

## PREPARATION AND CHARACTERIZATION SUBMICRO PARTICLE CHITOSAN AND ALGINATE SODIUM AS CAPTOPRIL BARRIER WITH CHITOSAN VARIATION

## PREPARASI DAN KARAKTERISASI SUBMIKRO PARTIKEL KITOSAN DAN NATRIUM ALGINAT SEBAGAI PEMBAWA CAPTOPRIL DENGAN VARIASI KITOSAN

**Yenni Sri Wahyuni<sup>1\*)</sup>, Risya Melinda<sup>1)</sup>, Ade Arinia Rasyad<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang, Palembang, Sumatera Selatan, Indonesia

Author e-mail : [yenisukri.y@gmail.com](mailto:yenisukri.y@gmail.com)

### ABSTRACT

Research has been carried out on sub microparticles of chitosan and sodium alginate as captopril carriers. This study aims to overcome the problem of permeability and improve the absorption of a macromolecular compound. Captopril preparation into sub microparticles with chitosan adsorption polymer, sodium alginate and CaCl<sub>2</sub> crosslinking by ionic gelation method can improve the permeability problem of captopril. The concentration of chitosan which was varied against the three formulas was 0.1%; 0.2% and 0.3% resulted in the percent entrapment efficiency (EE) of 69.69% ± 0.292, 76.86% ± 0.535, and 79.26% ± 0.178, respectively. The results of the sub microparticle characterization of each formula such as diameter, particle distribution index (PDI) and zeta potential using a particle size analyzer (PSA) were 232.0 nm; 0.259; -29.1 mV (F1), 333.8 nm; 0.290; +32.4 mV (F2), and 426.3 nm; 0.321; +55.6 mV (F3). The best captopril sub microparticle formula was achieved in formula 3 (chitosan 0.3%). The polymer concentration has an important influence on the percent entrapment efficiency (EE), particle size, particle distribution, and the zeta potential of the captopril sub microparticles.

**Keywords:** Captopril, sub microparticles, chitosan, sodium alginate

### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai submikro partikel kitosan dan natrium alginat sebagai pembawa kaptopril. Penelitian ini bertujuan untuk mengatasi permasalahan permeabilitas dan memperbaiki absorpsi suatu senyawa makromolekul. Preparasi kaptopril menjadi submikro partikel dengan polimer penjerap kitosan, natrium alginat dan *crosslinking* CaCl<sub>2</sub> dengan metode gelasi ionik dapat memperbaiki masalah permeabilitas kaptopril. Konsentrasi kitosan yang divariasikan terhadap formula F1, F2 dan F3 berturut-turut adalah 0,1%; 0,2% dan 0,3% menghasilkan persen *entrapment efficiency* (EE) masing-masing sebesar 69,69%; 76,86% dan 79,2%, distribusi partikel (PDI) dan zeta potensial yaitu 232,0 nm; 0,259; -29,1 mV (F1), 333,8 nm; 0,290; +32,4 mV (F2), dan 426,3 nm; 0,321; +55,6 mV (F3). Formula submikro partikel dapat diperoleh pada formula 3 (kitosan 0,3%). Konsentrasi polimer mempunyai pengaruh penting terhadap persen *entrapment efficiency* (EE), ukuran partikel, distribusi partikel, dan zeta potensial dari submikro partikel kaptopril.

**Kata kunci :** Kaptopril, submikro partikel, kitosan, natrium alginat

## PENDAHULUAN

Kaptopril merupakan salah satu obat antihipertensi yang digunakan dalam pengobatan hipertensi esensial dan hipertensi renovaskuler. Kaptopril memiliki beberapa kekurangan seperti waktu paruh biologis yang pendek, bioavailabilitas yang rendah, dan efek samping seperti hilangnya rasa (kadang-kadang juga penciuman), batuk kering, exanthema (Tjay dan Kirana, 2007).

