Uji kromatografi lapis tipis (KLT).

5. Pembuatan Serbuk Ekstrak Herba Seledri.

Ekstrak herba seledri di timbang sebanyak 20 lalu dimasukkan ke dalam beker glass 1 L, kemudian ditambahkan air suling sedikit demi sedikit sampai ekstrak tersebut homogen. Setelah itu cukupkan air suling 1 L dan lakukan menggunakan alat *spray drying*.

6. Pembuatan nanokristal ekstrak herba seledri-Poloxamer 188

Nanokristal ekstrak herba seledri dibuat dengan rancangan berikut. Tabel I. Rancangan formula nanokristal ekstrak herba seledri.

Tabel I. Rancangan formula nanokristal ekstrak herba seledri

Formula	Serbuk ekstrak herba seledri (g)	Poloxamer (% b/b)	Vol (mL)
F1	0,5	40	20
F2	0,5	50	
F3	0,5	60	

Nanokristal ekstrak herba seledri dibuat dengan metode *Top down* dengan cara penggilingan basah. Poloxamer 188 ditimbang sesuai dengan formula yang sudah direncanakan, dilarutkan dalam 20 mL air suling. Kemudian dimasukkan ke dalam chamber yang sudah berisi bola penggilingan *zirconium ball mill* diameter 0,2 cm sebanyak 34 buah dan diameter 0,5 cm sebanyak 34 buah. Ekstrak herba seledri sebanyak 0,5 g didispersikan ke dalam chamber. Dilakukan proses penggilingan dengan alat *Planetary ballmill* untuk membentuk nanosuspensi pada kecepatan 400 rpm. Pada formula 1 selama 6 jam dan formula 2 dan 3 selama 5 jam. Nanosuspensi yang terbentuk dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Kemudian dilakukan karakterisasi fisikokimia nanokristal ekstrak herba seledri.

7. Karakterisasi Fisikokimia Nanokristal Ekstrak herba seledri *Particle Size Analyzer (PSA)*

Analisis distribusi butiran partikel menggunakan *Particle Size Analyzer (PSA)*, yang bekerja berdasarkan prinsip *Dinamic Light Scattering*. Metode ini menggunakan media pendispersi untuk mendispersi sampel. Media pendispersi air suling. Pengukuran sampel dilakukan tiga kali pengulangan, hingga diperoleh dua data yang memiliki selisih kurang dari 20 nm (Rawle, 2010).

Zeta potensial

Zeta potensial adalah ukuran muatan permukaan partikel yang tersebar dalam medium pendispersi. Nanopartikel dengan nilai potensial zeta lebih kecil dari -30 mV dan lebih besar dari +30 mV karena semakin tinggi nilai zeta potensial maka akan semakin mencegah terjadinya flokulasi, yaitu peristiwa penggabungan koloid dari yang kecil menjadi besar yang memiliki stabilitas lebih tinggi (Murdocket *al.*, 2008).

8. Analisa Spektrofotometri Infra Merah (FT-IR)

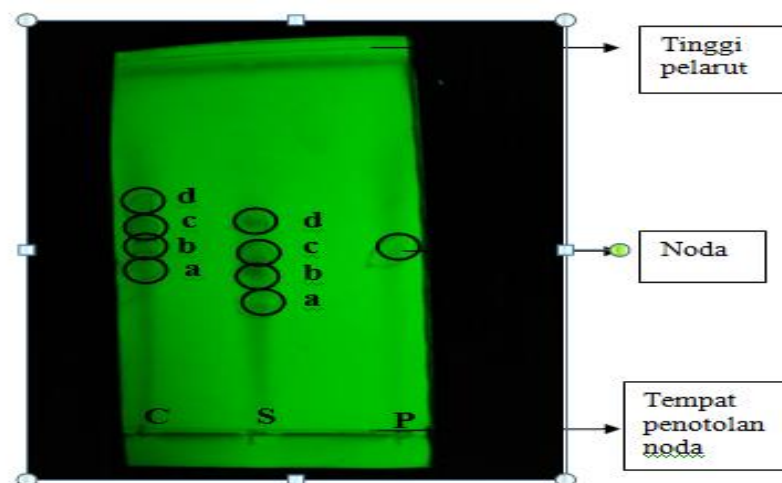
Uji dilakukan terhadap apigenin murni, formula 1, formula 2, dan formula 3 yang telah disiapkan, sampel diambil sebanyak satu ujung spatula kecil, lalu putar letak sampel searah dengan jarum jam. Masukkan sampel pada wadah sampel yang telah bersih dan kering, kemudian lakukan analisa sampel, kemudian tunggu hingga sampel teranalisis dan hasil spektrum keluar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan bahan baku ekstrak herba seledri dan poloxamer 188

Pada proses pembuatan ekstrak, diperoleh ekstrak kental sebanyak 76,3719 gram dengan rendemen 19,09297%. Setelah itu dilakukan karakteristik ekstrak herba seledri. Hasil karakteristik spesifik maupun non spesifik telah memenuhi persyaratan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2010).

