

KARAKTERISASI DAN PENINGKATAN DISOLUSI KALSIMUM ATORVASTATIN MELALUI PROSES MIKROKRISTALISASI

Gozali, D., Tandela, R. dan Wardhana, Y.W.

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Sumedang
Jl. Raya Bandung-Sumedang Km 21 Jatinangor 45363
E-mail: dolihg@yahoo.com

ABSTRAK

Kalsium atorvastatin merupakan obat antihiperlipidemia golongan statin. Berdasarkan *Biopharmaceutical Classification System (BCS)*, atorvastatin termasuk dalam golongan obat kelas II yang memiliki kelarutan rendah dan permeabilitas tinggi. Kelarutan yang rendah dalam air (praktis tidak larut) menyebabkan laju disolusi rendah, dan merupakan faktor pembatas untuk laju penyerapan obat. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan laju disolusi atorvastatin dengan menggunakan metode mikrokristalisasi. Pada proses mikronisasi dilakukan dengan menambahkan CMC sebagai *stabilizing agent* yang berfungsi untuk mencegah agregasi kembali dari kristal yang telah terbentuk. Atorvastatin dilarutkan dalam metanol dan *stabilizing agent* dikembangkan terlebih dahulu di dalam air panas. *Stabilizing agent* dimasukkan ke dalam larutan atorvastatin secara cepat di bawah pengadukan menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian hasilnya dikeringkan di oven dan di *freeze dry*. Mikrokristal terbentuk dikarakterisasi menggunakan *X-Ray Diffraction (XRD)*, Spektroskopi Infra Merah, *Scanning Electron Microscopy (SEM)*, uji kelarutan dan uji disolusi terbanding. Difraktogram XRD dari mikrokristal menunjukkan puncak yang lebih rendah dibandingkan baku atorvastatin yang menunjukkan habit kristal telah terjadi tanpa ada perubahan polimorfik. Hasil spektroskopi infra merah, terlihat tidak adanya interaksi antara atorvastatin dengan *stabilizing agent*. Kelarutan dari mikrokristal yang dibentuk meningkat sekitar 1,24 kali. Hasil uji disolusi terbanding dari mikro-kristal pada menit ke-45 pada media HCl pH 1,2 meningkat sekitar 2 kali, pada dapar asetat pH 4,5 meningkat sekitar 1,3 kali dan pada dapar fosfat pH 6,8 meningkat sekitar 1,25 kali.

Kata Kunci: Atorvastatin, Mikrokristal, Mikronisasi, Disolusi

ABSTRACT

Atorvastatin calcium is an antihyperlipidemia drugs from statin group. According to the *Biopharmaceutical Classification System (BCS)*, atorvastatin is included in second classes drug which have low solubility and high permeability. Atorvastatin has low solubility in water (practically insoluble) causes a low dissolution rate, dissolution rate is a limiting factor for the rate of drug absorption. The aim of this research is intended to enhance the dissolution rate of atorvastatin by using microcrystallization method. Micronization was carried out in the presence of CMC as stabilizing agent. Atorvastatin was dissolved in methanol and the stabilizing agent in water. The stabilizing agent was poured rapidly into the drug solution under stirring by a magnetic stirrer, and the resultant was oven-dried

and freeze drying. Microcrystal was characterized by *X-Ray Diffraction (XRD)*, Infra Red, Spectroscopy Scanning Electron Microscopy (SEM), solubility study and comparative dissolution study. XRD diffractograms of microcrystal showed smaller peak height than untreated atorvastatin indicates that crystal habit modification occurred in the microcrystals without any polymorphic changes. infra red Spectroscopy results showed no interaction between the drug and the stabilizer. Solubility of microcrystals also increased for 1.24 times. Comparative dissolution of microcrystals at 45 minutes was increased about 2 times in HCl medium pH 1.2, about 1.3 times in acetate buffer pH 4.5 and about 1.25 times in phosphate buffer pH 6.8.