Seiring berkembangnya pengetahuan dan teknologi, kekurangan dari kaptopril dapat diperbaiki dengan prinsip teknologi partikel yang dapat mengubah partikel obat ukuran besar menjadi partikel yang memiliki ukuran submikro (10-1000 nm). Submikro partikel telah dilaporkan dapat mengontrol ukuran partikel, memperbaiki absorpsi suatu senyawa makromolekul, memperbaiki bioavailabilitas yang buruk, mengurangi efek samping, dan pelepasan obat dalam mencapai efek terapi yang optimal (Mohanraj dan Chen, 2006).

Submikro partikel dibuat dengan metode gelasi ionik. Gelasi ionik adalah metode pembuatan dengan ikatan silang yang memperkuat kekuatan mekanik partikel yang terbentuk antara polimer dan pengikat silang (Park and Yeo, 2007). Kitosan dan natrium alginat merupakan polimer yang dikembangkan karena bersifat mucoadhesif, biokompatibel, non toksik dan biodegradabel (Mardiyati dkk, 2012). Pengikat silang yang sering digunakan yaitu kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ ). Kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ ) berfungsi untuk meningkatkan stabilitas dan aktivitas dari zat aktif serta mencegah rusaknya zat aktif yang dienkapsulasi (Kafshgari dkk, 2011).

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk melakukan preparasi dan karakterisasi submikro partikel kitosan dan natrium alginat sebagai pembawa kaptopril dengan variasi konsentrasi kitosan. Diharapkan dari penelitian ini didapat formulasi submikro partikel kaptopril yang memiliki stabilitas yang baik, sehingga bioavailabilitas obat dapat meningkat.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik (FS-AR210 Fujitsu®), *magnetic stirrer* (Thermo Scientific

*Cimarec*®), pipet mikro, spektrofotometer UV-Vis (Bel Photonics UV-M51®), *Particle Size Analyzer* (Horiba Scientific®), sentrifus (Model 80-2®), bath sonikator (Delta D68H®) beaker gelas (Pyrex® iwaki), labu ukur (Pyrex® iwaki), dan pipet volume (Pyrex® iwaki).

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah zat aktif kaptopril (PT Dexa Medica, Indonesia), asam asetat 1%, kitosan, natrium alginat, kalsium klorida 0,018 M, kalium dihidrogen fosfat, natrium hidroksida, aquadest (PT Brataco) dan API (Aqua Pro Injeksi) (PT Brataco).

### Preparasi kaptopril, kitosan, natrium alginat, kalsium klorida.

Timbang kaptopril 1 g dilarutkan dengan 10 ml aqua pro injeksi, aduk dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 75 rpm selama 30 menit pada suhu kamar (23°C) sampai terlarut sempurna. Larutanl dipipet sebanyak 10 ml yang mengandung 1 g untuk setiap formula (Manivannan dan Jayalakshmi, 2017).

Timbang kitosan untuk formula 1, 2, dan 3 masing-masing 0,007 g, 0,014 g, dan 0,021 g larutkan masing-masing dalam 7 ml asam asetat 1% aduk dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 75 rpm selama 30 menit pada suhu kamar (23°C) hingga terlarut sempurna. Pipet sebanyak 7 ml untuk masing-masing formula (Prasetyo dkk, 2019).

Timbang natrium alginat 0,024 g dilarutkan dengan 30 ml aqua pro injeksi aduk dengan *magnetic stirrer* kecepatan 75 rpm selama 30 menit pada suhu kamar (23°C) hingga terlarut sempurna. Pipet sebanyak 10 ml yang mengandung 0,008 g untuk setiap formula (Prasetyo dkk, 2019).

Timbang kalsium klorida 0,019 g dilarutkan dengan 10 ml aqua pro injeksi kemudian dihomogenkan dengan menggunakan batang pengaduk pada suhu kamar (23°C) hingga larutan kalsium klorida larut sempurna. Larutan kalsium klorida 0,018 M dipipet sebanyak 40 µl untuk setiap formula (Moradheseli dkk, 2013).