Uji kromatografi lapis tipis pada penelitian yang dilakukan oleh Zamris (2008) menyatakan bahwa nilai R_f apigenin yaitu 0,35 dengan menggunakan eluen metanol:kloroform yaitu (0,5:9,5) dengan fase diam silica gel GF₂₅₄, didapatkan nilai R_f 0,357 pada pembanding dan sampel, sedangkan untuk campuran 0,37. Pemeriksaan poloxamer 188 meliputi pemerian: bentuk granul berwarna putih tidak berbau dan tidak berasa. Uji kelarutan Poloxamer 188 yaitu 1 g poloxamer 188 larut dalam 9 mL air, 1 g poloxamer 188 larut dalam 4 mL etanol.



Gambar 1. Hasil Pemeriksaan Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Herba Seledri dan Poloxamer 188 (C: campuran; S: Sampel; P: Pembanding)

Karakteristik Fisikokimia Nanokristal Ekstrak Herba Seledri

Karakterisasi yang dilakukan pada nanokristal ekstrak herba seledri dengan penambahan poloxamer 188 hanya pada analisis distribusi ukuran partikel dan ukuran muatan permukaan partikel.

Hasil Partikel Size Analyzer (PSA)

Pada hasil ukuran partikel pada formula 1 yaitu 1648,5 nm dan nilai zeta potensialnya -11,2. Pada formula 2 ukuran partikelnya 1049 dan nilai zeta potensial -12,5. Formula ke 3 ukuran partikel 1483,2 dengan nilai zeta potensial -8,9. Berdasarkan dari hasil tidak ada yang memenuhi persyaratan hanya saja pada formula 2 yang mendekati persyaratan karena persyaratan ukuran partikel yaitu 10 nm-1000 nm. Hal ini terjadi karena pada formula 1 dengan waktu penggilingan 6 jam energy yang dikeluarkan

lebih bnyak sehingga makin besar luas permukaan dan konsetrasi poloxamer 188 40% tidak cukup menyelimuti partikel-partikel. Sedangkan pada pada formula 2 dan 3 besarnya ukuran partikel mungkin karena lama waktu penyimpanan sehingga tidak stabil dan terjadi tumpang tindih antara partikel.

Pada nilai zeta potensial tidak ada yang memenuhi persyaratan karena persyaratannya yaitu lebih kecil dari -30 mV dan besar dari +30mV. Semakin besar dan semakin jauh ukuran partikel maka energi tolak menolak juga semakin besar.

Tabel II. Hasil pengujian Nano partikel dan Zeta potensial menggunakan PSA

Formula	Nano Partikel (nm)	Zeta Potensial (mV)	Metoda Uji
F1	1648,5	-11,2	Dynamic light
F2	1049,6	-12,5	scaffering
F3	1483,2	-8,9	menggunakan alat PSA

Pada nilai indeks polidispersitas ketiga formula memenuhi persyaratan yaitu kecil dari 0,6 tetapi nilai indeks polidispersitas lebih besar pada formula 1 yaitu 0,592, formula 2 yaitu 0,502 dan formula 3 adalah 0,456.

