

FORMULASI TABLET NANOPARTIKEL EKSTRAK TERSTANDAR DAUN PULAI (*Alstonia scholaris* (L). R. BR) SEBAGAI ANTIDIABETES

Risma Marisi Tambunan*, Deni Rahmat, Jenifer Sara Silalahi

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta

*Email : rmu_tambunan@yahoo.com

ABSTRAK

Daun Pulai (*Alstonia scholaris* (L). R. BR) merupakan salah satu jenis tumbuhan yang telah diketahui berkhasiat sebagai antidiabetes. Ekstraksi daun pulai dilakukan secara maserasi kinetik dengan etanol 70% dan dipekatkan sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental diubah menjadi nanopartikel dengan metode gelasi ionik. Nanopartikel ekstrak kering kemudian diformulasikan menjadi sediaan tablet dengan metode cetak langsung menggunakan 35% avicel PH 102. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid, kumarin, kuinon dan minyak atsiri. Hasil evaluasi nanopartikel didapatkan ukuran partikel rata-rata 186,93 nm, zeta potensial -68,85 mV dan bentuk partikel hasil pengeringan yang sferis. Hasil evaluasi sediaan tablet menunjukkan bobot rata-rata 501,8 mg dan waktu hancur 13,26 menit. Hasil uji penghambatan terhadap enzim α -glukosidase secara *in vitro* pada konsentrasi 225 μ g/mL menunjukkan % penghambatan pada ekstrak kental, ekstrak kering dan sediaan tablet berturut-turut adalah 92,09 %, 85,90 %, dan 75,83 % sedangkan akarbose dan kuersetin menunjukkan % penghambatan sebesar 95,21 % dan 89,67 %. Dapat disimpulkan bahwa tablet yang mengandung ekstrak nanopartikel dapat mempunyai efek antidiabets.

Kata kunci: Daun pulai; *Alstonia scholaris* (L). R. BR; ekstrak etanol; nanopartikel; α -glukosidase

ABSTRACT

Pulai leaves (*Alstonia scholaris* (L). R. BR) is one of plants which has an antidiabetic effect. Extraction was carried by maceration kinetic with 70% ethanol and the resulting extract was concentrated by rotary evaporator to obtain a thick extract and was then changed into nanoparticles using ionic gelation method. The dried nanoparticles were formulated into tablet with direct compression method using 35% avicel PH 102. Phytochemical screening showed both extract and nanoparticles contains alkaloid, flavonoid, saponins, tannins, steroid/triterpenoids, coumarins, quinones and essential oils. The evaluation of nanoparticles demonstrated particle size of 186.93 nm, zeta potential of -68.85 mV and spherical shape of dried particles. The evaluation tablets showed an average weight of 501.8 mg and disintegration time of 13.26 minutes. Based on the result of activity of α -glucosidase inhibition *in vitro*, the percentage (%) of inhibition of the extract, the nanoparticles and the tablets at concentrations of 225 mg/mL are 92.09, 85.90, and 75.83%, respectively while acarbose and quercetin showed 95.21% and 89.67 % of inhibition, respectively. It could be concluded that the tablets of nanoparticles containing extract show an antidiabetic effect.

Key words: Pulai leaves; *Alstonia scholaris*; nanoparticles; α -glukosidase

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi insulin. Diabetes mellitus dapat diterapi dengan insulin atau dengan obat antidiabetik oral seperti sulfonilurea, biguanida, dan penghambatan α -glukosidase. Namun, terapi ini memerlukan biaya yang relatif tinggi yang harus digunakan terus menerus dan memiliki efek samping terhadap pasien. Oleh karena itu, perlu dicaricara alternatif, salah satunya dengan obat dari bahan bahan alam yang semakin diminati masyarakat karena dipercaya lebih aman untuk dikonsumsi, harganya terjangkau, serta efek samping lebih rendah dibanding obat sintetik.

Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antidiabetes adalah pulai dengan nama latin *Alstonia scholaris* familia Apocynaceae. Daun pulai mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, alkaloid ditamine ($C_{18}H_{19}NO_3$), ditaine (echititamine), dan echi-kaetchine. Menurut penelitian Meena A.K,dkk mengenai efek hipoglikemik dari ekstrak metanol-air daun pulai terhadap tikus, terbukti dapat menghambat glukosa darah seperti sukrosa dan maltosa dengan nilai IC_{50} sebesar 1,95 dan 1,43 mM. Senyawa yang memberikan efek antidiabetes adalah golongan flavonoid yaitu kuersetin telah telah diisolasi menjadi quersetin-3-O-b-D-xylopyranosyl (1000/200)-b-D-galactopyranoside dan (1000/200) lyoniresinol-3-O-b-D-glucopyranoside. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ameria, telah dilakukan penapisan fitokimia ekstrak etanol 70% daun pulai dan dihasilkan bahwa daun pulai

mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, steroid-triterpenoid, kumarin dan minyak atsiri dan uji penghambatan enzim α -glukosidase dengan dosis 225 μ g/ml menunjukkan persen (%) penghambatan sebesar 87,95% (4).

Berdasarkan penelitian diatas, maka pada penelitian ini, dilakukan ekstraksi daun pulai menggunakan pelarut etanol 70% secara maserasi kinetik. Maserat etanol daun pulai yang didapat kemudian di kentalkan menggunakan vakum rotavapor menjadi ekstrak kental. Simplisia dan ekstrak kental daun pulai diidentifikasi metabolit sekundernya dengan penapisan fitokimia yang menunjukkan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid, kumarin,kuinon dan minyak atsiri. Selanjutnya, ekstrak etanol daun pulai dibuat dalam bentuk nanopartikel dengan metode gelasi ionik yaitu dengan menggunakan kitosan dan natrium tripolifosfat yang selanjutnya dikeringkan dengan cara pengeringan semprot (*spray drying*) sehingga didapatkan serbuk kering nanopartikel dari ekstrak etanol daun pulai.

Serbuk kering nanopartikel ekstrak daun pulai kemudian diformulasikan ke dalam bentuk sediaan tablet menggunakan metode cetak langsung yang secara umum terdiri dari bahan aktif, pengisi, pengikat, penghancur, lubrikan dan pelincir. Formulasi tablet ini menggunakan avicel pH 102 dengan konsentrasi 35%. Pada formulasi ini menggunakan avicel pH 102 sebagai pengisi-pengikat (*filler-binder*), kalsium fosfat sebagai pengisi, talk sebagai pelincir dan magnesium stearat sebagai lubrikan. Pada ekstrak etanol daun pulai, serbuk kering nanopartikel ekstrak dan sediaan tablet dilakukan penetapan kadar kuersetin dan uji penghambatan terhadap enzim α -glukosidase secara *in-vitro*.

Metode Penelitian

Bahan

Simplisia daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.BR.), etanol 96%, etanol 70%, aquadest, asam klorida, dimetil sulfoksida, enzim α -glukosidase (G5003-100UN, Sigma), substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (N1377-IG, Sigma), bovine serum albumin (Sigma), akarbose (Bayer), amonia 10% & 25%, kloroform, Bouchadart, magnesium, asam klorida 25%, amil alkohol, larutan besi (III) klorida 1%, pereaksi Stiasny, natrium asetat, eter, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, natrium hidroksida 1N, dimetilsulfoksida, fenolftalein, petroleum eter, matriks kitosan, tripolifosfat (TPP), silica gel GF₂₅₄, enzim α -glukosidase, bovine serum albumin, kuersetin, dimetil sulfoksida, Avicel PH 102, kalsium fosfat, talk, magnesium stearat, *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida,