## Formulasi Sediaan Submikro Partikel

Formulasi submikro partikel pada penelitian ini digunakan tiga variasi konsentrasi kitosan yaitu

F(1) 0,1; F(2) 0,2; dan F(3) 0,3 Formula yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula submikro partikel

Bahan	Jumlah Bahan dalam Formula		
	F1	F2	F3
Kaptopril (g)	1	1	1
Kitosan (%)	0,1	0,2	0,3
Natrium Alginat (%)	0,08	0,08	0,08
Kalsium Klorida 0,018 M ( $\mu$ l)	40	40	40

## Pembuatan Submikro Partikel

Pembuatan submikro partikel kaptopril pembawa kitosan dan natrium alginat adalah metode gelas ionik. 10 mL larutan kaptopril dimasukkan dalam larutan kitosan di dalam baker glass aduk dengan *magnetic stirrer* selama 30 menit kecepatan 1500 rpm. Larutan natrium alginat diteteskan *drop by drop* menggunakan pipet mikro 100  $\mu$ l di atas *magnetic stirrer*. Biarkan pencampuran selama 30 menit kecepatan 1500 rpm pada suhu kamar, larutan kalsium klorida ditambahkan sebanyak 40  $\mu$ l kemudian *stirrer* dengan kecepatan 1500 rpm selama 30 menit pada suhu kamar. Sonikasi selama 5 menit tambahkan aqua pro injeksi hingga 50 mL diatas *magnetic stirrer* dengan kecepatan 1500 rpm selama 30 menit (Prasetyo dkk, 2019).

## Karakterisasi Submikro Partikel

a. Pembuatan larutan induk dan penentuan panjang gelombang maksimum kaptopril

Timbang 100 mg kaptopril dilarutkan dengan dapar fosfat pH 7,4 dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas aduk sampai homogen, sehingga didapat larutan standar kaptopril dengan konsentrasi 1000  $\mu$ g/ml. Pipet 10 mL larutan induk kaptopril masukkan dalam labu ukur 100 mL larutkan dengan dapar fosfat pH 7,4 sampai tanda batas didapatkan larutan dengan konsentrasi 100  $\mu$ g/ml. ukur serapan pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Gopinath dkk, 2014).

b. Pembuatan kurva baku kaptopril dalam dapar fosfat pH 7,4

Pembuatan seri konsentrasi 4, 6, 8, 10 dan 12  $\mu$ g/ml dari larutan kaptopril 100  $\mu$ g/ml dalam labu

ukur 10 ml dan diencerkan dengan dapar fosfat pH 7,4 sampai tanda batas. Larutan seri yang telah dibuat kemudian diukur serapan masing-masing pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Serapan yang diperoleh dibuat kurva kalibrasi (sumbu Y sebagai absorbans serta sumbu X sebagai konsentrasi) sehingga diperoleh persamaan garis ( $y=ax+b$ ) (Gopinath dkk, 2014).

c. Penentuan Efisiensi Penjerapan (*Entrapment Efficiency*)

Penentuan efisiensi penjerapan diawali dengan purifikasi submikro partikel melalui proses sentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 60 menit terhadap semua formula. Selanjutnya dilakukan penentuan absorbans kaptopril bebas dari fase supernatan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum kaptopril yang telah diketahui. Efisiensi penjerapan berupa nilai absorbansi supernatan disubstitusikan kedalam persamaan garis sehingga akan diperoleh konsentrasi dari masing-masing supernatan. Penentuan persentase efisiensi penjerapan dilakukan dengan menggunakan rumus dibawah ini (Ismail dkk, 2014).

$$\% \text{ efisiensi penjerapan} = \frac{\text{Zat dalam formula} - \text{Zat dalam supernatan}}{\text{Zat dalam formula}} \times 100\%$$

d. Penentuan Diameter Partikel, PDI dan Zeta Potensial

Penentuan diameter, distribusi partikel dan zeta potensial dilakukan dengan menggunakan

alat PSA (*Particle Size Analyzer*) melalui metode DLS (*dynamic light scattering*). Submikro partikel kitosan-captopril dari masing-masing formula dipipet sebanyak 2 tetes kemudian ditambahkan 5 ml *aquadest* dicampur dengan cara membolak-balik. Kemudian 3 ml sampel diukur menggunakan alat PSA (*Particle Size Analyzer*). Pengukuran diameter partikel, PDI, dan zeta potensial dilakukan dengan sudut hamburan 90° dan 173° (Taurina dkk, 2013).

