

11-25-2010

ENKAPSULASI KETOPROFEN DENGAN KITOSAN-ALGINAT BERDASARKAN JENIS DAN RAGAM KONSENTRASI TWEEN 80 DAN SPAN 80

Purwantiningsih Sugita

Departemen Kimia, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Darmaga, Bogor 16680, Indonesia, ugiyet@yahoo.com

Napthaleni Napthaleni

Departemen Kimia, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Mersi Kurniati

Departemen Fisika, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Tuti Wukirsari

Departemen Kimia, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Follow this and additional works at: <https://scholarhub.ui.ac.id/science>

Recommended Citation

Sugita, Purwantiningsih; Napthaleni, Napthaleni; Kurniati, Mersi; and Wukirsari, Tuti (2010) "ENKAPSULASI KETOPROFEN DENGAN KITOSAN-ALGINAT BERDASARKAN JENIS DAN RAGAM KONSENTRASI TWEEN 80 DAN SPAN 80," *Makara Journal of Science*: Vol. 14: Iss. 2, Article 20.

Available at: <https://scholarhub.ui.ac.id/science/vol14/iss2/20>

This Article is brought to you for free and open access by the Universitas Indonesia at UI Scholars Hub. It has been accepted for inclusion in Makara Journal of Science by an authorized editor of UI Scholars Hub.

ENKAPSULASI KETOPROFEN DENGAN KITOSAN-ALGINAT BERDASARKAN JENIS DAN RAGAM KONSENTRASI TWEEN 80 DAN SPAN 80

Purwantiningsih Sugita^{1*}), Napthaleni¹, Mersi Kurniati², dan Tuti Wukirsari¹

1. Departemen Kimia, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Darmaga, Bogor 16680, Indonesia
2. Departemen Fisika, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

^{*)}E-mail: ugiet@yahoo.com

Abstrak

Telah dilakukan enkapsulasi ketoprofen dengan kitosan-alginat berdasarkan jenis surfaktan dan ragam konsentrasinya. Ragam konsentrasi baik Tween 80 (polietilena sorbitanmonooleat) maupun Span 80 (sorbitanmonooleat) yang digunakan berada pada kisaran 1-3% dengan lamanya pengadukan berkisar antara 15-60 menit. Penggunaan Tween 80 menghasilkan efisiensi enkapsulasi dan ukuran partikel berukuran nano dalam kisaran 100-1000 nm lebih tinggi dibandingkan dengan Span 80.

Abstract

Encapsulated Ketoprofen by Chitosan-Alginat based on Type and Variation of Tween 80 and Span 80 Concentration. Ketoprofen has been encapsulated by chitosan-alginate based on types of surfactant and its concentration. The variations of concentration either Tween 80 (polietilena sorbitanmonooleat) or Span 80 (sorbitanmonooleat) that used were around (1- 3)% concentrations with stirring around (15-60) minutes. The using of Tween 80 resulted efficiency of encapsulated ketoprofen and nano particle size (100-1000) nm are higher than Span 80.

Keywords: encapsulated ketoprofen, chitosan-alginate, Span 80, Tween 80

1. Pendahuluan

Ketoprofen merupakan obat anti-peradangan kelompok nonsteroidal. Ketoprofen biasa digunakan untuk pengobatan arthritis reumatoid, osteoarthritis, dan berbagai penyakit muskuloskeletal kronis. Waktu eliminasi ketoprofen terlalu cepat, yaitu 1,5–2 jam, sehingga obat tersebut harus sering dikonsumsi. Salah satu cara untuk mengatasi kelemahan tersebut ialah dengan cara mikroenkapsulasi ketoprofen dengan suatu penyalut [1]. Penyalut yang telah digunakan adalah kitosan.

