

OPTIMASI FORMULA MATRIKS KITOSAN DENGAN METILSELULOSA PADA PELEPASAN TERKENDALI SEDIAAN GRANUL TEOFILIN

Submitted : 13 Nov 2015

Edited : 15 Des 2015

Accepted : 21 Des 2015

Suprianto

Dosen Kopertis Wilayah I dpk Stikes Helvetia Medan

Email : ekahasbi@gmail.com

ABSTRACT

The in vitro study was carried out on the release of active ingredient theophylline from granules prepared by moist granulation method. The granule matrix was prepared from the mixture of chitosan isolated from Swallo shrimp (Metapenaeus monoceros) (in accordance with the Protan Laboratories, Inc standard requirement) and methylcellulose 1500 cps. The granules were filled into 850 mg capsules containing 200 mg theophylline. The maximum weight of chitosan and methylcellulose for each capsule was determined by factorial design 2². The result showed that, when the amount of chitosan was kept constant, an increase in the amount of methylcellulose will increase the release rate of theophylline from granules. The optimum weight of chitosan and methylcellulose are 609.24 mg and 20.00 mg, respectively for one capsule.

Keywords : theophylline, chitosan and methylcellulose

PENDAHULUAN

Pemberian obat secara berulang sering menyebabkan pola pelepasan obat tidak terkontrol sehingga kurva konsentrasi obat dalam plasma berfluktuasi. Produk pelepasan terkendali menawarkan beberapa keuntungan, antara lain: kadar obat dalam plasma relatif konstan, memperkecil toksisitas, menurunkan efek samping akibat fluktuasi kadar obat, frekuensi pemberian obat sekali sehari dan menjamin terapi optimum⁽¹⁾. Obat dalam bentuk produk tersebut harus mempunyai waktu paruh lebih kecil dari 8 jam dan tidak kurang dari satu jam, diabsorpsi efektif di ujung usus halus dan dosis tidak lebih dari 1 g serta indeks terapi sempit^(2,3).

Teofilin adalah salah satu bronkodilator dengan indeks terapi sempit, yaitu berkisar antara 10-20 mcg/ml darah, dapat diberikan pada penderita asma kronis, dosis lazim 200 mg sekali pemakaian dan waktu paruh 3-7 jam serta mempunyai harga pKa sebesar 8,6⁽⁴⁾.

Bahan tambahan yang digunakan sebagai pengikat harus *inert*, tidak toksik dan mampu melepaskan bahan obat relatif konstan dalam jangka waktu tertentu⁽³⁾. Metilselulosa merupakan

polimer yang larut larut dalam air sedangkan kitosan suatu polimer yang tidak larut dalam air berfungsi sebagai pengikat yang *inert* dan tidak toksik⁽⁵⁾.

Kitosan telah dimanfaatkan untuk membuat granul dengan bahan aktif indometasin dan dilaporkan bahwa granul kitosan mempunyai potensi sebagai sediaan oral pelepasan terkendali⁽⁶⁾. Kitosan merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, larutan basa kuat, H₂SO₄ dan beberapa pelarut organik, seperti: alkohol, aseton, dimetilformamida dan dimetilsulfoksida, sedikit larut dalam HCl, HNO₃ dan H₃PO₄ 0,5% dan larut baik dalam asam asetat⁽⁷⁾.

Kitosan mempunyai gugus amino sehingga kitosan mempunyai reaktifitas kimia yang tinggi dan menyumbangkan sifat elektrolit polikation^(8,9). Metilselulosa telah digunakan untuk membuat matriks yang dapat mengontrol pelepasan obat dari sediaan lepas lambat⁽¹⁰⁾. Metilselulosa dinyatakan menghasilkan pelepasan obat mendekati orde nol dari matriks yang tidak larut dalam air, misalnya: gliseril stearat, alkohol berlemak, lilin dan etilselulosa⁽³⁾.