### Analisa Data

Data hasil karakterisasi submikropartikel kaptopril dianalisa berupa persen kadar kaptopril yang terjerap yang didapat dari nilai absorban masing masing pada formula 1, 2 dan 3 dimasukkan dalam persamaan regresi  $y = ax + b$ . Kadar yang diperoleh tentukan efisiensi penjerapannya.

Data hasil karakterisasi submikropartikel kaptopril setelah pengukuran analisa partikel diperoleh ukuran partikel, distribusi ukuran partikel dan zeta potensial. Data tersebut dideskripsikan sehingga dapat dibandingkan dengan literatur. Hasil Analisa dapat ditentukan formula manakah yang terbaik.

### HASIL DAN DISKUSI

Bahan baku yang digunakan sebagai sampel uji yaitu kaptopril yang diperoleh dari PT. Dexa Medica Palembang yang telah mempunyai sertifikat analisa. Pada pembuatan submikropartikel kaptopril menggunakan polimer kitosan dan natrium alginate. Gugus amino bebas dari kitosan menyebabkan kitosan bermuatan positif sehingga dapat bereaksi dengan beberapa polimer yang bermuatan negatif dan polianion sedangkan *crosslinking* yang digunakan kalsium klorida. Hasil pembuatan submikropartikel kaptopril warna bening transparan berasa pahit.

Pada pemeriksaan panjang gelombang maksimal kaptopril dalam pelarut dapar fosfat pH 7,4 didapatkan panjang gelombang maksimal 207 nm. Nilai absorban yang diperoleh dari larutan seri konsentrasi diplot ke dalam persamaan garis *lineritas* regresi sehingga diperoleh persamaan  $y = 0,043x + 0,027$  dengan koefisien korelasi nilai  $r$  sebesar 0,998. Koefisien korelasi yang diperoleh menunjukkan hasil yang linier karena memenuhi kriteria penerimaan yaitu  $0,998 \leq r \leq 1$  sehingga

penggunaan kurva baku dapat digunakan dengan baik.

Karakterisasi awal pada submikropartikel kaptopril adalah menentukan banyaknya jumlah kaptopril yang terjerap dalam polimer kitosan dan natrium alginat (Perumandla dan Priya, 2014). Analisa penentuan persen efisiensi penjerapan dari submikro partikel kaptopril yang diharapkan adalah mendekati nilai 100%, karena semakin besar nilai persentase efisiensi penjerapan menunjukkan semakin banyak zat aktif yang terlindungi oleh polimer. Hasil analisis diperoleh pada formula 3 jumlah kaptopril terkapsulasi sebesar 79,26% paling tinggi dibandingkan formula 2 dan 3. Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil persentase efisiensi penjerapan submikro partikel kaptopril

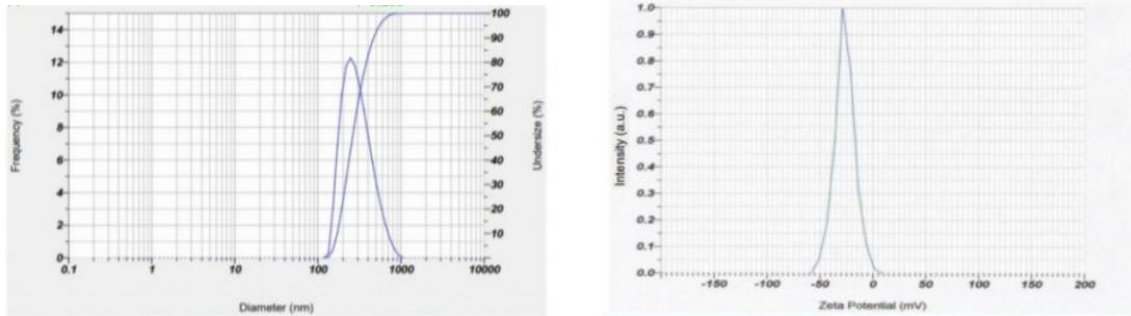
Formula	Rata-rata (%) ± SD
1	69,69 ± 0,292
2	76,86 ± 0,535
3	79,26 ± 0,178