Kitosan adalah polisakarida alami yang memiliki sifat nontoksik, biokompatibel, dan biodegradabel, hanya saja dalam bentuk gel bersifat rapuh sehingga perlu dimodifikasi. Modifikasi kitosan dapat dilakukan baik secara kimia maupun fisika dan berguna untuk meningkatkan sifat reologinya. Modifikasi kimia kitosan yang pernah dilakukan adalah dengan

menambahkan glutaraldehid sebagai agen penautsilang dan polimer alami atau sintesis sebagai bahan saling tembus (*interpenetrating agent*). Polimer alami yang ditambahkan adalah sejenis hidrokoloid, diantaranya gom guar [2], alginat [3-5], karboksimetil selulosa (CMC) [6] dan gom xantan [7], sedangkan polimer sintesis diantaranya poli(vinil alkohol) (PVA) [8].

Modifikasi kitosan dengan penautsilang glutaraldehid yang telah diujicobakan untuk sistem pengantaran obat ketoprofen baik melalui kajian disolusi secara *in vitro* maupun difusi adalah kitosan-gom guar [9,10], kitosan-CMC [11], kitosan-alginat [12,13] dan kitosan-gom guar-alginat [14]. Kinerja membran kitosan termodifikasi tersebut melalui uji difusi memberikan gambaran bahwa mekanisme pelepasan ketoprofen diawali dengan proses pembengkakan (*swelling*) membran saat membran kontak dengan cairan, selanjutnya pembukaan pori sehingga obat terlepas. Hasil pembahasan disolusi secara *in vitro* menunjukkan

bahwa membrane kitosan termodifikasi yang mampu menahan pelepasan ketoprofen dalam medium asam (pH 1,2) sampai menit ke-180 berturut-turut adalah kitosan-gom guar-alginat 2-13%, kitosan-alginat 7-17%, kitosan-cmc 11-14% dan kitosan gom guar (pada menit ke-90, mikrokapsul hancur). Sementara pelepasan ketoprofen maksimum dalam medium basa (pH 7,4) berturut-turut adalah kitosan-alginat (73-100% sampai menit ke-360), kitosan gom guar (52-74% sampai menit ke-90) dan kitosan-cmc (38-45% sampai menit ke-120).

Ukuran partikel enkapsulasi ketoprofen baik yang terjerat kitosan-alginat 150 nm–6 μm [13], kitosan-gom guar (1-11 μm) [9], dan kitosan-CMC 3–12 μm [11] yang telah diteliti selama ini sebagian besar berukuran mikro, bahkan ketoprofen yang terjerat rangkap kitosan-gom guar dengan alginat mencapai milimeter 0,63-2,0mm. Penggunaan ukuran enkapsulasi ini tidak dapat mencapai sasaran yang berukuran kecil atau spesifik seperti virus 20-450 nm, protein 5-50 nm, atau gen (2 nm lebar dan 10-100 nm panjang) [15]. Untuk mencapai sasaran tersebut diperlukan ukuran partikel yang lebih kecil, yaitu dalam ukuran nano. Nanopartikel adalah dispersi butiran atau partikel padat dengan kisaran ukuran 10-1000 nm [16,17]. Nanopartikel telah dipergunakan sebagai salah satu pendekatan fisika untuk mengubah dan meningkatkan farmakokinetik dan farmakodinamik dari berbagai jenis molekul obat. Hartig *et al.* [16] melaporkan bahwa nanopartikel dapat berpenetrasi di antara pembuluh kapiler dan sel di dalam tubuh sehingga obat dapat lebih tepat sasaran.

Tujuan penelitian ini adalah membuat nanopartikel ketoprofen terjerat kitosan-alginat berdasarkan pengaruh jenis dan konsentrasi surfaktan. Bahan penjerat yang digunakan adalah glutaraldehid 4,5% (v/v), alginat 0,62% (b/v), dan kitosan 1,75% (b/v), sedangkan obat adalah larutan ketoprofen 0,8% (b/v) dalam etanol 96% [13]. Ragam yang dilakukan adalah penggunaan jenis dan konsentrasi surfaktan serta lamanya waktu pengadukan ketika pencampuran larutan kitosan dengan larutan ketoprofen. Surfaktan yang digunakan adalah surfaktan golongan nonionik yang bersifat tidak toksik, yaitu Tween 80 dan Span 80. Surfaktan merupakan molekul yang diadsorpsi oleh permukaan partikel untuk mencegah terjadinya gumpalan. Pemecahan partikel dilakukan dengan memberikan gelombang ultrasonik pada frekuensi 20 kHz dan lamanya waktu pengadukan (15-60) menit.

