

Uji Efek Antiinflamasi secara *In Vivo* Nanopartikel Kurkumin yang Diformulasikan menggunakan Metode *Reinforcement* Gelasi Ionik

Suryani*, Faichal Benny, Wahyuni

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo Kendari 93232

Abstrak

Telah dilakukan penelitian uji efek antiinflamasi nanopartikel kurkumin yang diformulasikan menggunakan teknik *reinforcement* gelasi ionik pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi karagenan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi nanopartikel kurkumin yang diformulasikan menggunakan teknik *reinforcement* gelasi ionik pada mencit yang diinduksi karagenan serta mengetahui perbandingan efek antiinflamasi formula nanopartikel kurkumin dengan kurkumin pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi karagenan. Hewan uji yang berjumlah 28 ekor dibagi menjadi 7 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor mencit. Formula nanopartikel kurkumin, kurkumin konsentrasi 0,0033%, suspensi celebrex[®] 0,104 mg/g Berat Badan, dan suspensi natrium carboximetil cellulosa 0,5% diberikan secara oral. Volume awal kaki mencit diukur dengan pletismometer modifikasi. Satu jam setelah perlakuan, hewan uji dibuat udem dengan diinduksi 0,1 mL larutan karagenan 1 % secara intraplantar pada telapak kaki. Volume kaki mencit diukur setiap 30 menit setelah diinduksi selama 6 jam. Volume udem merupakan selisih volume kaki mencit sebelum dan sesudah diinduksi. Persentase penghambatan volume udem dihitung berdasarkan persen penurunan udem dibandingkan kontrol negatif. Berdasarkan data tersebut, dari keempat formula, yang memberikan efek antiinflamasi paling besar adalah formula nanopartikel kurkumin yang diformulasikan menggunakan metode *reinforcement* gelasi ionik adalah A₂ dengan perbandingan konsentrasi kurkumin : kitosan : Tripolifosfat : natrium alginat : kalsium klorida (0,01% : 0,02% : 0,01% : 0,02% : 0,01%) dan nilai hambat inflamasi 70%. Data hasil penelitian dianalisis dengan analisis varians satu jalan dan dilanjutkan uji beda nyata terkecil. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa formula nanopartikel kurkumin yang diformulasikan menggunakan metode *reinforcement* gelasi ionik mempunyai efek antiinflamasi lebih besar dibandingkan dengan kurkumin.

Kata kunci : antiinflamasi, nanopartikel kurkumin, *reinforcement*, gelasi ionik, karagenan

1. Pendahuluan

Peradangan dikenal dengan istilah inflamasi yang sering dijumpai dalam kehidupan sehari-hari. Gejala proses inflamasi berupa panas, merah, nyeri, bengkak dan perubahan fungsi. Inflamasi merupakan suatu respon protektif normal terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia perusak, atau zat-zat mikrobiologik. Inflamasi adalah suatu usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan, dan mengatur derajat perbaikan jaringan. Jika terjadi proses penyembuhan, biasanya peradangan akan meredah [1]. Berbagai contoh penyakit yang berhubungan dengan inflamasi antara lain asma, rhinitis alergi, osteoarthritis, dan lain-lain.

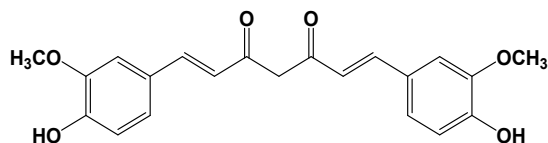
Obat yang biasa digunakan sebagai antiinflamasi adalah golongan obat Anti Inflamasi Non Steroid

(AINS). Obat golongan AINS bekerja dengan menghambat sintesa prostaglandin yang memblokir kedua jenis siklooksigenase (COX) [2]. Secara umum AINS berpotensi menyebabkan efek samping pada tiga sistem organ yaitu saluran cerna, ginjal dan hati. Efek samping yang sering terjadi adalah tukak lambung dan gangguan fungsi ginjal [3]. Kurkumin merupakan senyawa polifenol yang dapat ditemukan pada ekstrak temulawak, temugiring, dan kunyit. Secara tradisional, kurkumin sudah dimanfaatkan dalam pengobatan di Asia, termasuk Indonesia. Penggunaan kurkumin yang diketahui memiliki efek sebagai antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, antibakteri, antifungi, antiprotozoa, antivirus, hipotensif, dan hipokolesteremik [4].