Pada evaluasi penentuan efisiensi penjerapan dinyatakan bahwa jumlah zat aktif yang terjerap dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi polimer penjerap (Selvaraj dkk, 2010), konsentrasi dan jenis pengikat silang (Gulati dkk, 2013), lama pengadukan dan waktu sonikasi (Dwilistiana, 2019). Dari ketiga formula diatas, diperoleh hasil bahwa formula 3 memiliki persentase penjerapan yang lebih besar, Menurut Taurina dkk, 2013; Selvaraj dkk, 2010 menyatakan bahwa semakin meningkat jumlah kitosan akan semakin meningkat jumlah senyawa yang akan terjerap, terlihat formula 1, 2 dan 3 dimana konsentrasi kitosan berturut-turut adalah 0,1%, 0,2% dan 0,3%. Pada struktur kitosan mengandung gugus amina yang terprotonasi besar sehingga dapat meningkatkan kemampuan kitosan untuk mengikat alginat dimana, alginat memiliki muatan negatif. Jumlah kitosan yang meningkat akan juga meningkatkan interaksi antara gugus amina dan alginat dan meningkat konsentrasi penjerapan kaptopril dalam submikropartikel.

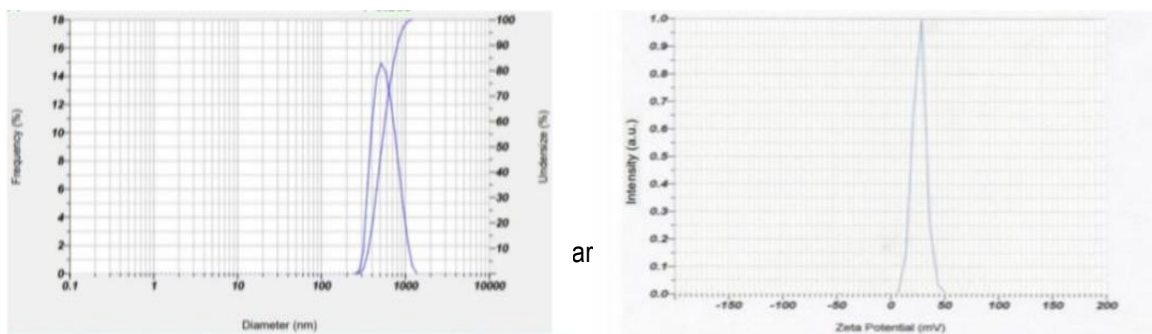
Hasil analisa pengukuran submikropartikel kaptopril merupakan hal yang dipersyaratkan karena merupakan parameter yang dapat mempengaruhi kemampuan pelepasan obat,

stabilitas hingga potensi efek dan keamanan obat (pal dkk, 2011). Menurut standar pengukuran submikropartikel yang dipersyaratkan masuk dalam rentang pengukuran partikel yaitu 200-500 nm. Reduksi ukuran partikel akan memperluas permukaan partikel tersebut untuk berkontak dengan cairan sehingga obat akan lebih mudah