Penelitian optimasi formula matriks kitosan dengan metilselulosa pada pelepasan terkendali sediaan granul teofilin dilakukan dengan menggunakan rancangan faktorial.

BAHAN DAN ALAT

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain teofilin p.a (Metcorp, Ltd), asam klorida p.a (E.Merck), natrium hidroksida p.a (E.Merck), kalium dihidrogen fosfat p.a (E.Merck), kalium klorida p.a (E.Merck), asam asetat glasial p.a (E.Merck), metilselulosa 1500 cps (Wako Pure Industries, LTD) dan kitosan hasil isolasi limbah padat udang Swallo Tambak Sari Mabur (Standar Protan Laboratories, Inc), natrium hipoklorit p.a (E.Merck).

Alat yang digunakan diantaranya Spektrofotometer ultra violet (Milton Roy 21D), alat disolusi (Erweka), pengaduk magnetik (Ikamag), timbangan listrik (Sartorius), pH-meter stick (HBI), alat-alat gelas dan lain-lain.

METODE

Metode penelitian pelepasan terkendali teofilin sediaan granul campuran metilselulosa dengan kitosan meliputi:

Pembuatan Granul Teofilin

Formula F₁ sampai F₄ dibuat dengan melarutkan teofilin dalam larutan natrium hidroksida 0,1 N sebanyak 5 ml di tambah gel kitosan-metilselulosa. Gel dibuat dengan menambahkan 10 ml asam asetat 10% setiap 400 mg kitosan. Kemudian pelarut diuapkan pada suhu 60 °C hingga massa dapat digranulasi dengan mesh 12. Kemudian didiamkan pada suhu kamar selama 6 jam dan dikeringkan pada suhu 60 °C selama 8 jam. Sediaan dibuat dengan berbagai formula seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula Matriks Sediaan Granul Teofilin

No.	Formula	Teofilin (mg)	Kitosan (mg)	Metilselulosa (mg)
1	F ₁	200	600	20
2	F ₂	200	600	400
3	F ₃	200	800	20
4	F ₄	200	800	400
5	F ₅	200	X ₁	X ₂

Keterangan:

X₁ = Massa Kitosan Optimum

X₂ = Massa Metilselulosa Optimum

Penetapan Konsentrasi Teofilin dalam Granul

Seratus miligram granul dimasukkan ke dalam beaker glass dan ditambah 100 ml medium pH 6,8 dan diaduk selama 8 jam dengan pengaduk magnetik. Alikuot diambil dan ditentukan serapan pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer⁽¹¹⁾.

Uji Disolusi

Pelepasan obat secara *in vitro* ditentukan dengan memodifikasi metode uji disolusi USP XXII dengan menggunakan keranjang berputar. Granul yang mengandung kira-kira 200 mg teofilin dimasukkan ke dalam keranjang dan di putar dengan kecepatan 100 rpm pada ketinggian kira-kira 2 cm dari dasar labu yang berisi 1000 ml medium II (pH 6,8) pada suhu 37 ± 0,5 °C^(6,12). Alikuot dipipet dengan volume, selang dan lama waktu tertentu dan diukur serapan pada panjang gelombang 270 nm dengan spektrofotometer ultra violet. Jumlah teofilin yang dilepaskan ditentukan dengan menggunakan kurva kalibrasi teofilin. Volume cairan dalam labu tetap dijaga 1000 ml dengan menambahkan medium yang sama dan setiap formula diuji 6 kali. Uji disolusi juga dilakukan dengan menggunakan medium I dan serapan diukur pada panjang gelombang 272 nm⁽¹¹⁾. Jumlah teofilin yang terlepas ditentukan dengan kurva kalibrasi teofilin.

Penetapan Massa Optimum Kitosan dan Metilselulosa

Massa optimum kitosan dan metilselulosa sebagai pengikat teofilin dengan massa maksimum kapsul 1 gram dan dosis muat 150 mg ditentukan dengan rancangan faktorial 22 melalui studi kombinasi kitosan dengan metilselulosa seperti Tabel 2⁽¹³⁾.