* KBK Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo
Email : soerysuer@yahoo.com

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan yang dimiliki oleh kurkumin yaitu dengan membuat formulasi senyawa kurkumin menjadi bentuk nanopartikelnya. Nanopartikel memiliki banyak keuntungan dalam sistem penghantaran obatnya. Hal itu disebabkan oleh ukuran partikel yang lebih kecil dan lebih mudah berpenetrasi melalui kapiler yang lebih kecil, sehingga memungkinkan akumulasi obat secara efisien pada sisi target [5]. Formula formula nanopartikel kurkumin yang diformulasikan menggunakan teknik *reinforcement* gelasi ionik ini telah dilakukan, namun belum dilakukan uji antiinflamasi [6].

Kurkumin merupakan bagian terbesar pigmen kuning yang terdapat dalam rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) yang memiliki aktivitas antiinflamasi, antitumor, antioksidan, antiarthritis, antiamiloid dan antiiskemik. Pengujian klinis memperlihatkan bahwa kurkumin aman untuk manusia bahkan pada dosis tinggi (12 gram/hari) tetapi memiliki bioavailabilitas yang sangat rendah. Kurkumin tidak terdeteksi pada hati, hanya terdapat pada mukosa saluran cerna dengan dosis oral mencapai 1000 mg/kg pada binatang pengerat [7].



Gambar 1. Struktur kurkumin (*1,7-bis-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion*)

Profil farmakokinetika kurkumin menunjukkan kadar dalam darah yang sangat eratik (naik turun) dan cepat hilang dari peredaran darah [8]. Profil farmakokinetik yang kurang baik ini diduga karena sifat kurkumin bersifat sukar larut dalam air, sehingga mengakibatkan kecepatan disolusinya dan ketersediaan hayatinya rendah.

Kurkumin dalam terapi antiinflamasi bekerja dengan beberapa mekanisme antara lain menghambat pembentukan asam arakidonat dengan fosfolipid dan menghambat dealkilasi asam arakidonat yang telah dilabel dengan fosfolipid. Selain itu, kurkumin juga dapat menghambat sintesis prostaglandin tertentu dengan menghambat enzim sikloogenase. Mekanisme aksi kurkumin yang lain yaitu dengan menurunkan sintesis leukotrien dengan menghambat enzim lipoksigenase. Berdasarkan pada beberapa mekanisme tersebut, dapat diketahui bahwa kurkumin dapat menurunkan infiltrasi neutrofil dalam kondisi inflamasi dan menghambat agregasi platelet [9].

Derivat sulfonamid ini adalah obat AINS pertama dengan khasiat menghambat selektif COX-2. Pada dosis

biasa COX-1 tidak dirintangi, maka PGI₂ dengan daya protektifnya atas mukosa lambung-usus tetap terbentuk. Karena itu praktis tidak menyebabkan efek buruk terhadap lambung-usus. Diserap mencapai kadar darah maksimal setelah 2-3 jam. Profil plasmanya adalah 97% dan masa paruh eliminasi 8-12 jam [2].

Celecoxib di dalam hati diubah menjadi metabolik inaktif yang dikeluarkan dengan kemih. Pasien jantung, hipertensi, hiperlipidemia dan diabetes harus berhati-hati minum obat ini. Dosis penggunaan obat ini 2 kali sehari 100-200 mg sesudah makan [2].

2. Bahan dan Metode

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas (Pyrex), *Hotplate* (Ake Bonno), *Hotplate and Magnetic Stirrer* (Stuart CB162), Mikropipet (Smart Gen-nex), pH Meter (Jenway 370), plestismometer modifikasi, *Sentrifuge* (Boeco Zentrifugen D-78532), Shaker Inkubator (Stuart SI500), Stopwatch (Olympic), Timbangan analitik (Vibra), *Vortex Mixer* (Stuart SA8), Jarum Suntik (One Med), Oral Sonde Mencit, Lumpang dan Alu.

Kurkumin, Na-alginat, NaCl 0,9% (Otsuka), akuades (Otsuka), CMC (*Sigma-Aldrich*), karagenan (*Sigma-Aldrich*), tripolifosfat (*Sigma-Aldrich*), natrium asetat (*Merck*), asam asetat glasial (*Merck*), etilasetat (*Merck*), etanol 96% (*Merck*), asam klorida 37% (*Merck*), natrium hidroksida (*Merck*) dan kalium hidrofosfat (*Sigma Aldrich*) serta Celebex[®] (Pfizer).

