



Formulation and Characterization Liposome of Oxcarbazepine

Dina P. Wijaya^{1*}, Budi Untari¹, Najma A. Fithri¹, Herlina Herlina¹, Putri S. Rahayu¹

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, 30802, Indonesia

Submitted 08 June 2021; Revised 14 June 2021; Accepted 03 November 2022; Published 30 June 2023

*Corresponding author: dinapermatawijaya@unsri.ac.id

Abstract

Oxcarbazepine (OXC) was used as first line therapy or additional therapy for treatment of partial and secondary of seizures. The penetration of OXC into nasal mucosa can be enhanced by forming liposome. This research has the aim to prepare and characterize liposome loading OXC. The OXC liposome formula was composed by using soya lechitin and cholesterol with various amount using thin film hydration method. Characterization by determining the encapsulation efficiency (%EE), pH, viscosity, particle size, polydispersity of index, zeta potential, and *in vitro* release. The liposome of OXC was also analyzed for its stability based on heating-cooling cycle method. The proportion of best formula was obtained at the amount of cholesterol of 42,11 mg yield %EE of 92,63%, pH of 8,47, viscosity of 1,10 cP, and decreased amount of OXC in stability test of 0,34%. The results of particle diameter were 579 nm, polydispersity index (PDI) of 0,34, and zeta potential of -99,38 mV. The *in vitro* release of the liposome of OXC was studied and compared with OXC. The result of *in vitro* release liposome OXC (F2) showed increase (62,26%) than (41,97%).

Keywords: liposome, oxcarbazepine, cholesterol, PDI, encapsulation.

Formulasi dan Karakterisasi Sediaan Liposom Okskarbazepin

Abstrak

Okskarbazepin (OXC) digunakan pengobatan lini pertama atau pengobatan tambahan untuk kejang tipe parsial dan sekunder. Penetrasi OXC melalui mukosa nasal dapat ditingkatkan dengan pembentukan liposom. Penelitian ini bertujuan untuk preparasi dan karakterisasi liposom OXC. Formula liposom OXC menggunakan soya lesitin dan kolesterol dengan variasi jumlah dan menggunakan metode hidrasi lapis tipis. Karakterisasi yang diukur adalah efisiensi enkapsulasi (%EE), pH, viskositas, ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potential, dan uji pelepasan secara *in vitro*. Liposom OXC dianalisis juga stabilitas dengan menggunakan metode *heating-cooling*. Formula liposom terbaik dengan jumlah kolesterol 42,11 mg (F2) menghasilkan %EE sebesar 92,63%, pH sebesar 8,47, viskositas sebesar 1,10 cP dan jumlah penurunan kadar OXC pada uji stabilitas sebesar 0,34%. Hasil diameter partikel liposom OXC sebesar 579 nm, dengan indeks polidispersitas sebesar 0,34, dan *zeta potential* sebesar -99,38 mV. Pelepasan OXC secara *in vitro* dari liposom dibandingkan dengan OXC murni. Hasil pelepasan secara *in vitro* liposom OXC (F1) menunjukkan meningkat yaitu (62,26%) dibandingkan OXC murni (41,97%).

Kata Kunci: liposom, okskarbazepin, kolesterol, PDI, enkapsulasi.

1. Pendahuluan

Epilepsi merupakan gangguan saraf kronik dengan ciri timbulnya gejala-gejala yang datang dalam serangan berulang secara spontan yang disebabkan lepasnya muatan listrik abnormal sel-sel saraf otak yang bersifat reversibel. Data *World Health Organization* (WHO) menunjukkan *epilepsy* menyerang 70 juta dari penduduk. Prevalensi penderita epilepsi di Indonesia berkisar antara 0,5-4% dengan rata-rata prevalensi epilepsi 8,2 per 1000 penduduk. Angka ini tergolong cukup tinggi dibandingkan dengan negara berkembang lainnya di dunia¹.

Salah satu terapi epilepsi yang digunakan untuk pilihan pertama adalah okskarbazepin. Aktivitas farmakologi okskarbazepin diketahui terjadi terutama melalui metabolit 10-monohidroksi (10-MHD). Studi *in vivo* menunjukkan *blockade* yang diinduksi MHD dari saluran natrium (menghambat kanal natrium) yang peka terhadap tegangan, menghasilkan stabilisasi *membrane neuron* yang tinggi, penghambatan pelepasan neuron berulang, dan berkurangnya propagasi impuls sinaptik sehingga mengaktivasi kanal kalsium². Kelemahan okskarbazepin oral yaitu kelarutan rendah sehingga membatasi efektivitasnya. Okskarbazepin termasuk klasifikasi BCS (*Biopharmaceutics Classification System*) kelas II dengan kelarutan dalam air sebesar 8,40 mg/100 ml dan nilai log P sebesar 1,204³.