Pembuatan ekstrak etanol 70% daun pulai

Daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.BR.) segar dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani daun pegangan dikeringkan secara alami, kemudian diblender dan dimaserasi menggunakan etanol 70%. Ekstrak yang diperoleh dikentalkan menggunakan vakum rotavapor dan dipekatkan di atas penangas air dan dihitung DER-native serta rendemen ekstrak. (Depkes, 1995)

Pemeriksaan parameter mutu ekstrak

- a. Parameter spesifik
 - 1) Organoleptik
 - 2) Penetapan senyawa terlarut dalam pelarut tertentu
- b. Parameter non spesifik
 - 1) Penetapan susut pengeringan secara gravimetri
 - 2) Penetapan kadar air dengan Karl Fischer secara titrimetri

- 3) Penetapan kadar abu total secara gravimetri
- 4) Penetapan kadar abu tidak larut asam secara gravimetri
- 5) Penetapan sisa pelarut dengan kromatografi gas
- 6) Penetapan cemaran logam berat dengan Spektromofotometri Serapan Atom (AAS)
- 7) Penetapan cemaran mikroba dengan menetapkan Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka Kapang Khamir (AKK)

Penetapan kadar kuersetin

Larutan Baku Pembanding :

Sejumlah 100 mg BP kuersetin dilarutkan dalam 10 ml etanol 95% dalam labu tentukur. Lalu pipet 1 ml kemudian encerkan dengan etanol 95% ad 10 ml dalam labu tentukur. Kemudian totolkan sebanyak 5 μ l pada lempeng KLT GF 254.

Larutan Uji :

Sejumlah 100,3 mg ekstrak kental, \pm 80,8 mg serbuk kering nanopartikel ekstrak dan \pm 134,7 mg serbuk tablet dilarutkan dalam 10 ml etanol 95% dalam labu tentukur. Kemudian ditotolkan sebanyak 20 μ l pada lempeng KLT GF 254.

Fase Gerak = Kloroform : Aseton : Asam Formiat = 10 : 2 : 1

Ukur luas area menggunakan densitometer pada panjang gelombang 425nm.

Kadar kuersetin dalam ekstrak dihitung dalam % b/b

Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol daun pulai berbasis kitosan-tripolifosfat menggunakan metode gelasi ionik.

Ekstrak pulai sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 50 mL etanol 70% + 50 mL DMSO 1% + 50 mL PPG + 50 mL

Kitosan 1% yang kemudian dihomogenkan. Lalu, diteteskan 4 mL Natrium Tripolifosfat (Na TPP) 0,2% yang larut dalam aquadest. Cara penambahan larutan TPP 0,2 % diteteskan dengan kecepatan 1 tetes/3 detik dan dalam magnetik stirrer rpm 400 hingga terbentuk nanopartikel yang ditandai

dengan kekeruhan yang homogen lalu tetap diatas magnetik stirrer selama 10 menit agar didapat larutan nanopartikel ekstrak daun pulai yang stabil. Kemudian diamati kestabilan larutan nanopartikel ekstrak daun pulai selama 5 hari yang meliputi warna, kekeruhan dan endapan.

Formulasi Tablet dari Nanopartikel Ekstrak

Tabel. 1. Formula tiap tablet ekstrak daun pulai

Formula	F1 (%)
Serbuk kering nanopartikel ekstrak etanol daun pulai	60
Avicel PH 102	35
Talk	1
Magnesium stearat	1
Kalsium fosfat	Ad 100

Dibuat tablet dengan metode Cetak langsung dengan bobot masing-masing tablet 500 mg.