2.2 Formulasi Nanopartikel

Formulasi nanopartikel pada penelitian ini dipengaruhi oleh 5 faktor, yaitu kurkumin, kitosan, tripolifosfat, natrium alginat dan kalsium klorida dengan berbagai variasi konsentrasi. Formulasi menggunakan botol vial dengan volume akhir sebanyak 8 mL. Sebanyak 2 mL larutan kurkumin 0,01% dalam etanol 96% dicampurkan dengan 2 mL larutan kitosan dalam buffer asetat pH 4 (konsentrasi 0,02%), kemudian dilakukan pencampuran dan pengecilan ukuran menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah pencampuran berlangsung selama 5 menit, larutan tripolifosfat dalam akuades (variasi konsentrasi 0,01-0,03%) sebanyak 2 mL. Kemudian ditambahkan larutan natrium alginat dalam akuades (variasi konsentrasi 0,01-0,06%) sebanyak 2 mL. Setelah pencampuran berlangsung selama 2,5 menit, larutan kalsium klorida dalam akuades (variasi konsentrasi 0,01% - 0,06%) sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam campuran tersebut. Pencampuran

dan pengecilan ukuran menggunakan alat *magnetic stirrer* kembali dilakukan selama 2,5menit. Pada tahap akhir pelarut etanol diuapkan hingga volume akhir menjadi 8 mL. Penguapan dilakukan dengan menuangkan campuran pada cawan petri, agar penguapan berjalan lebih cepat (kontak dengan udara luar lebih besar). Preparat disimpan selama 1 minggu untuk mengamati sistem dispersi yang stabil sebagai formula terpilih [9].

2.3 Uji Antiinflamasi

Sebelum pengujian, mencit dipuasakan selama ± 18 jam dengan tetap diberi air minum. Mencit dikelompokkan ke dalam 7 kelompok perlakuan dengan jumlah masing-masing kelompok 4 ekor, yaitu kelompok bahan uji (formula nanopartikel kurkumin dengan perbandingan konsentrasi kurkumin : kitosan : TPP : natrium alginat : kalsium klorida 0,01% : 0,02% : 0,01% : 0,01% : 0,01% (A₁), 0,01% : 0,02% : 0,01% : 0,02% : 0,01% (A₂), 0,01% : 0,02% : 0,02% : 0,02% : 0,01% : 0,01% (B₁) dan 0,01% : 0,02% : 0,02% : 0,02% : 0,01% (B₂), kelompok kontrol negatif (suspensi Na CMC 0,5%), dan kelompok kontrol positif (suspensi Celebrex®).

Masing-masing hewan ditimbang dan diberi tanda pada kaki kirinya yang akan diinduksi, kemudian volume kaki diukur terlebih dahulu dengan cara memasukkan telapak kaki mencit ke dalam raksa hingga batas tanda, dicatat angka sebagai volume awal (V₀) yaitu volume kaki sebelum diberi bahan uji, kontrol dan diinduksi dengan larutan karagenan. Masing-masing mencit diberi suspensi bahan uji secara oral sesuai dengan kelompoknya. Satu jam kemudian, masing-masing telapak kaki mencit disuntik secara intraplantar dengan 0,1 mL larutan karagenan 1%. Setiap 30 menit setelah induksi karagenan, volume telapak kaki mencit diukur pada jam ke - 1, 2, 3, 4, 5, dan 6, dengan cara memasukkan telapak kaki mencit ke dalam alat pletismometer modifikasi hingga batas tanda. Perubahan volume cairan yang terjadi dicatat sebagai volume telapak kaki mencit (V_t). Volume radang adalah selisih volume telapak kaki mencit setelah dan sebelum disuntikkan karagenan. Pada waktu pengukuran, volume cairan harus sama setiap kali pengukuran, tanda batas pada kaki mencit harus jelas, kaki mencit harus tercelup sampai batas tanda yang dibuat.

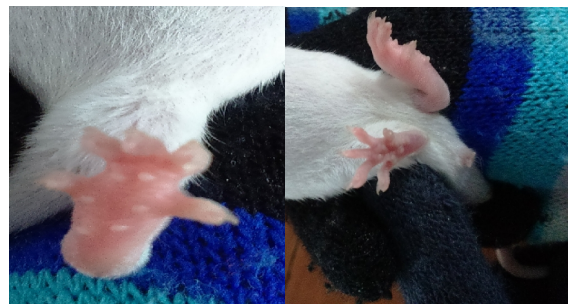
3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan dengan pengujian efek antiinflamasi nanopartikel kurkumin yang diformulasikan menggunakan teknik *reinforcement*