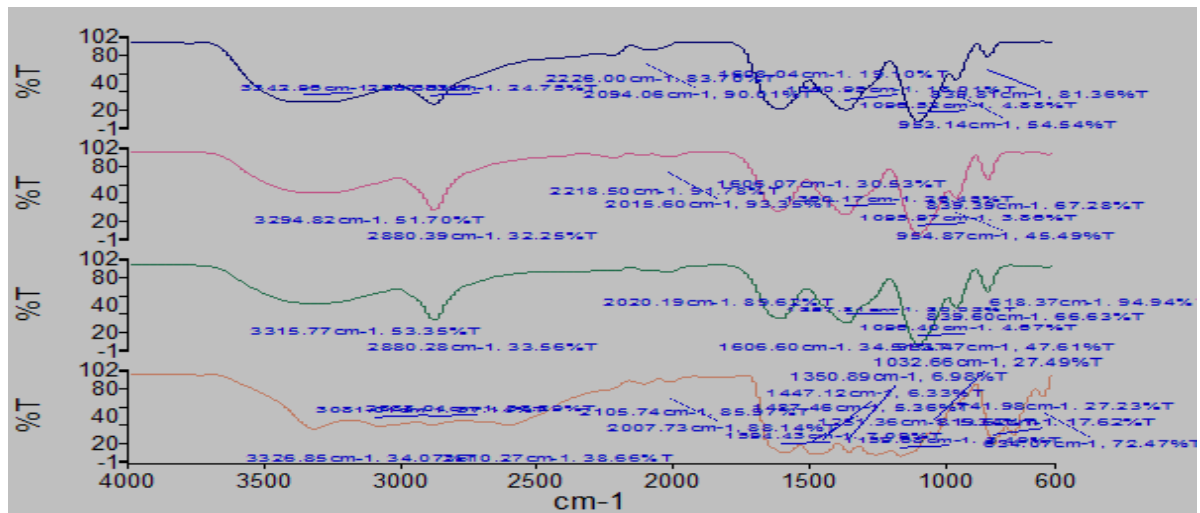
Hasil Analisa Spektrofotometri Infra Merah FT-IR

Analisa spektrofotometri FT-IR (*Fourier transformation infra red*) dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada suatu senyawa. Setiap pita serapan pada bilangan gelombang tertentu mengambarkan adanya suatu gugus fungsi spesifik. Hasil analisa berupa signal kromatogram hubungan persentase transmitan terhadap panjang gelombang

Pada karakterisasi ini terdapat beberapa perbedaan yang signifikan antara senyawa apigenin yang merupakan senyawa penanda ekstrak herba seledri dengan formula 1, formula 2, dan formula 3. Dimana pada spektrum inframerah dari senyawa apigenin terdapat gugus fungsi C-N pada bilangan gelombang 1351,36 cm^{-1} yang tidak terdapat pada spektrum inframerah formula 1, formula 2, dan formula 3, dan pada spektrum inframerah formula 1, formula 2, dan formula 3 terdapat gugus fungsi C=O dan gugus fungsi $-\text{NO}_2$ yang tidak terdapat pada spektrum inframerah senyawa apigenin. Hal ini diakibatkan karena sampel atau formula 1, formula 2, dan formula 3 dibuat dari ekstrak herba seledri, dimana sediaan ekstrak tidak hanya mengandung satu senyawa aktif didalamnya, tergantung pada pelarut yang digunakan saat proses ekstraksi, oleh sebab itu terdapat perbedaan signifikan pada spektrum inframerah yang dihasilkan. Hasil karakterisasi dapat dilihat pada tabel III.

Tabel III. Karakterisasi FT-IR

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})			
	F1	F2	F3	Apigenin
N-H	3342,96	3294,82	3315,77	3326,85
O-H	2226,60	2218,50	2020,19	2105,74
C-H	2886,26	2880,39	2880,28	3031,75
C=O	1608,04	1606,07	1606,60	0
C-O	1096,92	1095,97	1096,40	1032,66
C-N	0	0	0	1351,36



Gambar 2.Spectrum FT-IR formula 1, 2, 3, dan Apigenin murni.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada pembuatan nanokristal ekstrak herba seledri dengan perbedaan konsentrasi poloxamer 188 terhadap karakteristik pembentukan nanokristal ekstrak herba seledri (*Apium graveolens* L.) dapat disimpulkan: Pada penelitian ini belum ada formulasi ekstrak herba seledri dengan poloxamer 188 yang optimal dalam pembentukan nanokristal. Dilihat dari distribusi ukuran partikel pada formula 1 masih besar yaitu 1648,5 nm, formula 2 dengan ukuran partikel 1049,6 nm, dan formula 3 dengan ukuran partikel 1483,2 nm. Penelitian ini tidak dapat menggambarkan mana dari formula yang diujikan yang memiliki kelarutan yang paling baik. Sehingga masih perlu dilakukan uji disolusi untuk mengetahuinya.