Uji penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase secara in-vitro

Larutan enzim dibuat dengan melarutkan 1.0 mg enzim α -glukosidase dalam larutan buffer fosfat (pH 7) yang mengandung 200 mg serum bovine albumin, sebelumnya digunakan, enzim diencerkan 10 kalidengan buffer fosfat (pH 7). Campuran pereaksi terdiri atas 250 μ L p-nitrofenil α -D-glukopiranosida (p-NPG) 2 mM sebagai substat, 400 μ L larutan buffer fosfat (pH 7) dan 100 μ L larutan contoh dalam DMSO. Kemudian campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selam 5 menit, setelah itu ditambahkan larutan enzim sebanyak 250 μ L dan diinkubasi kembali selama 15 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan menambah Na₂CO₃ 200mM sebanyak 1000 μ L. Kemudian larutan diukur pada panjang gelombang 405nm. Akarbose digunakan sebagai baku pembanding

dengan perlakuan yang sama seperti sampel. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. (Triana R, 2010)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan ekstrak etanol 70%

Pada pembuatan ekstrak etanol 70% daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.BR.) diperoleh DER-native 2,93 dan rendemen ekstrak 34,10%.

Penapisan fitokimia dan pemeriksaan parameter mutu ekstrak

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun pulai mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid/triterpenoid, kuinon, kumarin dan minyak atsiri.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan identitas ekstrak etanol 70% daun pulai

No	PARAMETER	HASIL
1	Nama ekstrak	<i>Alstonia scholaris</i> folii extracrum spissum
2	Nama latin tanaman	<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R. Br.
3	Senyawa terlarut dalam air	47,7693%
4	Senyawa terlarut dalam etanol	71,8145%
5	Susut Pengeringan	15,78%
6	Kadar air	8,42%
7	Kadar abu total	7,68%
8	Kadar abu tidak larut asam	0,33%
9	Kadar sisa etanol rata-rata	0,12%
10	Cemaran logam berat (Pb)	0,0242 mg/kg (memenuhi syarat; tidak lebih dari 10mg/kg)
11	Cemaran logam berat (Cd)	0,00014 mg/kg (memenuhi syarat; tidak lebih dari 0,3mg/kg)
12	Cemaran mikroba	
	-ALT	$7,925 \times 10^3$ koloni/g (syarat: tidak lebih dari 1×10^3 koloni/g)
	-AKK	$2,5 \times 10^2$ koloni/g (syarat: tidak lebih dari 1×10^3 koloni/g)
13	Flavonoid Total	13,37%

Penetapan kadar kuersetin dengan KLT densitometri

Pada penetapan kadar senyawa kuersetin secara KLT densitometri, ekstrak daun pulai mengandung 0,51% kuersetin.

Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar KLT Densito

No	Sampel	Luas area bercak	Cu	Kadar kuersetin (%)
1	BP kuersetin	6273,7	-	
2	Ekstrak etanol daun pulai	3220,6	0,5133	0,5118
3	Serbuk kering Nanopartikel ekstrak	2290,5	0,3651	0,3647
4	Sediaan tablet dari nanopartikel ekstrak	1937,5	0,3088	0,3085

Hasil evaluasi suspensi nanopartikel; Uji Pemeriksaan Ukuran dan Distribusi Partikel serta Uji Potensial Zeta

Tabel 4. Hasil Uji Evaluasi Suspensi Nanopartikel

No	UJI	HASIL
1	Diameter partikel	186,93 nm
2	Polydispersity	0,333
3	Potensial Zeta	-68,85 mV

Suatu larutan nanopartikel dikatakan memiliki ukuran nanopartikel jika diameter partikel berukuran 10-1000 nm. Data hasil uji pemeriksaan ukuran partikel pada larutan nanopartikel ekstrak daun pulai menunjukkan ukuran partikel yang memenuhi syarat ukuran nanopartikel yaitu 186,93 nm sehingga larutan nanopartikel ekstrak daun pulai memenuhi persyaratan sebagai larutan nanopartikel.

Distribusi ukuran partikel dinyatakan dalam indeks polidispersitas. Rentang indeks polidispersitas berada diantara 0 sampai dengan 1. Nilai indeks polidispersitas mendekati 0 menunjukkan dispersi yang homogeny. Sedangkan indeks polidispersitas dengan nilai lebih dari 0,5 menunjukkan heterogenitas yang tinggi. Hasil dari nanopartikel ekstrak daun pulai memiliki indeks polidispersitas sekitar 0,2 – 0,3, sehingga nanopartikel ekstrak daun pulai menunjukkan dispersi yang relatif homogen.