gelasi ionik pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi karagenan. Karagenan dipilih sebagai penginduksi karena berperan dalam pembentukan edema dalam model inflamasi, dapat melepaskan prostaglandin setelah disuntikkan ke hewan uji [10]. Oleh karena itu, karagenan dapat digunakan sebagai iritan dalam metode uji yang bertujuan untuk mencari obat-obat antiinflamasi. Kontrol positif Celebrex® digunakan untuk membandingkan efek antiinflamasi dari formula nanopartikel kurkumin. Pada dosis biasa COX-1 tidak dirintangi, maka PGI₂ dengan daya protektifnya atas mukosa lambung-usus tetap terbentuk. Celebrex® praktis tidak menyebabkan efek buruk terhadap lambung-usus dan diserap mencapai kadar darah maksimal setelah 2-3 jam. Protein plasmanya adalah 97%, masa paruh eliminasi 8-12 jam (Tjay dan Rahardja, 2007).

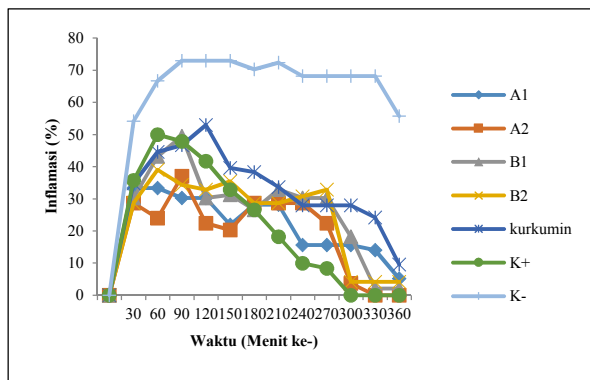
Sebelum perlakuan masing-masing mencit dipuasakan selama kurang lebih delapan jam, hal ini dimaksudkan untuk menghindari kemungkinan adanya pengaruh makanan terhadap efek bioavailabilitas dan proses farmakokinetik (absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi) kurkumin yang diformulasi dalam bentuk nanopartikel dalam memberikan efek antiinflamasi.

Pengamatan secara visual yang terjadi dalam proses inflamasi pada kaki mencit ditandai dengan adanya kemerahan (*rubor*) dan pembengkakan karena perubahan pada pembuluh darah yang menyebabkan peningkatan aliran darah dan edema (*tumor*). Perubahan ini dapat teraktivasi dalam beberapa detik dan bertahan dalam hitungan menit hingga jam. Mediator inflamasi akut dalam jaringan yang terinflamasi menyebabkan kontraksi endotel pembuluh darah yang disertai hilangnya taut antarsel. Hal ini menyebabkan akumulasi cairan di jaringan interstitial yang menimbulkan pembengkakan jaringan atau tumor [11].



Gambar2. Pengamatan secara visual terjadinya inflamasi pada telapak kaki mencit

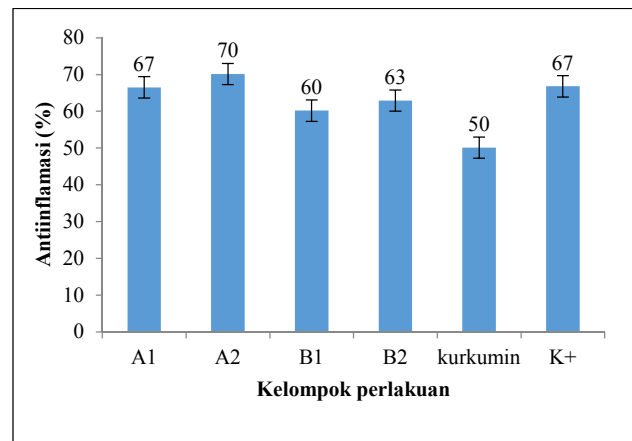
Analisis dilakukan terhadap hasil perubahan volume kaki mencit dimulai menit ke-30 hingga menit ke-360 setelah penyuntikan karagenan. Dari perubahan volume kaki mencit, dapat dihitung persen radang pada kaki mencit. Selanjutnya dibuat grafik perubahan persen inflamasi rata-rata kaki tikus dan grafik perubahan persen inhibisi inflamasi rata-rata kaki mencit. Perubahan volume telapak kaki mencit diukur dengan pletismometer modifikasi. Kelompok persen radang pada kaki mencit yang lebih kecil dari kelompok kontrol menunjukkan bahwa bahan uji mampu menekan radang yang disebabkan oleh karagenan.