REFERENSI

- Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia.(2010). *Acuan Sediaan Herbal* (1rded). Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia.(2004). *Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia* (1sted). Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Boyong, L., Dennis, H.R., & Diane, F.B. (1997).Evaluation of Properties of Apigenin and [G-3H]Apigenin and Analytic Method Development. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86(6), 721-725.
- Cerdeira, A. M., Marzotti, M., & Gander, B. (2010).Miconazole nanosuspensions: Influence of formulation variables on particle size reduction and physical stability. *International Journal of Pharmaceutics*, 210-218.
- Dachriyanus.(2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*.(1sted) Padang: Andalas University Press.
- DepartemenKesehatanRepublik Indonesia.(1985). *Cara Pembuatan Simplisia*.Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Eederburgh, B. V., Mooter, G. V., & Agustijns, P. (2008). Top-down production of drug nanocrystal, nanosuspension stabilization, miniaturization and transformation into solid produk. *International Journal of Pharmaceutics*, 364, 64-75.

- Fazal, S. S., & Singla, R. K. (2012). Review on the pharmacognostical & pharmacological characterization of *Apium graveolens* Lin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 36-42.
- Gennaro, A. R. (1985). *Remington Pharmaceutical Sciences*. (17thed). Easton : Mack Publishing Company.
- George, M., & Gosh, I. (2013). Identifying the correlation between drug/stabilizer properties and critical quality attribute (CQAS) of nanosuspension formulation prepared by wet media milling technology. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(1), 142-152.
- Ghosh, I., Daniel, S., Sonali, B., & Colleen, R. (2012). Optimization of formulation and process parameter for the production of nanosuspension by wet media milling techniques: Effect of vitamin E TPGS and nanocrystal particle size on oral absorption. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47(4), 718-728.
- Ginting, A. Br., Sutri I., & Setiawan, J. (2005). *Penentuan Parameter Uji Dan Ketidakpastian Pengukuran Kapasitas Panas Pada Differential Scanning Calorimeter*. *J. Tek. Bhn. Nukl.*, 1(1), 1-57.
- Gulsun, T., Gursoy, R. N., & Oner, L. (2009). Nanocrystal Technology For Oral Delivery of Poorly Water-Soluble. *Fabab J. Pharm. Sci.*, 34, 55-65.
- Hariana, A. (2007). *Tumbuhan obat dan khasiatnya seri 3*. Jakarta: PenebarSwadaya.
- Hayati, S.N., Hendra, H., Ema, D., Dusty, I., &Hardi, J. (2011). *Profil Asam Amino Cacing Tanah (Lumbricus Rubellus) Terenkapsulasi dengan Metode Spray Drying*. *Balai Pengembangan Proses dan Teknologi Kimia (BPPTK)-LIPI*, 34, 1-7.
- Junghanns, J. U. A.H., Müller, R. H. (2008). Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. *International Journal of Nanomedicine*, 3(3), 295-309.
- Junyaprasert, V. B., & Morakul, B. (2014). Nanocrystal for enhancement of oral bioavailability of poorly water soluble drugs. *Asian Journal of Pharmaceutical Science*, 30, 1-11.
- Keck C.M., & Muller R.H. (2005). Drug nanocrystal of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenization. *European Journal of Pharmaceutis and Biopharmaceutics*, 62,3-16.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2014). *Farmakope Indonesia* (Edisi V). Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2017). *Farmakope Herbal Indonesia ed III*, Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kooti, W. & Darael, N. (2017). A Review of the antioxidant activity of celery (*Apium graveolens* L.). *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 22(4), 1029-1034.
- Lachman, L., Lieberman, H. A., & Kanig, J.L. (1994). *Teori dan Praktek Farmasi Industri* (2nded), Diterjemahkan Oleh Suyatmi, S. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Lee, J. & Cheng Y. (2006). Critical Freezing rate in freeze drying Nanocrystal Dispersion. *Journal Controlled Release*, 111, 185-192.
- Li, L. C., & Tian, Y. (2007). Zeta Potential. Dalam: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. (1sted). New York: Marcel Dekker, 429-458.