Gangguan saraf kronik yang terjadi pada epilepsi membutuhkan sistem penghantaran obat yang cepat dan segera untuk mencapai sistem saraf pada otak. Rute intranasal merupakan salah satu rute pengobatan yang membantu penghantaran obat untuk mencapai sistem saraf pusat dengan cepat. Efikasi okskarbazepin yang diberikan secara intranasal dapat ditingkatkan dengan cara diformulasikan ke dalam liposom dengan menggunakan soya lesitin dan kolesterol sebagai pembentuk *lipid bilayer*. Kolesterol digunakan untuk memperbaiki rigiditas dari *membrane liposom*, menstabilkan *bilayer*, dan mengontrol permeabilitas membran⁴.

Rute intranasal merupakan rute penghantaran agen terapeutik dari rongga nasal

ke otak secara langsung. Rute ini melibatkan rute ekstraseluler dan intraseluler, yang melibatkan organ olfaktori dan pernapasan dari rongga hidung⁵. Senyawa aktif dapat melewati sawar darah otak melalui rute intranasal dan memasuki sistem saraf pusat. Sawar darah otak hanya *permeable* untuk molekul lipofilik dengan berat molekul (Mw) kurang dari 600 Da⁶. Keuntungan rute intranasal yaitu luas permukaan yang besar untuk absorpsi obat, kepatuhan yang baik, bioavailabilitas yang baik, dapat menghindari gastrointestinal yang dapat merusak senyawa aktif yang tidak stabil, sistem penghantaran yang langsung ke otak⁷.

Pemilihan liposom yaitu merupakan salah satu bentuk sistem penghantaran obat yang aman dan efektif sehingga liposom dapat membantu meningkatkan penetrasi obat melalui mukosa nasal dan masuk ke dalam sistem saraf pusat. Liposom merupakan vesikel yang terdiri dari membran fosfolipid lapis ganda yang mengenkapsulasi atau menjerat zat aktif di dalamnya. Liposom merupakan sistem penghantaran yang dapat membawa obat dengan sifat hidrofilik dan hidrofobik. Komposisi utama dari liposom terdiri dari fosfolipid, kolesterol, kloroform, dan zat aktif⁸. Fosfolipid yang digunakan dapat berasal dari alam dan atau sintesis. Fosfolipid melakukan peran yang penting dengan sifat yang amfipatik dan *self-assembly* untuk mengenkapsulasi suatu agen terapeutik⁹. Permeabilitas liposom sangat berperan penting dalam meningkatkan efisiensi enkapsulasi senyawa obat hidrofilik di dalam struktur liposom¹⁰.

Penggunaan jumlah atau konsentrasi kolesterol dapat berpengaruh terhadap kestabilan membran *bilayer* liposom. Kolesterol banyak digunakan sebagai penyusun liposom dengan memperbaiki rigiditas atau fluiditas dari *membrane bilayer* liposom dan dapat mengontrol permeabilitas membran liposom. Liposom yang diformulasikan tanpa kolesterol akan berinteraksi cepat dengan albumin, transferin, dan makroglobulin¹¹. Protein akan menarik fosfolipid dari liposom dan akan menyebabkan ketidakstabilan fisik dari liposom sehingga

penggunaan kolesterol pada liposom dapat mengurangi interaksi tersebut¹².

Pada penelitian ini, kami melakukan formulasi dan karakterisasi liposom dari okskarbazepin. Evaluasi yang dilakukan untuk menentukan formula terbaik adalah persen efisiensi enkapsulasi, pH, viskositas, dan stabilitas okskarbazepin. Evaluasi yang dilakukan untuk menentukan formula terbaik adalah persen efisiensi enkapsulasi, pH, viskositas, dan stabilitas okskarbazepin. Formula terbaik dikarakterisasi berupa ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial, dan pelepasan secara *in vitro*. Pelepasan *in vitro* liposom okskarbazepin menggunakan *Franz Diffusion Cell*¹³.

2. Metode

2.1. Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1700), *rotary evaporator* (SCO), pengaduk magnetik (IKAC-MAG HS 4), pipet mikro (Dragonlab), sentrifugator (Hettich Universal 320R), PSA (Horiba Scientific SZ-100), *Franz diffusin cell* (Prima Medika), *vortex* (Corning, LSETM), viskometer *Ostwald* (PSL Kinematic *Viscometer*), dan peralatan gelas (Pyrex dan Iwaki).