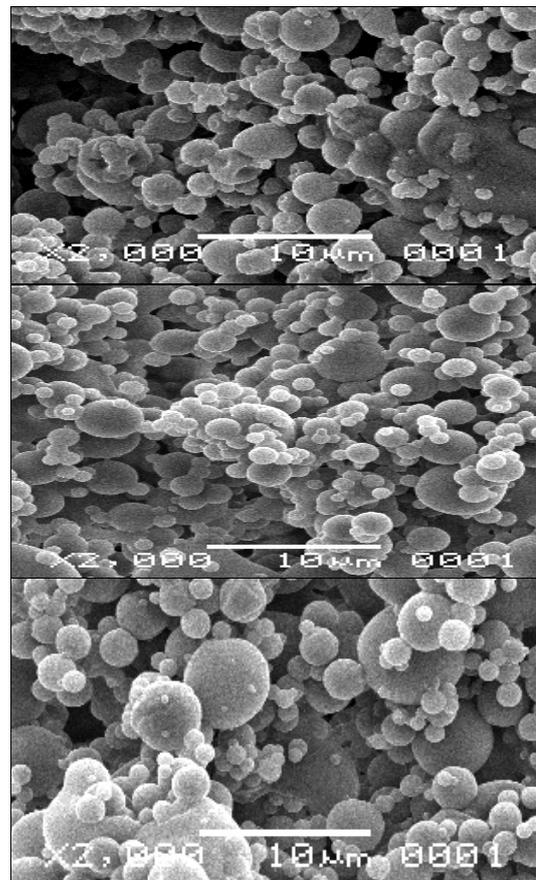
2. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Departemen Kimia dan Laboratorium Material Departemen Fisika FMIPA IPB. Bahan-bahan yang digunakan adalah kitosan niaga (Bratachem) yang memiliki berat molekul $3,5 \times 10^5$ g/mol, alginat, tripoliposfat, Tween 80, Span 80, larutan bufer fosfat

($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} - \text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) (1 : 2,57) pH 7,2 dan senyawa aktif ketoprofen yang diperoleh dari PT Kalbe Farma. Alat-alat yang digunakan adalah ultrasonik prosesor, spektrofotometer UV-1700 PharmaSpec, pelapis ion Au IB-2, dan mikroskop elektron susunan (SEM) JEOL JSM-6360LA.

Enkapsulasi ketoprofen-kitosan alginat [13].

Sebanyak 228,6 mL larutan kitosan 1,75% (b/v) dalam larutan asam asetat 1% (v/v) ditambahkan dengan 38,1 mL larutan alginat 0,625% sambil diaduk. Setelah itu, sebanyak 7,62 mL tripoliposfat 4,5% (v/v) ditambahkan ke dalam larutan kitosan-alginat sambil diaduk hingga homogen. Sebanyak 250 mL larutan ketoprofen 0,8% (b/v) dalam etanol 96% dicampurkan ke dalam larutan kitosan-alginat tersebut sehingga nisbah bobot kitosan-ketoprofen 2 : 1. Setelah itu, 5 mL Tween-80 dengan ragam konsentrasi 1%, 2%, dan 3% di dalam pelarut air ditambahkan dan campuran diberi gelombang ultrasonik pada frekuensi 20 kHz dengan lamanya waktu pengadukan (15-60) menit. Dengan perlakuan yang sama juga dilakukan untuk pemakaian Span 80. Nanopartikel dibentuk menggunakan alat pengering semprot (*spray dryer*). Formulasi yang diperoleh sebanyak 18 formula ditampilkan pada Tabel 1.