Massa rata-rata granul yang didisolusi dari Tabel 2, diamati untuk menentukan koefisien persamaan 1. Demikian juga respon terhadap persen kumulatif teofilin terlarut sampai waktu tertentu sehingga diperoleh koefisien persamaan 2⁽¹³⁾.

Tabel 2. Rancangan Faktorial Kombinasi Kitosan-Metilselulosa

No.	Formula	Transformasi Potensi			Respon	
		AX ₁	BX ₂	CX ₁ X ₂	Y ₁	Y ₂
		1	F ₁	-1	-1	+1
2	F ₂	-1	+1	-1	Y ₁₂	Y ₂₂
3	F ₃	+1	-1	-1	Y ₁₃	Y ₂₃
4	F ₄	+1	+1	+1	Y ₁₄	Y ₂₄

Keterangan :

- AX₁ = transformasi potensi kitosan.
- BX₂ = transformasi potensi metilselulosa.
- CX₁X₂ = transformasi potensi interaksi.
- Y₁ = respon massa rata-rata granul terdisolusi.
- Y₂ = respon persen kumulatif teofilin terlarut.

$$Y_1 = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 \dots\dots\dots 1$$

$$Y_2 = \beta_0 + \beta_2 X_2 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 \dots\dots\dots 2$$

Massa kitosan maupun metilselulosa terendah dan tertinggi yang direncanakan pada Tabel 2, disubstitusikan pada persamaan 3 dan 4.⁽³⁾

$$AX_1 = \frac{A - (X_{13} + X_{22})/2}{(X_{13} - X_{11})/2} \dots\dots\dots 3$$

$$BX_2 = \frac{B - (X_{22} + X_{21})/2}{(X_{22} - X_{21})/2} \dots\dots\dots 4$$

Keterangan : A = Massa Kitosan Optimum
 B = Massa Metilselulosa Optimum

Persamaan 1 dan 2 untuk memprediksi massa maksimum satu kapsul granul teofilin dan persen kumulatif teofilin yang terlarut pada waktu tertentu. Sedangkan persamaan 3 dan 4 untuk menentukan massa kitosan dan metilselulosa optimum berdasarkan transformasi potensi kitosan dan metilselulosa dari prediksi massa maksimum satu kapsul granul teofilin melalui persamaan 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Konsentrasi Teofilin dalam Granul

Tabel 3 menunjukkan jumlah obat yang terperangkap di dalam granul makin kecil dengan bertambah konsentrasi kitosan atau campuran kitosan dengan metilselulosa. Hal ini diakibatkan jumlah obat yang terperangkap di dalam granul merupakan perbandingan antara bahan obat dengan pengikat.

Tabel 3. Konsentrasi Teofilin dalam Granul

No.	Formula	Teofilin (%)
1	F ₁	16,3194 ± 0,5373
2	F ₂	19,1147 ± 0,8360
3	F ₃	13,9460 ± 0,5466
4	F ₄	23,2916 ± 0,8326

Keterangan: * = Standar deviasi (n = 3).

Pemeriksaan Uji Disolusi

Interpretasi data disolusi (Tabel 4) dilakukan dengan mengamati profil pelepasan teofilin masing-masing formula. Profil pelepasan dibuat dengan memplotkan persen teofilin yang terlepas *versus* waktu dalam menit (Gambar 1). Proses pelepasan obat yang paling lambat adalah formula F₃, dengan komposisi kitosan-metilselulosa 40 : 1 (b/b). Hal ini menunjukkan bahwa kitosan bersifat kationik akan lebih memperlambat, hal ini disebabkan kitosan berikatan ionic dengan teofilin sedangkan dengan metilselulosa hanya terdispesi.

Pelepasan teofilin melalui sistem tekanan osmosa, difusi dan erosi serta pengontrolan reaksi kimia (*chemically controlled system*). Hal ini disebabkan pengembangan granul matriks kitosan sampai 3/2 kali volume awal, perpindahan zat terlarut dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah dan pelarutan matriks metilselulosa yang mengandung teofilin serta pemutusan ikatan ion teofilin dengan kitosan.