Semakin besar kekuatan tolak menolak antara partikel maka semakin kecil kemungkinan partikel bergabung dan membentuk agregat. Efek ini berhubungan dengan pengikatan gugus anionik oleh gugus amin yang panjang dari kitosan untuk menjada nilai elektrik yang tinggi sehingga dapat mencegah terjadinya agregasi. Nanopartikel dengan nilai potensial zeta lebih dari +/- 30 mV telah terbukti stabil yang dapat mencegah terbentuknya agregasi. Data hasil uji potensial zeta larutan nanopartikel ekstrak daun pulai menunjukkan rata-rata potensial zeta -68,85 mV yang artinya adalah residu dari gugus amin pada kitosan tidak mampu mengikat seluruh muatan negatif yang ada pada ekstrak sehingga nilai potensial zeta menjadi negatif. Hal ini dapat mencegah terjadinya agregasi partikel antar nanopartikel ekstrak daun pulai.

Hasil Evaluasi Tablet

Tabel 6. Hasil Uji Evaluasi Tablet

NO	UJI	HASIL
1	Keseragaman Bobot Tablet	Bobot rata-rata = 501,8 mg SD = 2,2213
2	Keseragaman Ukuran Tablet	Diameter = 10,10 mm SD = 0,0472 Tebal = 5,26 mm SD = 0,1137
3	Kekerasan Tablet	6,78 kg/cm ²
4	Friabilitas Tablet	0,17%
5	Waktu Hancur Tablet	13 menit 26 detik

Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase

Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes

NO	Inhibitor	% hambat (%)
1	Akarbose	95,21
2	Kuersetin	89,67
3	Ekstrak daun pulai terstandard	75,83
4	Ekstrak kering nanopartikel daun pulai	85,90
5	Formula Tablet dari nanopartikel ekstrak	92,09

Pada percobaan ini enzim α -glukosidase akan menghidrolisis p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida menjadi glukosa dan p-nitrofenol yang berwarna kuning. Aktivitas penghambatan ekstrak daun pulai, ekstrak nanopartikel dan formula tablet terhadap enzim α -glukosidase ditentukan dari serapan p-nitrofenol yang terbentuk, yang diukur dengan *Absorbance Microplate Reader* ELx800 pada λ 405 nm. Serapan yang diukur adalah serapan dari larutan blanko, larutan kontrol, larutan uji dengan enzim dan larutan uji tanpa enzim. Larutan uji dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu; 25 bpj, 75 bpj, 125 bpj, 175 bpj dan 225 bpj. Variasi ini dibuat untuk menghitung persamaan regresi pada perhitungan IC_{50} .

Pada umumnya uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase akan menurunkan peningkatan kadar glukosa pada penderita hiperglikemia atau dapat menimbulkan aktivitas antihiperglikemia. Adanya ekstrak dapat memberikan aktivitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase yang ditentukan dari serapan p-nitrofenol sisa yang terbentuk dan diukur dengan *Absorbance Microplate Reader* ELx800 pada λ 405 nm. Nilai IC_{50} menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat 50% aktivitas enzim α -glukosidase.

Didalam penelitian ini digunakan kontrol positif akarbose sebagai pembanding karena akarbose merupakan obat antidiabetes yang telah beredar di Indonesia yang dapat bekerja dalam

menghambat enzim α -glukosidase. Pengujian larutan standar akarbose dilakukan terlebih dahulu dibandingkan dengan larutan yang lainnya, hal ini bertujuan untuk membandingkan % inhibisi yang diperoleh dengan larutan uji lainnya. Dimana seharusnya akarbose memiliki % inhibisi yang lebih besar dibandingkan larutan uji lainnya.