Gambar 1. Foto SEM Nanopartikel Kosong (a), Terisi Ketoprofen pada Formulasi Tween 80 (b) dan Span 80 (c) pada Perbesaran 2000 Kali

Tabel 1. Formula Nanopartikel

Formula			
Larutan 1: Kitosan 1,75% (b/v), alginat 0,625% (b/v), tripoliposfat 4,5% (v/v)			
Larutan 2: Ketoprofen 0,8% (b/v) dalam etanol 96%			
Pencampuran larutan 1 dan 2			
Formula	Surfaktan	Konsentrasi (%)	Waktu Sonikasi (menit)
A	Tween 80	1	15
B		2	
C		3	
D	Tween 80	1	30
E		2	
F		3	
G	Tween 80	1	60
H		2	
I		3	
J	Span 80	1	15
K		2	
L		3	
M	Span 80	1	30
N		2	
O		3	
P	Span 80	1	60
Q		2	
R		3	

Pencirian nanopartikel menggunakan mikroskop elektron susunan (SEM) JEOL JSM-6360LA. Analisis SEM dilakukan baik pada partikel kitosan-alginat kosong maupun yang terisi ketoprofen. Ukuran partikel diukur secara manual dari data SEM.

Efisiensi Nanoenkapsulasi Ketoprofen [9]. Sebanyak 50 mg kapsul ditimbang dan dilarutkan ke dalam 100 mL bufer fosfat pH 7,2. Campuran tersebut dikocok selama 24 jam lalu disaring. Kemudian filtrat diencerkan sebanyak 50 kali dan dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 260,1 nm. Absorbansi yang terbaca digunakan untuk menentukan konsentrasi ketoprofen dengan bantuan kurva standar.

3. Hasil dan Pembahasan

Ukuran partikel dan efisiensi penyalutan. Hasil analisis partikel kitosan-alginat baik tanpa maupun terisi ketoprofen dapat dibedakan secara visual setelah dianalisis menggunakan SEM. Partikel tanpa ketoprofen memiliki bentuk bulat agak keriput (Gambar 1a),

sedangkan partikel terisi ketoprofen memiliki bentuk bulat sempurna (Gambar 1b dan 1c). Hasil pengukuran partikel semua formula dari data SEM menunjukkan bahwa ukuran partikel beragam dari ukuran mikro sampai dengan nano. Rekapitulasi data ukuran partikel dan persentase efisiensi ketoprofen terjerat ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa persentase ukuran partikel nano yang terbentuk pada penggunaan Tween 80 lebih besar dibandingkan Span 80. Tingkat keseragaman ukurannya justru sebaliknya, yaitu pemakaian Span 80 lebih baik dibandingkan dengan Tween 80. Kisaran persentase ukuran partikel nano 150 nm-13,5 μ m dari 9 formula yang menggunakan Tween 80 adalah 7-53%, sedangkan yang menggunakan Span 80 dengan kisaran ukuran 151 nm-12 μ m adalah 19-34%. Sementara, persentase efisiensi ketoprofen terjerat kitosan-alginat baik formula yang menggunakan Tween 80 maupun Span 80 berada pada kisaran berturut-turut 31-73% dan 29-68%.

Persentase efisiensi ketoprofen terjerat kitosan-alginat pada pemakaian Tween 80 dengan kisaran ukuran partikel 150 nm-13,5 μ m lebih tinggi dibandingkan dengan penyalut kitosan-cmc, dan salut rangkap kitosan-gom guar dengan alginat, yaitu berturut-turut 39-43% pada kisaran ukuran 3-12 μ m [11] dan 12-39% pada kisaran ukuran 0,63-2,0 mm [14]. Dari data ini terlihat bahwa semakin banyak partikel berukuran nano, jumlah ketoprofen terjerat makin meningkat karena meningkatnya luas permukaan partikel.