Gambar 3. Grafik persen inflamasi rata-rata telapak kaki mencit tiap waktu pengamatan. Formula nanopartikel kurkumin yang diformulasikan menggunakan teknik *reinforcement* gelasi ionik dengan perbandingan konsentrasi kurkumin : kitosan : TPP : natrium alginat : kalsium klorida :

Berdasarkan Gambar 3, terlihat nanopartikel kurkumin yang diformulasikan menggunakan teknik *reinforcement* gelasi ionik formula A₂ (perbandingan konsentrasi kurkumin : kitosan : TPP : natrium alginat : kalsium klorida 0,01% : 0,02% : 0,01% : 0,02% : 0,01%) memberikan efek yang maksimal, ditandai dengan penurunan persen inflamasi sama seperti awal (normal) pada menit ke-330 sampai ke-360. Sedangkan suspensi Na CMC yang terus naik dari menit ke-30 sampai menit ke-330 dan turun pada menit ke-360. Hal tersebut sesuai dengan penelitian terdahulu yaitu edema bertahan pada volume maksimal sekitar 5 jam setelah induksi (Morris, 2003). Hal ini menunjukkan bahwa formula nanopartikel kurkumin, suspensi Celebrex[®] dan suspensi kurkumin mampu menghambat inflamasi yang disebabkan karagenan. Selain itu, formula nanopartikel kurkumin yang memiliki persen inflamasi dari yang paling besar berturut-turut adalah formula nanopartikel kurkumin A₂, B₁, B₂ dan A₁. Formula nanopartikel kurkumin A₁, A₂, B₁ dan B₂ memiliki persen inflamasi lebih besar dari

pada suspensi Celebrex[®], formula nanopartikel kurkumin A₁, A₂, B₁ dan B₂ memiliki persen inflamasi lebih kecil dari pada suspensi kurkumin, dan formula nanopartikel kurkumin A₁, A₂, B₁ dan B₂ memiliki persen inflamasi lebih besar dari pada suspensi Na CMC. Penurunan radang berdasarkan waktu adalah setelah beberapa jam setelah pemberian obat, edema yang terjadi pada telapak kaki kiri mencit semakin menurun. Hal ini menandakan bahwa terjadi proses farmakokinetika nanopartikel kurkumin.



Gambar 4. Persen hambat radang rata-rata telapak kaki

Formula nanopartikel kurkumin yang memiliki persen hambatan inflamasi dari yang paling besar berturut-turut adalah formula nanopartikel kurkumin A₂, B₂, A₁ dan B₁, sehingga formula nanopartikel kurkumin A₂ yang memiliki persen hambatan inflamasi paling besar. Hal ini kemungkinan karena formula nanopartikel kurkumin A₂ mempunyai efisiensi penyerapan paling tinggi [6]. Formula nanopartikel kurkumin A₂ mempunyai efisiensi penyerapan paling tinggi yaitu 91,41% kemudian formula nanopartikel kurkumin B₂ 88,29%, formula nanopartikel kurkumin A₁ 87,17%, dan formula nanopartikel kurkumin B₁ 86,88%. Efisiensi penyerapan adalah jumlah obat yang terjerap di dalam nanopartikel, sehingga dengan efisiensi penyerapan yang tinggi maka jumlah obat yang terjerap di dalam nanopartikel juga tinggi. Formula nanopartikel kurkumin A₁, A₂, B₁ dan B₂ memiliki persen antiinflamasi lebih besar dari pada suspensi kurkumin. Hal ini disebabkan formula nanopartikel kurkumin mempunyai ukuran partikel yang lebih rendah yang membuatnya lebih mudah berpenetrasi melalui kapiler yang lebih kecil, sehingga memungkinkan akumulasi obat secara efisien pada sisi target, disamping itu dengan dibuat menjadi nanopartikel, dapat meningkatkan efisiensi penghantaran obat dengan meningkatkan

kelarutan dalam air sehingga meningkatkan bioavailabilitas [12].