Dalam larutan blanko sebagai pengganti larutan sampel digunakan dimetil sulfoksida (DMSO). Blanko dibuat sebagai pengganti larutan sampel yang diduga memiliki agen penghambat α -glukosidase.

Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase yang paling tinggi didapatkan pada akarbose. Hal ini dikarenakan akarbose merupakan obat oral antidiabetes sintetik yang sudah terbukti dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah.

Hasil uji aktivitas penghambatan kuersetin terhadap enzim α -glukosidase lebih rendah dibandingkan dengan aktivitas inhibitor lain. Hal ini dikarenakan kuersetin merupakan senyawa murni sehingga aktivitasnya rendah.

Hasil uji aktivitas penghambatan ekstrak kental pulai terhadap enzim α -glukosidase lebih tinggi dibandingkan dengan kuersetin dan lebih rendah dari akarbose. Hal ini terjadi karena pada ekstrak berlaku teori SEES yaitu suatu senyawa menguatkan aktivitas senyawa lain. Sehingga senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak menguatkan

aktivitas kuersetin dalam ekstrak sebagai antidiabetes.

Hasil uji aktivitas penghambatan ekstrak kering nanopartikel terhadap enzim α -glukosidase lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak kental. Aktivitas lebih rendah karena mengalami beberapa proses dalam pembuatan ekstrak kering seperti penambahan eksipien pembuat nano dan menggunakan metode pengeringan semprot dengan suhu 195/80°C sehinggajadi penurunan kadar kuersetin yang berperan memberikan aktivitas antidiabetes.

Hasil uji aktivitas penghambatan formula tablet terhadap enzim α -glukosidase lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak kering nanopartikel. Aktivitas formula lebih rendah karena adanya penambahan eksipien yang kemungkinan memberikan efek terhadap penghambatan enzim α -glukosidase serta dapat dilihat dari penurunan kadar kuersetin.

KESIMPULAN

1. Hasil penapisan fitokimia dari daun pulai menunjukkan adanya golongan senyawa: alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, steroid/triterpenoid, kumarin dan minyak atsiri.
2. Ekstrak etanol daun pulai dapat dijadikan nanopartikel dengan menggunakan kitosan 1 % dan pengikat silang natrium tripolifosfat 0.2% dengan rata-rata ukuran partikel yang dihasilkan 186,93 nm.
3. Serbuk kering nanopartikel ekstrak daun pulai hasil pengeringan semprot (*spray drying*) dapat dibuat menjadi

sediaan tablet yang memenuhi syarat fisik menggunakan avicel PH 102 35% dengan metode cetak langsung.

4. Uji Penghambatan Enzim α -Glukosidase secara *In-Vitro*
Hasil uji penghambatan aktivitas α -glukosidase menunjukkan rata-rata persen inhibisi pada dosis 225 $\mu\text{g/mL}$ dan IC_{50} pada ekstrak daun pulai sebesar 92,09 % dan 56,2063 bpj, ekstrak kering nanopartikel sebesar 85,90% dan 71,5903 bpj, dan sediaan tablet sebesar 75,83 % dan 106,0889bpj, sedangkan akarbose dan kuersetin pada dosis 225 $\mu\text{g/mL}$ didapat rata-rata persen inhibisi dan IC_{50} sebesar 95,21 % dan 36,8398 bpj, dan 89,67 % dan 44,4154 bpj. Dapat disimpulkan bahwa sediaan tablet dari nanopartikel ekstrak daun pulai berpotensi memberikan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase secara *in-vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Meena, A.K, dkk. 2011. Review on Ethnobotany, phytochemical and Pharmacological Profile of *Astoniascholaris*. International Research Journal of Pharmacy.
2. Aulton M. E., 2007, *Pharmaceutics: The science of dosage form design*, New York: Churchill Livingstone, p. 517-523.
3. Gupta, Ram B and Kompella, Uday B. *Nanoparticle Technology for Drug Delivery* volume 159. New York: Taylor & Francis Group. 2006. h.45-6