Key words: Atorvastatin calcium, Microcrystal, Micronization, Dissolution

PENDAHULUAN

Kelarutan obat yang rendah dalam air merupakan faktor penting yang mempengaruhi bioavailabilitas obat. Kelarutan dari obat merupakan salah satu faktor yang menentukan kecepatan absorpsi obat tersebut (Varshosaz *et al.*, 2008). Atorvastatin termasuk kelompok obat yang disebut statin yang digunakan untuk menangani dislipidemia dan mencegah penyakit jantung koroner. Atorvastatin memiliki bioavailabilitas sebesar 12%. (Departemen Kesehatan RI, 1995; British, 2007; Sharge dan Andrew, 2011), dan Bioavailabilitas yang kecil dapat dijadikan indikasi bahwa obat tersebut mempunyai laju disolusi yang rendah. Suatu obat yang memiliki laju disolusi rendah dapat mengakibatkan penurunan daya absorpsi. (Faroongsang dan Sunthornpit, 2000). Peningkatan bioavailabilitas dari obat yang memiliki kelarutan rendah, merupakan salah satu tantangan dalam aspek pengembangan formulasi obat. Salah satu cara untuk meningkatkan laju disolusi adalah dengan mengurangi ukuran partikel, yang akan meningkatkan total luas permukaan, sehingga obat akan mudah melarut (Varshosaz *et al.*, 2008).

Salah satu teknik yang dapat digunakan untuk memperkecil ukuran partikel adalah mikrokristalisasi (Varshosaz *et al.*, 2008). Mikrokristalisasi adalah metode yang sesuai untuk menghasilkan partikel berukuran mikron. Ukuran partikel yang dihasilkan lebih seragam dibandingkan dengan metode penggilingan (*milling*) (Soewandhi, 2006). Proses mikronisasi dengan menggunakan penggilingan (*milling*) sangat tidak efisien karena memerlukan energi yang besar. Di sisi lain, gangguan dalam kisi kristal dapat menyebabkan ketidakstabilan fisika dan kimia, karena ketidakaturan bentuk akan menghasilkan produk yang secara termody-

dinamika tidak stabil. Florence dan Atwood, 2011; Choi dan Riegelman, 1971. Perubahan energi permukaan dapat juga mempengaruhi proses pengolahan seperti sifat aliran serbuk. Serbuk mikronisasi dengan energi permukaan yang tinggi menunjukkan sifat alir yang buruk (Varshosaz *et al.*, 2008).

Dalam penelitian ini, teknik mikrokristalisasi dilakukan menggunakan alat *ultra-homogenizer* kecepatan tinggi (13.500 rpm dan 24000 rpm) sehingga didapatkan kristal berukuran kecil. Setelah itu dilakukan stabilisasi partikel menggunakan suatu bahan polimer. Umumnya stabilisasi partikel tidaklah mudah karena kecenderungan partikel untuk berkembang, Untuk melihat kemampuan bahan polimer sebagai *stabilizing agent* maka dilakukan dua perlakuan yaitu dengan penambahan *stabilizing agent* dan tanpa penambahan *stabilizing agent*.

Kristal akan dikarakterisasi menggunakan Difraksi Sinar-X (XRD), Spektroskopi Infra Merah dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) untuk evaluasi habit kristal dan ukuran partikel yang terbentuk. Kemudian hasil karakterisasi dibandingkan dengan sebelum perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji disolusi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 242 nm dan dilihat absorbansi maksimum dari masing-masing perlakuan.

BAHAN DAN METODE

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Ultra-homogenizer* (IKA T25, Jerman), *freeze dryer* (Vacuubrand, Jerman), spektrofotometer UV-Vis (SPECORD 200, UK), alat *X-Ray Diffractometer* (Philips Diffractometer PW 1710, Jepang), *Scanning Electron Microscopy* (JEOL JSM-5310LV), neraca analitik (Acculab VI, UK), *stopwatch*, oven dan alat-alat gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari atorvastatin (*DSM Anti-Infectives India*), carboxy metyl-cellulose (Daichi, Jepang), aquades, metanol (Brataco), etanol (Brataco), natrium hidoksida (Merck), kalium dihidrogen fosfat (Merck), natrium asetat (Merck), asam asetat glasial (Merck), asam klorida (Merck), dan kalium klorida (Merck).