Tabel 2. Penentuan Ukuran Partikel dan Efisiensi Penyalutan

Formula	Ukuran partikel (nm)	Persentase nano (10-1000) nm	Persentase Efisiensi terjerat
A	300-8300	27	39-45
B	290-9760	31	46-64
C	187-7500	53	31-43
D	300-6500	40	46-48
E	250-10000	37	36-46
F	580-13500	7	43-73
G	200-7750	39	47-51
H	230-5880	42	39-64
I	150-10750	44	31-43
J	176-12000	19	31-43
K	400-10910	21	36-49
L	550-7860	23	40-68
M	151-10680	31	29-45
N	400-8850	28	36-49
O	300-10700	34	43-44
P	300-4350	34	30-44
Q	300-7080	33	48-53
R	500-5850	29	35-52

Pengaruh Lamanya Pengadukan, Jenis dan Konsentrasi Surfaktan terhadap Efisiensi Enkapsulasi.

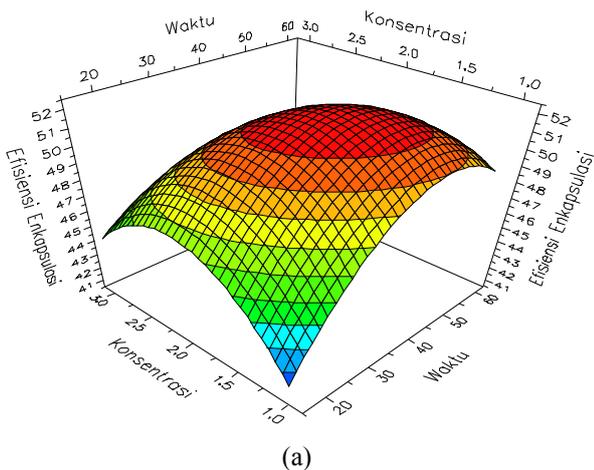
Ketoprofen terjerat dalam matriks kitosan-alginat berdasarkan pengaruh konsentrasi Tween 80 dan Span 80 dengan lamanya pengadukan ditunjukkan berturut-turut pada Gambar 2a dan 2b. Gambar 2a menunjukkan bahwa pada pemakaian konsentrasi Tween 80 1,3-2,3% dengan lamanya pengadukan 29-53 menit, sedangkan dari Gambar 2b pada pemakaian Span 80 2,26-3% dan lamanya pengadukan sekitar 15-18 menit menghasilkan persentase efisiensi ketoprofen terjerat kitosan-alginat terbesar yaitu berturut-turut pada kisaran 51,2-52,3% dan 49,3-50,8% (daerah warna merah pada Gambar 2a dan 2b). Kedua kurva tersebut memperlihatkan bahwa pemakaian konsentrasi Tween 80 lebih rendah dibandingkan dengan Span 80. Tetapi, lamanya pengadukan justru sebaliknya, yang menggunakan Tween 80 lebih lama dibandingkan dengan Span 80 untuk mendapatkan persentase efisiensi ketoprofen terjerat kitosan-alginat yang tinggi. Kedua surfaktan ini merupakan surfaktan nonionik dengan perbedaan nilai *hydrophile lipophile balance* (HLB). Tween 80 memiliki

HLB 15,0 sedangkan Span 80 memiliki HLB 4,3. Dengan demikian, struktur Tween 80 lebih ruah dibandingkan dengan Span 80. Keruahan struktur ini berpengaruh pada mekanisme kerja kedua surfaktan tersebut dalam menurunkan tegangan permukaan [19].

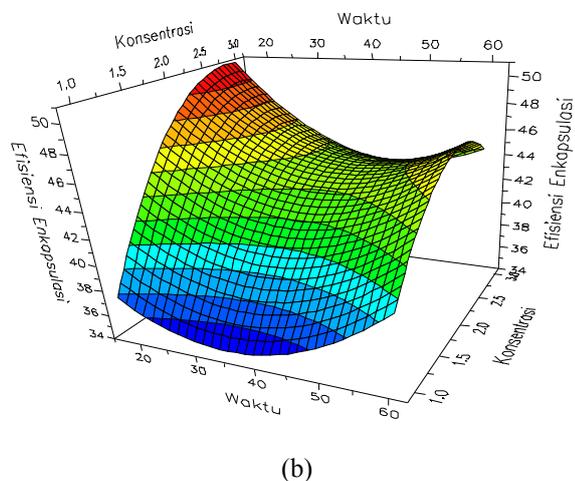
Pengaruh Lamanya Pengadukan, Jenis dan Konsentrasi Surfaktan terhadap Jumlah Partikel Nano.