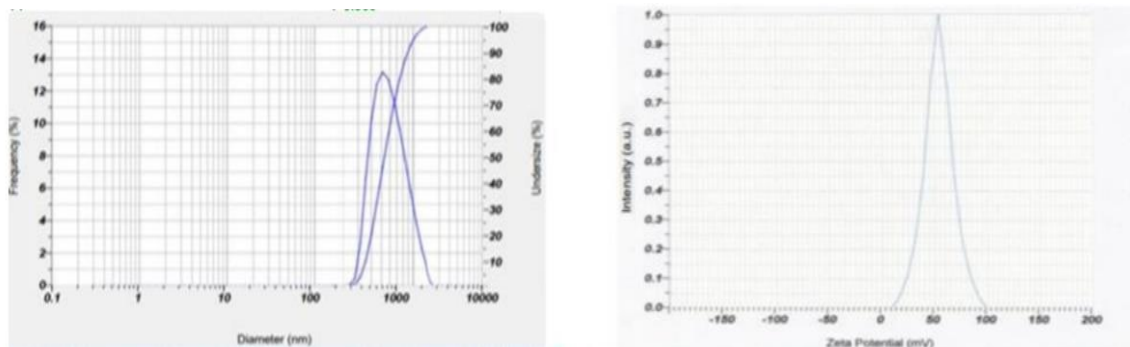
terlarut dalam cairan tubuh sehingga meningkatkan bioavailabilitas obat (Berne and Pecora, 2000). Hasil pengukuran diameter partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial dapat dilihat pada Tabel 3, gambar 1, gambar 2 dan gambar 3.



Gambar 1. Kurva Analisa ukuran partikel dan zeta potensial F1 (pengulangan 1)



ar



Gambar 3. Kurva Analisa Ukuran Partikel dan Zeta Potensial F3 (Pengulangan 1)

Tabel 3. Hasil analisa ukuran submikropartikel kaptopril

Formula	Pengulangan	Ukuran Partikel (nm)	Indeks Polidispersitas	Zeta potensial (mV)
1	1	234,5	0,259	-26,6
	2	239,7	0,272	-24,7
	3	221,7	0,247	-35,9
	<b>Rata-rata ± SD</b>	<b>231,9 ± 9,2</b>	<b>0,259 ± 0,012</b>	<b>-29,1 ± 5,9</b>
2	1	354,6	0,280	32,8
	2	356,4	0,302	31,6
	3	290,4	0,287	32,7
	<b>Rata-rata ± SD</b>	<b>333,8 ± 37,5</b>	<b>0,289 ± 0,011</b>	<b>+32,4 ± 0,6</b>
3	1	410,2	0,306	53,8
	2	438,2	0,332	56,7
	3	430,5	0,325	56,4
	<b>Rata-rata ± SD</b>	<b>426,3 ± 14,4</b>	<b>0,321 ± 0,013</b>	<b>+55,6 ± 1,6</b>

Dari hasil pengukuran partikel pada Tabel 3. menunjukkan bahwa ketiga formula tersebut masih masuk kedalam rentang yang dipersyaratkan oleh submikropartikel. Ukuran partikel yang paling tinggi terdapat pada formula 3 dimana submikropartikel kaptopril tersebut dengan jumlah kitosan yang tinggi. Pada pembuatan submikropartikel tersebut menghasilkan kompleks submikropartikel kaptopril kitosan-natrium alginat yang semakin besar sebanding dengan peningkatan jumlah kitosan (Taurina dkk, 2013). Peningkatan ukuran partikel juga dapat disebabkan oleh peningkatan viskositas larutan kitosan sehingga konsentrasi kitosan yang besar akan menghasilkan viskositas larutan yang tinggi (Modi dkk, 2013). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil yang diperoleh Taurina dkk, 2013 yang melaporkan ukuran partikel dipengaruhi oleh konsentrasi kitosan yang digunakan pada pembuatan submikropartikel kaptopril kitosan-natrium alginat. Metode pembuatan sub-mikropartikel, jumlah perbandingan antara kitosan dan natrium alginat yang terjepap dalam submikropartikel, pH. Menurut Modi dkk, 2013 ukuran partikel dan efisiensi penyerapan dipengaruhi oleh konsentrasi kitosan. Ketika konsentrasi kitosan meningkat maka ukuran partikel dan efisiensi penyerapan meningkat karena jumlah kitosan yang lebih besar tersedia untuk menjepap zat aktif. Hal-hal tersebut

merupakan faktor yang mempengaruhi pembentukan ukuran submikropartikel.