1. Pemeriksaan Bahan Baku

Pemeriksaan dilakukan untuk mengidentifikasi atorvastatin. Prosedur pemeriksaan sesuai dengan Farmakope Indonesia edisi IV dan literature lainnya atau dengan melampirkan sertifikat analisis zat tersebut. Pemeriksaan meliputi: pemerian, kelarutan, dan identifikasi secara organoleptis dan kimia kualitatif.

2. Pembuatan mikrokristal

Pembuatan mikrokristal atorvastatin dengan *stabilizing agent* 5% menggunakan alat *ultra-homogenizer* dan *freeze dryer*; Membuat larutan atorvastatin dengan cara melarutkan 0,5 gram atorvastatin dalam 30mL metanol. Pada wadah terpisah dilakukan pengembangan CMC dengan cara melarutkan CMC 0,05 gram di dalam 70 mL aquades. Kemudian

campurkan secara cepat larutan CMC ke dalam larutan atorvastatin yang disertai pengadukan menggunakan *ultra-homogenizer* pada kecepatan tertentu (13500 rpm dan 24000 rpm) selama \pm 15 menit. Setelah itu dimasukkan ke dalam *ice bath* disertai pengadukan alat *ultra-homogenizer* pada kecepatan 3200 rpm selama \pm 15 menit, mikrokristal akan terbentuk secara spontan. Selanjutnya larutan tersebut dimasukkan ke dalam oven pada suhu 50 °C selama 3 jam untuk menarik pelarut organik sehingga didapatkan larutan atorvastatin dalam air. Pindahkan larutan ke dalam wadah khusus *freeze dry* untuk dibekukan. Setelah beku maka sampel siap untuk di *freeze dry*.

Pembuatan mikrokristal atorvastatin tanpa *stabilizing agent* menggunakan alat *ultra-homogenizer* dan *freeze dryer*: Membuat larutan atorvastatin dengan cara melarutkan 0,5 gram atorvastatin dalam 30 mL metanol. Kemudian ditambahkan dengan 70 mL aquades ke dalam larutan atorvastatin yang disertai pengadukan menggunakan alat *ultra-homogenizer* pada kecepatan tertentu (13500 rpm dan 24000 rpm) selama \pm 15 menit. Setelah itu dimasukkan ke dalam *ice bath* disertai pengadukan alat *ultra-homogenizer* pada kecepatan 3200 rpm selama \pm 15 menit, mikrokristal akan terbentuk secara spontan. Selanjutnya larutan tersebut dimasukkan ke dalam oven pada suhu 50° C selama 3 jam untuk menarik pelarut organik sehingga didapatkan larutan atorvastatin dalam air. Pindahkan larutan ke dalam wadah khusus *freeze dry* untuk dibekukan. Setelah beku maka sampel siap untuk di *freeze dry*.

3. Pembuatan kurva kalibrasi atorvastatin

Ditimbang 20 mg atorvastatin standar, kemudian dilarutkan dengan dapar fosfat pH 6,8 dalam labu ukur 100 mL. Kocok hingga larut seluruhnya. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga didapat konsentrasi 8, 10, 12, 15, dan 20 ppm. Serapan masing-masing larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 240nm. Kemudian dibuat kurva kalibrasi dalam persamaan $y = ax + b$.

4. Karakterisasi Mikrokristal

Morfologi kristal; Dilakukan pengamatan mikroskopik dengan alat *scanning electron microscopy* (SEM) (EOL JSM-5310LV) untuk melihat bentuk dan ukuran partikel. Sejumlah sampel (atorvastatin standar dan mikrokristal) diletakkan pada holder yang telah dilapisi konduktor. Selanjutnya dimasukkan ke dalam alat vakum dan ditunggu hingga pelapisan selesai. Kemudian dilakukan pemeriksaan morfologi dari kristal.