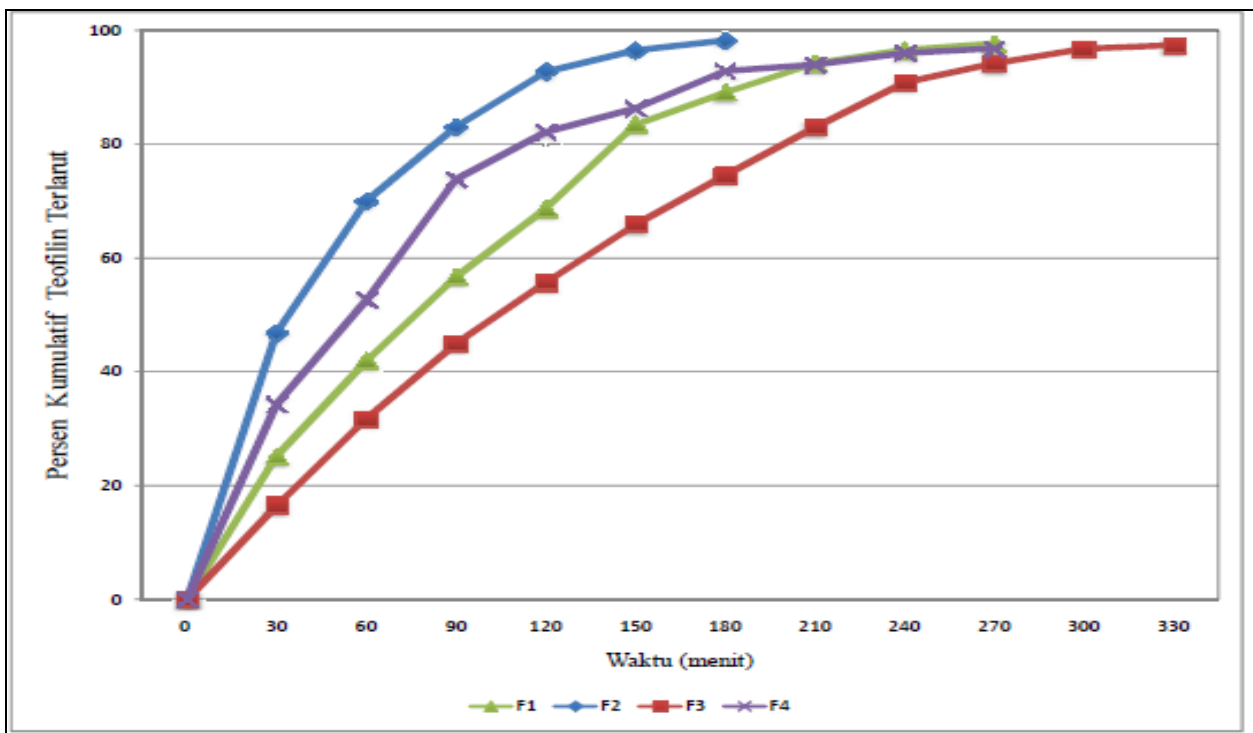
Penentuan laju pelepasan teofilin granul dilakukan dengan membuat persamaan regresi masing-masing sistem pelepasan obat dari sediaan. Laju orde nol diperoleh dengan plot antara konsentrasi kumulatif teofilin terlarut dengan waktu dan harus diperoleh garis lurus dengan koefisien determinasi tertinggi. Laju orde satu dilakukan dengan plot antara logaritma pengurangan konsentrasi zat aktif dengan waktu, juga dan harus diperoleh garis lurus dengan koefisien determinasi tertinggi^(2,14). Sedangkan laju orde Higuchi dilakukan dengan plot antara konsentrasi kumulatif teofilin terlarut dengan akar waktu dan harus diperoleh garis lurus dengan koefisien determinasi tertinggi^(3,5,14).