2.2. Bahan

Okskarbazepin (PT. Mersi Farma), soya lesitin (PT. Dira Sonita), kolesterol (PT. Dira Sonita), Kloroform (Pt. Brataco), natrium hidroksida (PT. Brataco), kalium dihidrogen fosfat (PT. Brataco), akuades (PT. Bratachem), metanol p.a (Pt. Brataco).

2.3. Prosedur

2.3.1. Formulasi Liposom Okskarbazepin

Pembuatan liposom okskarbazepin dilakukan dengan metode hidrasi lapis tipis. Liposom dibuat dengan cara mencampurkan kolesterol dan soya lesitin dengan komposisi masing-masing formula. Liposom dibuat dengan mencampurkan kolesterol dan soya lesitin dengan perbandingan yang dapat dilihat pada tabel 1. Kemudian ditambahkan kloroform sebanyak 5 ml. Setelah larut, larutan dipindahkan ke dalam *rotary evaporator* dengan suhu 45°C. Proses ini dilakukan

dengan penyemprotan gas nitrogen kemudian okskarbazepin dilarutkan ke dalam PBS pH 7,4 sebanyak 10 ml kemudian di *vortex* selama 10 menit dan kemudian disonikasi pada suhu 40°C selama 30 menit. Lapisan lipid film diambil dan suspensi liposom disimpan pada suhu 4°C sebelum dilakukan pengujian¹⁴.

2.3.2. Karakterisasi Liposom Okskarbazepin % Efisiensi Enkapsulasi (%EE)

Suspensi liposom okskarbazepin disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Kemudian supernatan yang terbentuk disentrifugasi dengan kecepatan selama 30 menit. Kemudian supernatan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis¹⁵. Penentuan efisiensi enkapsulasi ditentukan dengan rumus berikut:

$$\%EE = \frac{\text{Kadar total OXZ} - \text{kadar OXZ supernatan}}{\text{Kadar total OXZ}} \times 100\% \quad 16$$

Analisis pH Liposom Okskarbazepin:

Pengujian pH liposom dilakukan dengan menggunakan pH *meter*. Pengujian dilakukan dengan cara mencelupkan elektroda dari pH meter ke dalam sediaan. Proses ini dilakukan selama 30 detik, kemudian catat pH yang muncul pada alat pH meter¹⁷.

Analisis Viskositas Liposom OXC:

Pengujian viskositas liposom OXC dilakukan dengan menggunakan *viscometer Ostwald*. Sediaan liposom OXC dimasukkan ke dalam alat *viscometer* sampai garis bawah dari alat. Setelah dibandingkan waktu alir yang dihasilkan dengan akuades yang telah diketahui viskositasnya. Perhitungan viskositas dapat dilakukan dengan persamaan dibawah ini:

$$\frac{\text{viskositas liposom}}{\text{viskositas air}} = \frac{\text{bobot jenis liposom} \times t \text{ alir liposom}}{\text{bobot jenis} \times t \text{ alir air}} \quad 17$$

Analisis Stabilitas: Pengujian stabilitas liposom OXC dilakukan menggunakan metode *heating cooling cycle* dengan menyimpan liposom OXC di lemari pendingin dengan suhu 4°C selama 24 jam dan kemudian disimpan pada oven suhu 40°C selama 24 jam dan merupakan 1 siklus. Pengujian dilakukan dengan sebanyak 6 siklus¹⁶. Setelah pengujian dilakukan pengamatan pada kadar OXC dalam liposom.

Ukuran Partikel, PDI, Zeta Potensial:

Penentuan ukuran partikel, PDI, dan zeta potensial dilakukan dengan menggunakan

Tabel 1. Formula Liposom Okskarbazepin

Formula	Komponen Liposom			
	Okskarbazepin (mg)	Kolesterol (mg)	Soya lesitin (mg)	Kloroform (ml)
1	50	42,11	379	5
2	50	82,22	379	5
3	50	126,22	379	5

alat PSA (*Particle Size Analyzer*) melalui metode *dynamic light scattering* (DLS). Sampel formula dimasukkan ke dalam kuvet PSA, lalu cahaya monokromatik akan ditembakkan oleh instrument, hasil cahaya yang dibiaskan pada sudut 173° dan detektor akan mengungkap hasil pembiasan cahaya untuk menghasilkan zeta potensial, sedangkan hasil penghamburan cahaya pada sudut 90° akan ditangkan oleh detektor sehingga dapat menghasilkan diameter dan indeks polidispersitas¹⁸.