Difraksi sinar-X; Sampel dikarakterisasi menggunakan *X-ray diffractometer* (Philips Diffractometer PW 1710, Jepang). Mula-mula sampel diletakkan pada holder yang terbuat dari aluminium. Kemudian permukaan sampel diratakan sejajar dengan permukaan holder. Holder yang berisi sampel dimasukkan dalam Goniometer kemudian dilakukan pengukuran dengan alat *X-ray diffractometer*.

Spektroskopi Infra Merah; Analisis kristal juga dilakukan dengan menggunakan spektroskopi infra merah. Untuk spektroskopi inframerah, 1 mg sampel dicampur dengan 200 mg KBr, dan kemudian dibuat

pelet. Pengukuran menggunakan spektroskop infra merah, dan dilakukan dengan jangkauan bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} .

Uji Kelarutan; Uji kelarutan dilakukan sesuai dengan metode Higuchi dan Connor. Pengujian kelarutan dilakukan dengan menambahkan sejumlah zat yang berlebih ke dalam media etanol hingga larutan tersebut jenuh. Kemudian dilakukan pengocokan menggunakan *shaker* selama 48 jam pada suhu 25°C dan kecepatan konstan. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Hasil penyaringan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (SPECORD 200, UK). Masing-masing sampel dilakukan triplo.

Uji Disolusi; Ditimbang sejumlah ± 20 mg atorvastatin standar, ± 20 mg atorvastatin dengan proses ultra-homogenizer dan ± 20 mg atorvastatin mengandung 5% CMC dengan proses ultra-homogenizer. Lalu dimasukkan ke dalam 900 mL media disolusi dapar HCl pH 1,2, dapar asetat pH 4,5, dan dapar fosfat pH 6,8 dan dilakukan pengujian disolusi menggunakan alat disolusi tipe II dengan kecepatan 50 rpm dan suhu $\pm 37^\circ\text{C}$. Pengambilan sampel dilakukan pada 5, 10, 15, 30, dan 45 menit sebanyak 5 mL. Setiap kali pengambilan sampel, dilakukan penambahan 5 mL larutan medium untuk menjaga volume disolusi tetap. Absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (SPECORD 200, UK) pada panjang gelombang 240 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan mikrokristal ini bertujuan untuk meningkatkan kecepatan melarut atorvastatin yang berdasarkan BCS (*Biopharmaceutical Classification System*) memiliki kelarutan yang rendah. Salah satu cara untuk meningkatkan kelarutan yaitu mengecilkan ukuran partikelnya. Metode ini dipilih karena memiliki beberapa keuntungan, salah satunya yaitu zat aktif yang terkandung lebih besar dibandingkan dengan metode yang lain, contohnya seperti pada metode dispersi padat yang biasanya menggunakan eksipien lebih besar dibandingkan dengan zat aktif (Varshosaz *et al.*, 2008). Sehingga dengan meningkatnya kelarutan atorvastatin, diharapkan dapat meningkatkan bioavailabilitas dari atorvastatin. Pada penelitian ini, metode untuk pengecilan ukuran partikel menggunakan alat *ultra-homogenizer*.

Pada alat *ultra-homogenizer*, mikrokristalisasi di buat dengan menggunakan pelarut metanol dengan optimasi kecepatan putar ultra-homogenizer. Optimasi dilakukan pada kecepatan putar 13.500 rpm dan 24.000 rpm selama ± 15 menit, setelah itu beaker glass dimasukkan ke dalam ice bath disertai pengadukan dengan kecepatan 3200 rpm. Setelah dilakukan optimasi kecepatan putar, ternyata mikrokristal yang dihasilkan dengan kecepatan 24.000 rpm memiliki kelarutan yang lebih besar dibandingkan dengan kecepatan 13.500 rpm. Kemudian dilakukan proses penarikan pelarut organik, yaitu metanol yang dilakukan menggunakan oven pada suhu 50°C selama

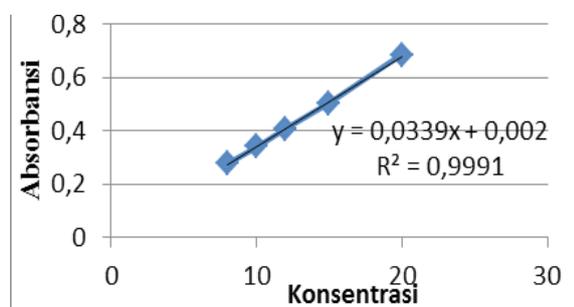
3 jam. Suhu yang digunakan pada oven berada di bawah titik didih metanol yaitu 63,5°C.