Pengaruh lamanya pengadukan dan konsentrasi surfaktan terhadap persentase partikel berukuran nano dibedakan pengamatannya pada partikel nano dengan kisaran ukuran 100-500 nm dan 501-1000 nm (Gambar 3 dan 4). Rekapitulasi pemisahan ukuran ditampilkan pada Tabel 3. Tabel 3 menunjukkan bahwa dari 18 formula yang memiliki kisaran ukuran nano baik kisaran ukuran 100-500 nm maupun 501-1000 nm terbesar pada formula C dengan persentase berturut-turut 19,13% dan 34,10%. Formula C adalah formula dengan pemakaian Tween 80 3% dan lamanya pengadukan 15 menit ketika mencampurkan larutan kitosan dengan ketoprofen.

Gambar 3a menunjukkan bahwa pada pemakaian konsentrasi Tween 80 sekitar 2,11-2,93% dengan lamanya

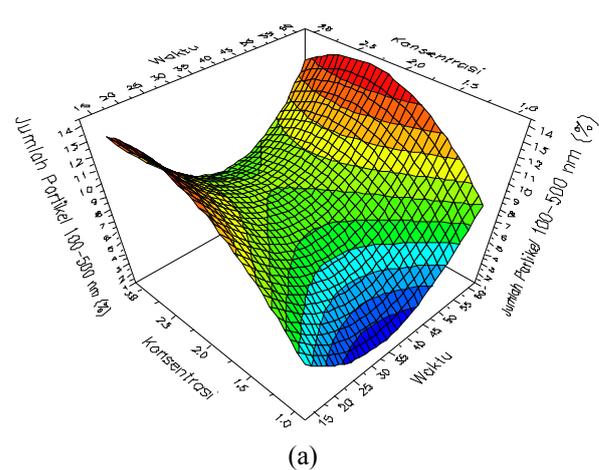


(a)

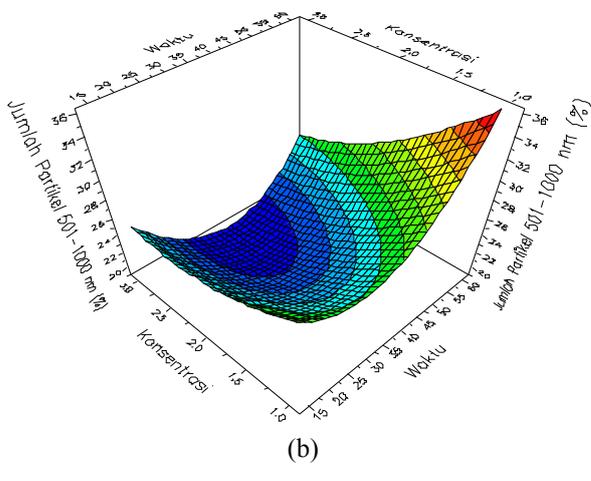


(b)

Gambar 2. Pengaruh Lamanya Pengadukan dan Konsentrasi Surfaktan: (A) Tween 80 dan (B) Span 80 terhadap Efisiensi Enkapsulasi