- Liu, P., Rong, X., Laru, J., Veen, B. V., Kiesvaara, J., Hirvonen, J., Laaksonen, T., & Peltonen, L. (2011). Nanosuspension of poorly soluble drugs: preparation and development by wet milling. *International Journal of Pharmaceutics*, 411, 215-222.
- Liu, P. (2013). *Nanocrystal formulation for poorly soluble drugs*. (Disertasi). Finland: University of Helsinki.
- Martin, A., Swarbrick, J., & Cammaratta, A. (1990). *Farmasi fisik* (3rded). Penerjemah: Yoshita. Jakarta: Universitas Indonesia (UI-Press).
- Mahesh, K. V., Singh, S. K., & Gullati, M. (2014). A comparative study of top-down and bottom-up approaches for the preparation of nanosuspensions of glipizide. *Powder Technology*, 256(1), 436-449.
- Minhaj, A., Kumar, S., Gautam, N., Sana, & Kapoor, S. (2015). Development and optimization of lyophilization cycle. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2), 1053-1062.
- Moschwitz, J. P. (2013). Drug nanocrystal in the commercial pharmaceutical development process. *International Journal of Pharmaceutics*, 142-156.
- Mulja, M. & Suharman. (1995). *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Muller, R. H., Gohla, S., & Keck, C. M. (2011). State of the art of nanocrystal special future, production, nanotoxicology expects and intracellular delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 78, 1-9.
- NanoComposic. (2012). *Guide To Dynamic Light Scattering Measurement And Analysis Vol 1.3*. San Diego, CA 92111.
- Niwa, T., Miura, S., & Danjo, K. (2011). Universal wet-milling technique to prepare oral nanosuspension focused on discovery and preclinical animal studies Development of particle design method. *International Journal of Pharmaceutics*, 405, 218-227.
- Patel, R.P., Pate M. P., & Suthar A. M. (2009). Spray Drying Technology: An Overview. *Indian Journal of Science and Technology*, 2 (10), 44-47.
- Peltonen, L., & Hirvonen, J. (2010). Pharmaceutical nanocrystal by nanomilling: critical process parameter, particle fracturing and stabilization methods. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62, 1569-1579.
- Peltonen, L., & Strachan, C. (2015). Understanding critical quality attributes for nanocrystals from preparation to delivery. *Molecules*, 20, 22286-22300.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. (2016). *Formularium Obat Herbal Asli Indonesia*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Rachmawati, H., Reker-Smit, C., Hooge, M.N.L., Loenen-Weemaes, A.V., Poelstra, K., & Beljaars, L. (2007). Chemical Modification of Interleukin-10 with Mannose 6-Phosphate Groups Yield a Liver-Selective Cytokine. *DMD Fast Forward*, 35, 814-821.
- Rawat, M., Singh, D., Saraf, S., & Saraf, S. (2006). Nanocarriers: Promising Vehicle for Bioactive Drugs. *Biol. Pharm. Bull*, 29(9), 1790-1798.

- Rawle, A. (2010). *Basic Principles of Particle Size Analysis-Technical Paper of Malvern Instrument*. Worcesstershire: United Kingdom.
- Roth, H. J., & Blaschke, G. (1988). *Pharmazeutische Analytik*. Penerjemah Sarjono Kisman & Slamet Ibrahim, Yogyakarta: GadjahMada University Press.
- Roselyndiar. (2012). *Formulasi Kapsul Kombinasi ekstrak herbaseledri (Apium graveolens L) dan Daun Tempuyung (Sonchus oleraceus L)*. (Skripsi). Depok : Universitas Indonesia.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Quin, M. E. (2009). *Handbook of pharmaceutical excipient* (6th ed). London: Pharmaceutical Press.
- Shargel, L., & Wu-pong, S., Yu, A. B. C. (2012), *Biofarmasetikadan farmakokinetikaterapan*. (5thed). Penerjemah: Faisch, B. Suprapti. Surabaya: Airlangga University Press.
- Sorour, M.A., Hassanen, N.H.M., & Ahmed, M.H.M. (2015). Natural antioxidant changes in fresh and dried celery (*Apium graveolens*). *American Journal of Energy Engineering*, 3(2-1), 12-16.
- Stuart, B. (2004). *Infrared Spectroscopy Fundamentals and Applications*. Sydney: University of Technology Sydney Australia.
- Srivalli., Raghava, K. M., & Mishra, B. (2014). Drugs nanocrystal: a way toward scale-up. *Saudi Pharmaceutical Journal*, King saud University.
- Tuomela, A. (2015). *Nanocrystal for Drug Delivery Application*. (Disertasi). Finland: University of Helsinki.
- Vaughn, J.M. & Williams R.O. (2007). *Nanoparticle Engineering In Swarbrick. James*. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. (3rd ed). New York: Nova Science Publisher.
- Voigt, R. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi* (5thed), Penerjemah Soewandi Noerono, Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Zang Y. H., Park, Y. S., Kim, T. J., Fang, L. H., Ahn, H. Y., Hong, J. T., Kim, Y., Lee, C. K., & Yun, Y. P. (2002). Endothelium Dependent Vasorelaxant and Antiproliferative Effects of Apigenin. *General Pharmacology*, 35, 341-347.
- Zhang, J., Liu, D., Huang, Y., Gao, Y., & Qian, S. (2013). Biopharmaceutics classification and intestinal study of Apigenin. *International Journal of Pharmaceutics*, 436, 311-317.