Analisis Uji Pelepasan Secara *In Vitro*:

Penentuan difusi liposom OXC dialkuakn dengan menggunakan *Franz Diffusion Cell*. Suhu yang digunakan adalah $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ dengan kecepatan pengadukan 100 rpm. Kemudian uji difusi menggunakan membran mukosa hidung kambing dan menggunakan dapar fosfat pH 7,4. Sampling dilakukan dengan mengambil 2 ml sampel kemudian wktu pengukuran sebagai berikut; 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 menit dan 24 jam. Sampel yang diambil kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan Panjang gelombang 254 nm¹⁵.

3. Hasil dan Pembahasan

Penentuan persen efisiensi enkapsulasi dilakukan dengan cara memisahkan OXC yang tidak terenkapsulasi dan yang terenkapsulasi dengan cara disentrifugasi. Hasil %EE dapat dilihat pada tabel 2. Persen efisiensi enkapsulasi terjadi penurunan persen EE dengan bertambahnya kolesterol hal ini dapat dimungkinkan terjadinya salting out

OXC dari membran liposom karena jumlah kolesterol semakin bertambah. Hal ini dapat menyebabkan OXC yang ada didalam liposom keluar karena afinitas kolesterol lebih tinggi dibandingkan dengan OXC¹⁹.

Pentuan pH liposom OXC dapat dilihat pada tabel 3. pH sediaan yang diharapkan yaitu dnegan rentang 4,5-6,5. Rentang pH ini aman jika liposom OXC diberikan pada rute intranasal. Berdasarkan tabel 3 maka dihasilkan pH yang semakin menurun dengan adanya jumlah kolesterol yang semakin meningkat. Hasil yang didapatkan pada ketiga formula liposom adalah lebih dari 7 yang tidak ada yang masuk rentang syarat penggunaan untuk intranasal. Hasil pH liposom dapat disesuaikan untuk mendapatkan syarat pH aman untuk penggunaan intranasal dengan penambahan asam sehingga pH yang didapat sekitar 4,5-6,5.

Pengujian viskositas dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan untuk mengalir. Semakin tinggi viskositas maka akan semakin besar tenaga yang dibutuhkan untuk mengalirkan sediaan liposom OXC. Hasil pengujian viskositas formula liposom OXC dapat dilihat pada tabel 4. Viskositas yang didapatkan lebih dari viskositas air sehingga dapat meningkatkan daya lekat liposom pada saat penghantaran.

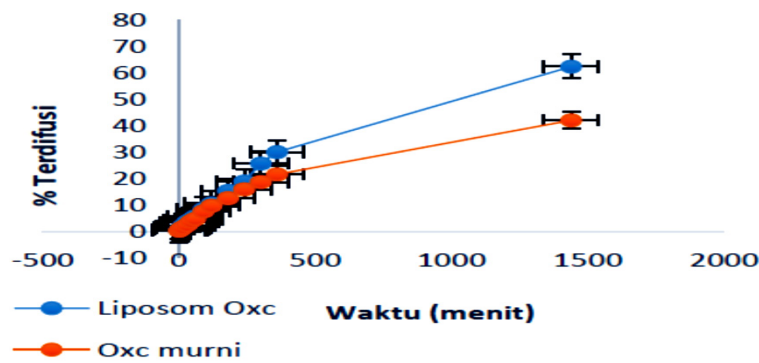
Stabilitas sediaan liposom penting dilakukan karena akan melihat ketahanan liposom terhadap lingkungan. Meningkatnya suhu dapat menyebabkan peningkatan laju reaksi karena semakin cepat pergerakan partikel maka akan semakin cepat pula tumbukan antar partikel dan laju reaksi²⁰.