Model laju pelepasan obat ditentukan oleh harga koefisien determinasi terbesar dari ketiga analisis regresi model laju pelepasan obat. Hasil analisis laju pelepasan obat untuk orde nol, orde satu dan orde Higuchi ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 4. Data Disolusi Granul Formula F₁ sampai F₄ dalam Medium pH = 6,8

No.	Waktu (Menit)	Persen Kumulatif Teofilin Terlarut*			
		F ₁	F ₂	F ₃	F ₄
1	30	25,1686 ± 0,4849	46,8708 ± 0,6365	16,4703 ± 0,4396	34,2891 ±
2	60	41,9574 ± 0,3153	70,0356 ± 0,5974	31,7956 ±	52,6390 ± 0,7150
3	90	56,6832 ± 1,0463	83,1038 ± 1,0953	44,9390 ± 0,6910	73,8012 ± 0,6376
4	120	68,6977 ± 1,0747	92,7326 ± 1,7290	55,6924 ± 0,6003	82,1449 ± 0,9766
5	150	83,4324 ± 1,8691	96,5443 ± 0,4089	65,8596 ± 0,9074	86,3088 ± 1,0156
6	180	89,0680 ± 0,4415	98,2740 ± 0,2951	74,5341 ± 0,6962	92,8563 ± 0,9362
7	210	94,1762 ± 0,6650		82,9575 ± 1,3667	93,9706 ± 1,4758
8	240	96,5699 ± 0,4457		90,8485 ± 0,3905	95,9919 ± 1,0636
9	270	97,7062 ± 0,3271		94,1778 ± 0,9433	96,8604 ± 1,3182
10	300			96,7803 ± 1,1948	
11	330			97,4002 ± 1,0919	

Keterangan : * Standar deviasi (n = 6)



Gambar 1. Profil Pelepasan Teofilin dari Masing-Masing Formula

Tabel 5. Hasil Analisis Kinetika Pelepasan Teofilin dari Matriks Formula Optimasi

No.	Formula	Komposisi Matriks		Nilai Koefisien Determinasi		
		Kitosan(mg)	Metilselulosa (mg)	Orde Nol	Orde Satu	Orde Higuchi
1	F ₁	600	20	0,8332	0,8662	0,9622
2	F ₂	600	400	0,6810	0,9896	0,9431
3	F ₃	800	20	0,8844	0,9251	0,9545
4	F ₄	800	400	0,6354	0,9845	0,9151

Koefisien deteminasi tertinggi formula F₁, konsentrasi kitosan terendah (600 mg) dan metilselulosa terendah (20 mg) sebesar 0,9622 (Tabel 5) menerangkan bahwa sistem pelepasan obat mengikuti orde Higuchi. Sementara, formula F₂, konsentrasi kitosan terendah (600 mg) dan metilselulosa tertinggi (400 mg) mempunyai koefisien determinasi tertinggi 0,9896 (Tabel 5) menerangkan bahwa pelepasan teofilin dari formula F₂ mengikuti orde satu. Hal ini menunjukkan bahwa ada batas konsentrasi kitosan yang dapat memberikan kinetika pelepasan teofilin dengan orde tertentu.

Sedangkan koefisien determinasi tertinggi dari formula F₃, konsentrasi kitosan tertinggi (800 mg) dan metilselulosa terendah (20 mg) sebesar 0,9545 (Tabel 5) menerangkan bahwa pelepasan obat dari formula F₃ mengikuti orde Higuchi. Dan koefisien determinasi terbesar formula F₄, konsentrasi kitosan tertinggi (800 mg) dan metilselulosa tertinggi (400 mg) sebesar 0,9845 (Tabel 5) menerangkan bahwa pelepasan obat dari formula F₄ mengikuti orde satu.