Polydispersity Index (PDI) digunakan sebagai analisa homogenitas sebaran diameter ukuran partikel. Sediaan submikropartikel kaptopril yang memiliki distribusi homogen apabila nilai *polydispersity index* (PDI) <0,5, sebaliknya jika nilai *polydispersity index* (PDI) > 0,5 maka submikropartikel kaptopril tersebut tidak seragam. Ukuran partikel yang tersebar heterogen dapat meningkatkan terjadinya aglomerasi (Mardiyanto dkk, 2019). Berdasarkan hasil pengukuran indeks polidispersivitas pada Tabel 3. menunjukkan bahwa masing-masing formula dapat dikatakan terdistribusi seragam dikarenakan nilai *indeks polidispersitas* yang didapat kurang dari 0,5.

Hasil penelitian pada Tabel 3. berupa nilai zeta potensial formula 2 dan formula 3 yang memberikan stabilitas yang baik karena hasilnya lebih dari 30 mV. Nilai Zeta potensial yang diperoleh untuk mengetahui sifat muatan yang dihasilkan pada permukaan partikel. Sifat muatan partikel nantinya akan mempengaruhi stabilitas partikel. Menurut Soheyla and Zahir, 2013 nilai zeta potensial yang dimiliki lebih dari 30 mV, baik bermuatan negatif atau positif menunjukkan bahwa adanya gaya tolak menolak yang lebih besar sehingga dapat mencegah terjadinya agregasi dan memberikan stabilitas yang baik.

Pengukuran zeta potensial memberikan hasil bermuatan positif dan negatif. Nilai zeta potensial kearah positif disebabkan karena pengaruh dari jumlah kitosan lebih banyak dari pada jumlah natrium alginat sehingga menyebabkan banyaknya gugus amina pada kitosan yang tidak berikatan dengan natrium alginat, sebaliknya nilai zeta potensial kearah negatif disebabkan karena jumlah kitosan lebih sedikit dari pada jumlah natrium alginat sehingga masih ada gugus karboksil bebas pada natrium alginat (Taurina dkk, 2014). Nilai positif pada zeta memiliki kemampuan atas kelebihan dalam hal proses penghantaran obat yang terkait dengan kemampuan interaksinya dengan barrier absorpsi permukaan lapisan mukosa. Lapisan mukosa memiliki muatan negatif sehingga sub-mikropartikel bermuatan positif dapat melekat dan dinyatakan bersifat mukoadesif. Kemampuan submikropartikel yang memiliki sifat mukoadesif tinggi akan memberikan perpanjangan waktu kontak obat dimana lokasi obat akan diaplikasikan sehingga dapat meningkatkan kinerja terapi obat. Demikian juga, membran sel juga bermuatan negatif sehingga nanopartikel yang bermuatan positif dapat meningkatkan permeabilitas suatu obat (Soheyla and Zahir, 2013).

## KESIMPULAN

1. Semakin meningkat jumlah kitosan yang digunakan sebagai penyalut dengan kombinasi natrium alginate akan meningkatkan juga jumlah kaptopril yang ikut terjerap dalam submikropartikelnya.
2. Hasil analisa formula terbaik pada F(3) submikro partikel kaptopril memiliki ukuran submikropartikelnya sebesar 426,3 nm dengan nilai polidispersitas 0,321 dan nilai zeta potensial submikropartikel kaptopril diperoleh +55,6 mV