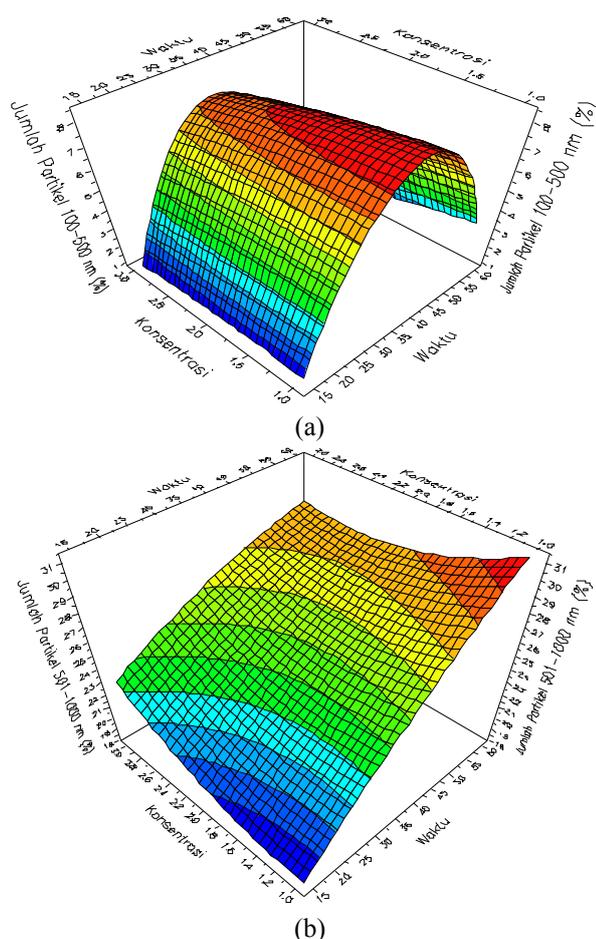


(a)



(b)

Gambar 3. Pengaruh Lamanya Pengadukan dan Konsentrasi Tween 80 terhadap % Ukuran Partikel Nano: (a) (100-500 nm), (b) (501-1000 nm)



Gambar 4. Pengaruh Lamanya Pengadukan dan Konsentrasi Span 80 terhadap % Ukuran Partikel Nano: (a) (100-500 nm), (b) (501-1000 nm)

Tabel 3. Pemisahan Persentase (%) Ukuran Partikel Nano Berukuran (100-500) nm dan (501-1000) nm

Formula	Persentase ukuran partikel nano	
	100-500 nm	501-1000 nm
A	2	25
B	11	20
C	19	34
D	7	32
E	10	27
F	0	7
G	6	34
H	14	28
I	15	29
J	1	18
K	2	19
L	0	23
M	7	24
N	6	22
O	8	27
P	3	31
Q	3	30
R	1	28

lamanya pengadukan sampai 60 menit, sedangkan dari Gambar 4a pada pemakaian Span 80 sampai konsentrasi 3% dan lamanya pengadukan sampai 60 menit menghasilkan persentase partikel nano dengan ukuran (100-500) nm terbesar, yaitu berturut-turut 13,1-14,3% dan 7,89-8,60% (daerah warna merah pada Gambar 3a dan 4a). Sementara pada Gambar 3 dan 4 lainnya terlihat bahwa pada pemakaian Tween 80 (Gambar 3b) dan Span 80 (Gambar 4b) 1% dengan lamanya pengadukan sampai 60 menit menghasilkan persentase partikel nano berukuran (501-1000) nm terbesar yaitu berturut-turut 34,7-36,3% dan 30,1-31,3% (daerah warna merah pada Gambar 3b dan 4b). Dari keempat kurva tersebut terlihat bahwa untuk mendapatkan persentase partikel nano dengan ukuran (100-500) nm ketika pemakaian konsentrasi surfaktan lebih tinggi dibandingkan dengan persentase partikel nano dengan ukuran 501-1000 nm, tetapi persentase partikel nano yang dihasilkan justru sebaliknya, yaitu pada pemakaian konsentrasi surfaktan yang rendah baik pada Tween 80 maupun Span 80. Silva *et al.* [20] melaporkan bahwa pemakaian Tween 80 dan Span 80 yang tinggi dapat menurunkan diameter partikel dari 132,6 μm menjadi 24,9 μm untuk Span 80, dan dari 198 μm menjadi 181,3 μm untuk Tween 80.