Semakin tinggi konsentrasi kitosan maka pelepasan teofilin cenderung mengikuti laju pelepasan orde Higuchi. Matriks kitosan memberikan pelepasan bahan obat mengikuti orde Higuchi^(5,15). Ini menunjukkan bahwa model pelepasan teofilin dari granul kitosan cenderung mengikuti orde Higuchi. Metilselulosa dinyatakan menghasilkan pelepasan obat mendekati orde nol dari matriks yang tidak larut dalam air, misalnya: gliseril stearat, alkohol berlemak, lilin dan etilselulosa⁽³⁾.

Optimasi Formula Campuran Kitosan dan Metilselulosa

Tabel 6 menunjukkan massa rata-rata granul teofilin yang mengandung pengikat kombinasi, kitosan dengan metilselulosa yang diamati pada studi kombinasi kitosan-metilselulosa tanpa dosis muatan (Tabel 2).

Berdasarkan massa rata-rata satu kapsul granul teofilin dari Tabel 6 diperoleh koefisien persamaan 1 dan 2, yaitu:

$$Y_1 = 113,0575 + 10,3375 X_1 + 18,8175 X_2 + 0,1575 X_1 X_2$$

$$Y_2 = 88,6830 - 4,9879 X_1 + 6,8821 X_2 + 2,2791 X_1 X_2$$

Tabel 6. Berat Granul Kitosan-Metilselulosa

No.	Formula	Granul (mg)
1	F ₄	840,7000 ± 1,0677*
2	F ₅	1213,9000 ± 0,6976
3	F ₆	1044,2000 ± 0,8602
4	F ₇	1432,7000 ± 1,0033

Keterangan: * standar deviasi (n = 6)

Berat kitosan maupun metilselulosa dari Tabel 1 setelah disubstitusikan pada persamaan 3 dan 4 diperoleh persamaan 5 dan 6.

Massa optimum kitosan
 = { (Potensi x 100) + (700) } mg..... 5

Massa optimum metilselulosa
 = { (Potensi x 190) + (210) } mg 6

Berat maksimum satu kapsul teofilin tanpa dosis muatan, yaitu delapan ratus lima puluh milligram (850,0063 mg) dengan potensi; AX₁, = - 0,9076 dan BX₂ = -1 dengan teofilin 200 mg, maka berat maksimum kitosan dan metilselulosa masing-masing sebesar 609,2400 mg dan 20 mg.

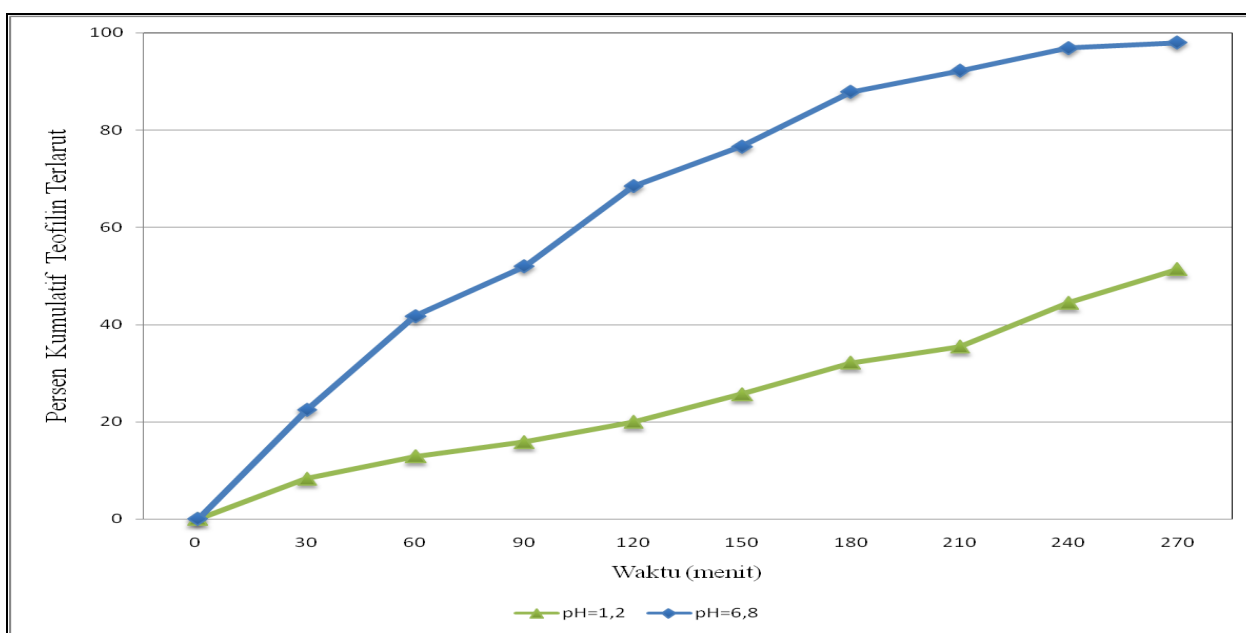
Formula Kitosan dan Metilselulosa Optimum