## DAFTAR PUSTAKA

- Berne, B. J., & Pecora, R. (2000). *Dynamic Light Scattering : with application to chemistry, biology and physic*. New York , Dover Publications.
- Dwilitiana, N. (2019). Optimasi Formula Intranasal Nanopartikel Kitosan Pembawa Fenobarbital Dengan Variasi Jenis Crosslinker, Watu Sonikasi, dan Watu Pengadukan. *Skripsi*, Sarjana Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya. Indralaya.
- Gopinath, H., Koteswararao, P., & Debjit, B. D. S. (2014). Formulation and Evaluation Of Captopril Microencapsules : a Sustained Release Approach. *Elixir International Journal*, 75, 27362-27366.
- Gulati, N., Naigaich, U., & Saraf, S. A. (2013). Intranasal Delivery Of Chitosan Nanoparticles For Migraine Therapy. *Scientia Pharmaceutica*, 81(1), 843-854.
- Ismail, Isriany., Hasriani., & Surya Ningsih. (2014). Formulasi dan Karakterisasi Nanokapsul Asiklovir Tersalut Kitosan-Alginat yang Dipaut Silang dengan Natrium Tripolifosfat. *Jurusan Farmasi Falkultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makasar*, 2(4), 138-143.
- Kafshgari, M. H., Khorram, M., Khodadoost, M., & Khawari, S. (2011). Reinforcement Of Chitosan Nanoparticles Obtained By An Ionic Cross-Linking Process. *Iranian Polymer Journal*, 20(5), 445-456.
- Manivannan, R., & Jayalakshmi, R. (2017). Formulation And In-Vitro Evaluation Of Captopril Microspheres Using Different Polymers. *International Journal of Biological and Pharmaceutical Research*, 8(3): 112-116. DOI: <http://dx.doi.org/10.21276/ijbpr.2017.8.3.4>.
- Mardiyanto, Herlina, Fithri, N. A., & Rahmi, Y. (2019). Formulasi dan Evaluasi Sediaan Submikro Partikel Gelasi-Ionik Pembawa Ekstrak Daun Pluchea indica sebagai Antibakteri pada Kulit Tikus Putih Jantan Galur Wistart. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* 6(2) ,171–179, DOI : 10.25077/jsfk.6.2.171-179.2019.
- Mardiyati, E., Muttaqien, S. E., & Setyawati, D. R. (2012). Sintesis Nanopartikel Kitosan-Trypoly phosphate Dengan Metode Gelasi Ionik: Pengaruh Konsentrasi dan Rasio Volume Terhadap Karakteristik Partikel. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan 2012*, 90-93.
- Modi, J., Garima, J., & Krutika, S. (2013). chitosan Based Mucoadhesive Nanoparticles of Ketoconazole for Bioavailability Enhancement : Formulation, Optimazation, In Vitro and Ex Vivo Evaluation. *Drug*

- Development and Industrial Pharmacy*, 39(4), 540-547.
- Mohanraj, V. J., & Chen, Y. (2006). Nanoparticles: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5 (1): 561-573.
- Moradhaseli, S., Mirakabadi, A. Z., Sarzaeem, A., Dounighi, N. M., Soheily, S., & Borumand, M. R. (2013). Preparation and Characterization of Sodium Alginate Nanoparticles Containing ICD-85 (Venom Derived Peptides). *International Journal of Innovation and Applied Studies* 4 (3), 534-542.
- Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P., & Manavalan, R. (2011). Nanoparticle: An overview of preparation and characterization. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01 (06); 2011: 228-234.
- Park, K., Yeo, Y., & Swarbrick, J. (2007). *Microencapsulation technology in: encyclopedia of pharmaceutical technology* (3rd edition ed.). New York: Informa Healthcare Inc.
- Perumandla, P., & Priya, S. (2014). formulation And In Vitro Evaluation Of Floating Microspheres Of Dextromethorphan Hydrobromide. *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Science*, 6, 206-210.
- Prasetyo, Y.G., Abdassah, M., & Rusdiana, T. (2019). Preparation and Characterization of Glucosamine Nanoparticle by Ionic Gelation Method Using Chitosan and Alginat. *Indonesia Journal of Pharmaceutics*, 1 (1), 1-10
- Selvaraj, S., Saravanakumar, N., Karthikeyan, J., Deborah, E. D., Lathamary., & Rajendran, N. N. (2010). Acyclovir Loaded Chitosan Nanoparticles For Ocular Delivery. *Der Pharmacia Lettre*, 2(3), 420-431.
- Soheyla, H and Foruhe, Z. (2013). Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(2), 265-273.
- Taurina, W., Ronny, M., & Hilda, I. (2013). Preparasi Nanopartikel Gamavuto-0 Menggunakan Kitosan Rantai Pendek dan Tripolifosfat sebagai Cross Linker. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10 (2), 1-9
- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2007). *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan Dan Efek-*