Tabel 2. Persen Efisiensi Enkapsulasi Liposom Okskarbazepin

Formula	Rata-rata (%) $\pm$ SD	%CV
1	92,63 $\pm$ 0,0691	0,07464
2	83,65 $\pm$ 0,0914	0,10934
3	75,84 $\pm$ 0,0914	0,12059

Tabel 3. pH Liposom Okskarbazepin

Formula	Rata-rata (%) $\pm$ SD	%CV
1	8,45 $\pm$ 0,0435	0,51584
2	7,65 $\pm$ 0,0057	0,07543
3	7,26 $\pm$ 0,0264	0,36493



Gambar 1. Persen Difusi Liposom Okskarbazepin (OXC) dan Okskarbazepin (OXC) murni

Reaksi kimiawi ini dapat menyebabkan obat terdegradasi sehingga kadar obat yang berada dalam sediaan menjadi berkurang². Hasil penurunan kadar pada pengujian stabilitas liposom OXC dapat dilihat pada tabel 5. Berdasarkan tabel hasil stabilitas didapat bahwa semakin banyak jumlah kolesterol maka penurunan kadar OXC dalam liposom semakin kecil karena kolesterol akan berikatan dengan soya lesitin sehingga memperkuat liposom. Dengan bertambahnya jumlah kolesterol yang digunakan maka menyebabkan peningkatan rigiditas liposom.

Formula terbaik dalam penelitian ini ditentukan dengan menganalisis pengujian %EE dan stabilitas sediaan karena merupakan parameter yang sangat berpengaruh dengan potensi dari liposom OXC. Berdasarkan parameter tersebut maka formula 1 merupakan formula terbaik karena %EE sebesar 92,63% dan uji stabilitas yang mengukur penurunan kadar OXC sebesar 0,34%. Walaupun nilai penurunan kadar formula 1 lebih besar dibandingkan dengan yang lainnya namun apabila semakin banyak jumlah kolesterol yang ditambahkan maka sifat rigiditas liposom semakin tinggi sehingga liposom sulit pecah dan kurang fleksibel untuk menembus membran mukosa. Persen efisiensi enkapsulasi yang semakin mendekati 100% menunjukkan bahwa potensi liposom untuk mengenkapsulasi OXC semakin besar sehingga penghantaran OXC dengan

menggunakan liposom akan lebih baik.

Formula 1 yang merupakan formula terbaik dikarakterisasi berupa ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial. Karakterisasi dilakukan dengan menggunakan PSA. Ukuran partikel yang didapatkan dari liposom OXC formula 1 adalah 579 nm. Rentang indeks polidispersitas berkisar antara 0 sampai 1, semakin mendekati 0 maka partikel yang didapatkan semakin seragam. Indeks polidispersitas yang dihasilkan dari liposom OXC formula 1 adalah 0,34 yang berarti partikel yang dihasilkan cenderung seragam karena ada 34% partikel liposom OXC yang tidak seragam. Zeta potensial juga dikarakterisasi untuk formula 1 liposom OXC, zeta potensial menunjukkan muatan permukaan dari partikel liposom yang dihasilkan. Zeta potensial yang stabil menunjukkan nilai ± 25 mV²¹. Nilai zeta potensial yang didapatkan oleh liposom OXC adalah -99,39 mV, muatan negatif yang dihasilkan dipengaruhi oleh komponen dari liposom yaitu gugus fosfat dari soya lesitin.

Formula liposom OXC terbaik dilakukan uji difusi yang bertujuan untuk mengetahui jumlah OXC yang dapat berpenetrasi melalui membran mukosa. Hasil uji difusi liposom OXC dan OXC murni dapat dilihat pada gambar 1. Hasil uji persen terdifusi menunjukkan bahwa formula terbaik dari liposom OXC lebih besar jika dibandingkan dengan OXC murni. Persen terdifusi formula

Tabel 4. Viskositas Liposom Okskarbazepin

Formula	Rata-rata (%)±SD	%CV
1	1,10±0,0800	7,31093
2	1,03±0,0730	7,12248
3	1,08±0,0900	8,33333

Tabel 5. Persen Penurunan Kadar Okskarbazepin (Uji Stabilitas)

Formula	Rata-rata (%)±SD	%CV
1	0,34±0,0984	28,5647
2	0,11±0,0412	34,5665
3	0,10±0,0454	43,1731

terbaik OXC sebesar 62,26% dan untuk OXC murni sebesar 41,9%. Vesikel liposom pada formula 1 yang berfungsi untuk membuak tight junction yang merupakan penghalang dalam menembus membran sel sehingga memudahkan masuknya liposom masuk ke dalam membrane sel mukosa, tight junction dapat menutup kembali apabila kontak antara tight junction dan membran sel tidak berkontak¹.

4. Kesimpulan

Penelitian ini menghasilkan komponen pembentuk liposom yaitu kolesterol dapat mempengaruhi %EE dan stabilitas yang dilihat penurunan kadar OXC. Jumlah kolesterol pada formula liposom OXC trbaik sebanyak 42,11 mg dengan persen efisiensi enkapsulasi sebesar 92,63% dan persen penurunan kadar pada uji stabilitas sebesar 0,34%. Liposom OXC menghasilkan persen terdifusi yang lebih tinggi dibandingkan dengan OXC murni yaitu sebesar 62,26% sedangkan OXC murni sebesar 41,9%.