Tabel 7 dan Gambar 2 menunjukkan hasil uji disolusi dan profil pelepasan teofilin dari sediaan formula dengan massa optimum satu kapsul 850 mg (F₈) yang mengandung massa kitosan dan metilselulosa masing-masing sebesar 609,2400 mg dan 20 mg dalam medium berbeda. Pelarutan teofilin dalam medium I (pH = 1,2) lebih lambat jika dibandingkan dalam medium II (pH = 6,8). Hal ini karena teofilin bersifat asam lemah dengan harga pKa = 8,6 sehingga lebih mudah larut dalam medium yang bersifat basa dan mungkin pengaruh permeabilitas kitosan maupun metilselulosa terhadap medium II (pH = 6,8) lebih besar daripada medium I (pH = 1,2).

Tabel 7. Data Disolusi Granul Formula F₈ dalam Medium Berbeda

No.	Waktu (menit)	Persen Kumulatif Teofilin Terlarut	
		pH = 1,2	pH = 6,8
1	30	8,3453 ± 0,2479*	22,4050 ± 0,4179*
2	60	12,8644 ± 0,4955	41,7365 ± 1,1224
3	90	15,8807 ± 0,4647	51,9546 ± 1,2665
4	120	19,9823 ± 0,4642	68,4271 ± 0,9667
5	150	25,7194 ± 0,5357	76,6114 ± 0,8198
6	180	32,1670 ± 0,6608	87,8080 ± 1,1951
7	210	35,4589 ± 1,2082	92,1606 ± 1,2010
8	240	44,4921 ± 0,4849	96,8700 ± 1,0067
9	270	51,3658 ± 0,8052	97,9637 ± 1,0551

Keterangan : * Standar deviasi (n = 6)



Gambar 2. Profil Pelepasan Teofilin Formula Optimum dalam Medium Berbeda

Tabel 8. Hasil Analisis Kinetika Pelepasan Teofilin dari Matriks Formula Optimum

No.	Medium	Nilai Koefisien Determinasi		
		Orde Nol	Orde Satu	Orde Higuchi
1	I	0,9744	0,9241	0,8000
2	II	0,8616	0,9113	0,9631

Koefisien determinasi terbesar pada medium I (pH = 1,2) dan medium II (pH = 6,8) masing-masing sebesar 0,9744 dan 0,9631 (Tabel 8) menerangkan bahwa pelepasan obat dari formula F₈ mengikuti orde nol pada medium I dan Higuchi pada medium II. Hal ini terjadi karena teofilin bersifat asam lemah dengan harga pK_a = 8,6 sehingga lebih mudah larut dalam medium yang

bersifat basa dan mungkin pengaruh permeabilitas kitosan maupun metilselulosa terhadap medium II (pH = 6,8) lebih besar daripada medium I (pH = 1,2).

SIMPULAN

Pelepasan teofilin makin lambat dengan kenaikan konsentrasi kitosan. Dan penambahan

metilselulosa mempercepat pelepasan teofilin dari sediaan granul (Uji t, $p \leq 0,05$).