Data dianalisis dengan metode ANAVA (analisis varians) satu jalan dan dilanjutkan dengan uji LSD menggunakan program SPSS 20. Uji LSD dimaksudkan untuk melihat kelompok perlakuan mana yang memiliki efek yang sama atau berbeda dan efek terkecil sampai dengan yang terbesar antara kelompok yang satu dengan kelompok lainnya sehingga diperoleh susunan kelompok yang berbeda. Uji dengan nilai signifikansi α 0,05 menunjukkan bahwa antar pelakuan tidak ada perbedaan yang bermakna dan sebaliknya bila nilai signifikansi $< 0,05$ menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan untuk semua perlakuan. Selain itu, diperoleh nilai F hitung sebesar 7,935 dengan nilai probabilitas 0,000. Hal tersebut membuktikan bahwa nilai probabilitas yang diperoleh berdasarkan analisis jauh dibawah 0,05 sehingga dapat diputuskan bahwa hipotesis dasar (H_0) ditolak dan menerima hipotesis alternatif (H_1) yang dinyatakan bahwa Terdapat perbedaan efek antiinflamasi yang nyata secara simultan antara nanopartikel kurkumin dengan kurkumin secara *in vivo*.

Aktivitas antiinflamasi kurkumin bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase. Aktivitas antiinflamasi kurkumin bekerja dengan menghambat pembentukan prostaglandin, tromboksan dan prostasiklin dengan cara menghambat aktivitas enzim siklooksigenase [13]. Kurkumin juga dapat menghambat pembentukan senyawa leukotrien dengan menghambat aktivitas enzim lipooksigenase. Beberapa mekanisme antara lain menghambat pembentukan asam arakhidonat dengan fosfolipid dan menghambat dealkilasi asam arakhidonat yang telah dilabel dengan fosfolipid. Berdasarkan pada beberapa mekanisme tersebut, dapat diketahui bahwa kurkumin dapat menurunkan infiltrasi neutrofil dalam kondisi inflamasi dan menghambat agregasi platelet.

4. Kesimpulan

Nanopartikel kurkumin yang diformulasikan menggunakan teknik *reinforcement* gelasi ionik mempunyai efek antiinflamasi, serta memiliki efek antiinflamasi yang lebih besar dibandingkan dengan kurkumin, serta menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan berdasarkan analisis statistik.

Daftar Pustaka

1. Mycek M. J., Harvey R. A., Champe P. C., *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Edisi II, Jakarta : Widya Medika, 2001, hal. 276-279.
2. Tjay H. T., Rahardja K., *Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi V, Jakarta : Elex Media Komputindo, 2002, hal. 303-314.
3. Wilmana P. F., Sulistia G. G., *Farmakologi dan terapi*, Edisi V. Jakarta : Bagian Farmakologi FK Universitas Indonesia, 2007, hal. 230-246, 500-506.
4. Chattopadhyay K., Uday B., and Ranajit K. B., Turmeric and Curcumin: Biological Actions and Medical Applications, *Current Science.*, **87(1)**, 2004 : hal. 44-53.
5. Sahoo S. K., Labhasetwar V., *Nanoparticle Interface : An Important Determinant in Nanoparticle-Mediated Drug/Gene Delivery in Nanoparticle Technology for Drug Delivery*, Taylor & Francis Group, 2006, hal. 140-150.
6. Halid N. A., Formulasi Nanopartikel Kurkumin dengan Teknik *Reinforcement* Gelasi Ionik, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo, Kendari.
7. Bisht, S., Savita, B., Georg., Sheetal, S., Rajani, R., Collins, K., Amarnath, M., and Anirban, M., 2007, Polymeric Nanoparticle-Encapsulate Curcumin (Nanocurcumin): A Novel Strategy For Human Cancer Therapy, *Journal of Nanobiotechnol.*, **5**: 1-18.
8. Kustaniah, 2001, Profil Kadar Senyawa 2,5-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksi benzilidin) siklopentanon dalam Darah setelah Pemberian secara Oral pada Tikus Betina SD, *Skripsi*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
9. Suryani, 2012, Preparasi Nanopartikel Kurkumin menggunakan Kitosan Rantai Pendek dan Tripolifosfat dengan Variasi Konsentrasi Berbeda serta Uji *Cellular Uptake* pada Kultur Sel Hela secara *In Vitro*, *Thesis*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
10. Singh, R. & Lillard J.W., 2009, Nanoparticle-based targeted drug delivery, *Exp Mol Pathol*, 215-230.
11. King TC. 2007. Elsevier's Integrated Pathology. Philadelphia: Mosby Elsevier.
12. Rawat, dkk, 2006, *Nanocarriers* : Promising Vehicle for bioactive drugs. Biological and pharmaceutical Bulletin. **29**
13. Kohli, K., Ali, J., Ansari, M.J., dan Raheman, Z, 2005, *Curcumin: A Natural Antiinflammatory Agent*, *Indian J Pharmacol*, **37**, 141-147.