Pemakaian Tween 80 dan Span 80 menghasilkan % partikel nano yang berukuran 100-500 nm dan 501-1000 nm tidak signifikan berbeda. Hal ini dapat dijelaskan karena keduanya tergolong surfaktan nonionic dan perbedaannya hanya pada nilai HLB-nya. Perbedaan nilai HLB ini akan membedakan jenis sistem emulsinya. Nilai HLB yang tinggi akan stabil pada sistem emulsi O/W (*oil in water*) karena didominasi oleh gugus hidrofilik sedangkan nilai HLB rendah akan stabil pada sistem emulsi W/O (*water in oil*) karena didominasi oleh gugus hidrofobik [19]. Pada penelitian ini medium pendispersi matriks kitosan-alginat bersistem (W/O) sehingga penggunaan Tween 80 sebagai surfaktan bekerja lebih baik.

4. Simpulan

Penggunaan Tween 80 menghasilkan persentase efisiensi ketoprofen terjerat kitosan-alginat dan partikel berukuran nano dalam kisaran 100-1000 nm lebih tinggi dibandingkan dengan Span 80. Formulasi yang menghasilkan persentase partikel berukuran nano 100-1000 nm adalah formula yang menggunakan Tween 80 dengan konsentrasi sebesar 3% dan lamanya pengadukan 15-60 menit.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktur DP3M Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Depdiknas melalui Hibah Kompetensi 219/SP2H/PP/DP2M/V/2009 atas nama Prof. Dr. Purwantiningsih Sugita tahun 2009 sebagai sumber dana penelitian ini.

Daftar Acuan

- [1] T. Yamada, H. Onishi, Y. Machida, *Yakugaku Zasshi*. 121 (2001) 239.
- [2] P. Sugita, A. Sjahriza, S.I. Lestari, *J. Natur.* 9 (2006a) 32.
- [3] P. Sugita, A. Sjahriza, D. Wahyono, *J. Sains dan Teknologi*. 8 (2006b) 133.
- [4] A. Cardenas, W.A. Monal, F.M. Goycoolea, I.H. Cia-para, C. Peniche, *Macromol Biosci.* 3 (2003) 535.
- [5] T.W. Tan, B. Hu, J. Xian-Hua, Z. Mu, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*. 18 (2003) 207.
- [6] P. Sugita, A. Sjahriza, Rachmanita, *J. Alchemy*. 6 (2007a) 57.
- [7] P. Sugita, A. Sjahriza, D.W. Utomo, *Prosiding 1st International Conference on Chemical Sciences*, Yogyakarta, 2007b, MAT/33-4.
- [8] T. Wang, M. Turhan, S. Gunasekaram, *Polym. Int.* 53 (2004) 911.
- [9] P. Sugita, B. Srijanto, F. Amelia, B. Arifin, *Seminar bersama ITB - UKM Malaysia*, Bandung, 2007c.
- [10] F. Nata, P. Sugita, A. Syahriza. *Prosiding International Conference and Workshop on Basic and Applied Science 2007*, Surabaya-Indonesia, 2007, p. 297.
- [11] P. Sugita, S.S. Achmadi, Y. Yundhana. *J. Natur*, 2010 (Inpress).
- [12] P. Sugita, R.S. Asnel, B. Arifin, T. Wukirsari, *J. Indonesian of Chemistry*, 2010 (Inpress).
- [13] B.D. Aryanto, *Skripsi Sarjana*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Indonesia, 2010.
- [14] P. Sugita, Y.A. Setyani, B. Srijanto, T. Wukirsari, *J. Controlled Release*, 2010 (Inpress).
- [15] A.H. Morrish, *The Physical Principles of Magnetism*, IEEE Press, Newyork, 2001.
- [16] Hartig et al. *Pharm Research*. 24 (2007) 12.
- [17] V.J. Mohanraj, Y. Chen. *J. Pharmaceuticals Research*. 5 (2006) 561.
- [18] X. Yongmei, D. Yumin, *International Journal of Pharmaceutics*. 250 (2003) 215.
- [19] J. Jiao, J.D. Burgess, *The AAPS Pharm. Sci.* 5 (2003) Artikel 7.
- [20] Silva et al., *The AAPS Journal*. 7 (2006) Article 88.