Massa optimum kitosan dan metilselulosa dalam satu kapsul teofilin, yaitu 850 mg adalah 609,24 mg dan 20,00 mg. Pelepasan teofilin dari formula yang menggunakan pengikat campuran maksimum kitosan dengan metilselulosa sekitar 4,5 jam dengan persen kumulatif teofilin terlarut ($97,9637 \pm 1,0551$)% pada medium pH = 6,8. Uji t terhadap pelepasan teofilin saat t = 180 menit antara penelitian dengan yang diharapkan, hasil prediksi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata untuk uji dua pihak dengan $\alpha = 0,05$; dk = 5 ($t_{\text{tabel}} = \pm 2,57$ dan $t_{\text{hitung}} = -0,30$).

Laju pelepasan obat mengikuti orde Higuchi pada medium II dan orde nol pada medium I serta jenis sediaan granul termasuk pada *prolonged action*.

DAFTAR PUSTAKA

- Shaji J, Jain V, Lodha S. Chitosan: A Novel Pharmaceutical Excipient. *International Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*. 2010; 1(1): 1-28.
- Allache JM. *Farmasetika 2*. Biofarmasi. Edisi Surabaya: Airlangga University Press; 1993. p 154-339.
- Lordi NG. Bentuk Sediaan Pelepasan Berkesinambungan. Dalam: *Teori dan Praktek Farmasi Industri*. Edisi III. jilid 2, editor: Leon Lachman, H.A. Lieberman dan J.L. Kanig, Jakarta: UI-Pres; 1994. p. 893-940.
- Barnes PJ. Theophylline. *Pharmaceuticals*. 2010; 3: 725-747
- Rani M, Agarwal A, Maharana T, Negi YS. A Comparative Study for Interpenetrating Polymeric Network (IPN) of Chitosan Amino Acid Beads for Controlled Drug Release. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2010; 4(2): 35-54.
- Miyazaki S, Yamaguchi H, Yokouchi C, Takada M, How WM. Sustained Release of Indomethacin from Chitosan Granules in Beagle Dogs. *J. Pharm. Pharmacol*. 1988; 40 : 642-643
- Knorr D. Dye Binding Properties of Chitin and Chitosan. *J.Pharm.Sci*. 1983; 48:36-41.
- Matthew HW, Salley SO, Peterson, WD, Klien MD. Complex Coacervate Microcapsules for Mammalian Cell Culture and Artificial Organ Development. *J. Biotechnol. Prog*. 1993; 9(5): 510.
- Zielinski BA, Aebischer P. Chitosan as a Matrix for Mammalian Cell Encapsulation. *J. Biomaterials*. 1994; 15(13): 1049.
- Siswanto A. Optimasi Formula Sediaan Tablet Lepas Lambat Teofilin dengan Bahan Matriks NaCMC dan Xanthan Gum. *Pharmacy*. 2006; 3(2): 40-45
- Clarke EGC. *Isolation and Identification of Drug*. London: The Pharmaceutical Press; 1969. p. 270-271
- Vashi VI, Meyer MC. Effect pH on the in Vitro Dissolution and in Vivo Absorption of Controlled-Release Theophylline in Dogs. *J. Pharm. Sci*. 1988; 77(9): 760-764.
- Bolton S. *Pharmaceutical Statistics Practical and Clinical Application*. In: *Drug and The Pharmaceutical Sciences*. editor: James Swarbrick. New York: Marcel Dekker, Inc; 1984. p.125-435.
- Sudjana. *Metode Statistik*. Edisi Kelima. Bandung: Tarsito; 1992. p. 227-372.
- Murtaza G, Ahmad M, Khan SA, dan Hussain I. Evaluation of Cefixime Loaded Chitosan Microspheres: Analysis of Dissolution Data Using DD Solver. [internet]. 2012. [cited 2013 August 12]. Available from: http://www.dissolutiontech.com/DTresour/201205Articles/DT201205_A02.pdf