Daftar Pustaka

1. Brodie MJ, French JA. Management of epilepsy in adolescents and adults. Handbook of Pharmacology: A Pathophysiology approach 7th Edition, McGraw-Hill, USA. 2000.
2. Shorvon S. Oxcarbazepine: a Review, Seizure, 9:75-79.2000
3. Douroumis D, Fahr A. Nano and micro-particulate formulations of poorly water soluble drugs by using a novel optimized technique. Eur J Pharm Biopharm, 63:173-175. 2016.
4. Shukla JB, Patel SJ. Formulation and evaluation of self micro emulsifying system candesartan cilexetil. Int J Pharm Sci, 2(4): 2-5. 2010.
5. Woensel MV, Wauthoz N, Rosiere R, Amighi K, Mathieu V, Lefranc F. Formulations for intranasal delivery of pharmacological agents to combat brain disease: A new opportunity to tackle GBM. Cancers Journal. 5: 1020-1048. 2013.
6. Parvathi M. Intranasal drug delivery to brain: An overview. International Journal of Research Pharmacy Chem. 2(3): 889-894. 2012.
7. Ghori MU, Mahdi MH, Smith AM, Conway BR. Nasal drug delivery systems: An overview. American Journal of Pharmacological Sciences. 3(5): 110-119. 2015
8. Jufri M. Liposome drug delivery system. Pharmaceutical sciences and research. 1(2); 59-68. 2012.
9. Eloy JO, Claro SM, Petrilli R, Barcellos JP, Lee RJ, Marchetti JM. Liposomes as carriers of hydrophilic small molecule drugs: strategies to enhance encapsulation and delivery. Colloids Surf B: Biointerfaces. 123C: 345-363. 2014.
10. Khan I, Elhissi A, Shah M, Alhnan, MA, Ahmed W. Liposome-based carrier systems and devices used for pulmonary drug delivery. Woodhead Publishing Limited, United Kingdom. 395-443. 2013
11. Bhuchard G. Chitosan for gene delivery. Adv Drug Deliv Rev, 52:145-150. 2001
12. Sashi K, Satinder K, Bharat P. A complete review on: Liposomes. International Research Journal of Pharmacy. 3(7). 2012.
13. Yu Nie LJ, Ding H, Xie L, Li L, He B, Wu Y, Gu Z. Cholesterol derivatives based charged liposomes for doxorubicin delivery: Preparation in vitro and in vivo characterization. Theranostics, 2(11): 1092. 2012.
14. Shivera Du, et al. Formulation and Evaluation of Pentoxifiline Liposome Formulation. Digest Journal of Nanomaterial and Biostructure. 4. 2019.
15. Gulati N, Nagaich U, Saraf S. Fabrication and in vitro characterization of polymeric nanoparticles for Parkinson's therapy: a novel approach. Barzilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 50(4): 869-876.2014.
16. Anusha RR, Vijaykumar N, Shruthi P. Encapsulation of emulsifying drug delivery systems (sedds) of lercanidipine hydrochloride into hard gelatin capsules. International Journal of Biopharmaceutics, 5(2): 73-82. 2014.

17. Aremu OI, Oduyela OO. Evaluation of metronidazole suspension. *African Journal Biochem Res*, 9(12): 595-597. 2015
18. Rajaran S, Natham R. Design and characterization of asorbic acid stabilized rifampicin nanoparticles for oral delivery. *Int J Bio and Pharm Research*, 4(12): 993-999. 2013.
19. Putra, I Gusti NS, Darijanto, Sasanti TS, Yeyet C. Formulasi sediaan liposom nimodipine: Studi pengaruh komposisi lipida terhadap efisiensi inkorporasi nimodipine dan stabilitas ukuran partikel liposom. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 39(1):18-25.2014.
20. Kuruvila FS, Mathew F, Kuppuswanny S. Solid Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Development, Applications, and Future Perspective: A Review. *Indo Am J Pharm Sci*. 4(3): 651-669. 2017.
21. Das Neves JM, Amiji M, MF Bahia, and B. Sarmeto. Assesing the physical-chemical properties and stability of dapirine-loaded polymeric nanoparticles. *International Journal of Pharmacutics*, 456(2): 307-314. 2013