Penambahan stabilizing agent yaitu CMC (*carboxymethylcellulose*) bertujuan untuk menghambat laju pertumbuhan kristal dan bentuk kristal yang nantinya dapat berpengaruh terhadap kelarutan. Penambahan CMC 5% dari jumlah larutan diharapkan dapat menghasilkan kristal dengan ukuran mikro dan memiliki bentuk yang stabil (keseragaman bentuk kristal). Hasil dari pembuatan mikrokristal adalah sebagai berikut:

Berikut adalah kurva kalibrasi yang dibuat (Gambar

Tabel 1. Hasil pembuatan kristal menggunakan alat *ultra-homogenizer*

Jenis	Massa Awal (mg)	Massa Akhir (mg)	Rendemen (%)
F1	510	452	88,62745098
F2	508	456	89,76377953
F3	505	440	87,12871287
F4	502	443	88,24701195

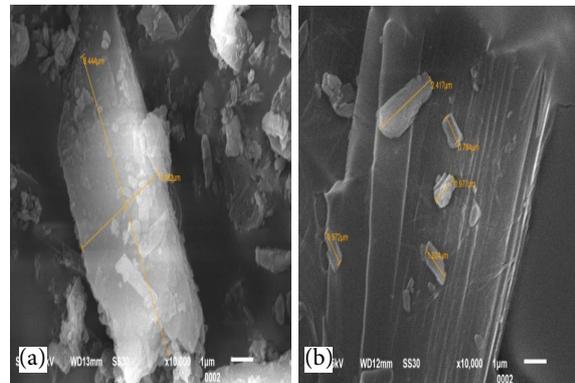


Gambar 1. Kurva kalibrasi atorvastatin

1) dengan linearitas 0,9991 dan persamaan garis $y = 0,0339x + 0,002$

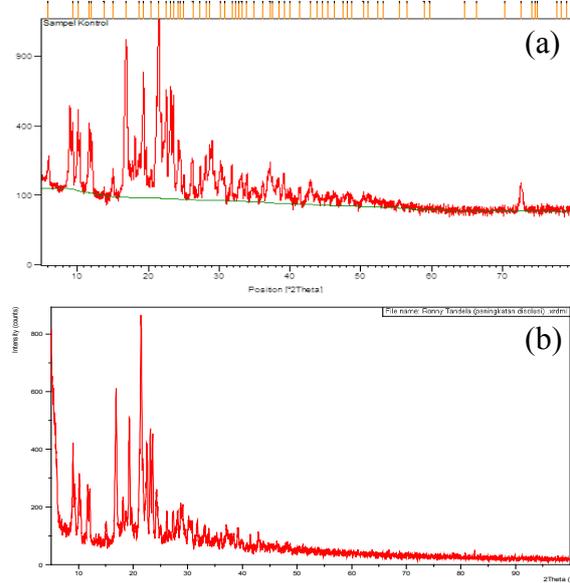
Karakterisasi mikrokristal

Pada pengamatan morfologi mikrokristal menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) adalah untuk melihat bentuk dari mikrokristal yang dihasilkan dan kristal dari baku itu sendiri. Pada pengamatan ini terlihat bahwa bentuk dari baku atorvastatin mempunyai bentuk balok dan tidak terdistribusi secara sempurna. Sedangkan pada mikrokristal yang terbentuk mempunyai bentuk balok dan terdistribusi lebih baik. Selain itu juga terlihat bahwa terdapat lapisan *stabilizing agent* yang melapisi mikrokristal yang terbentuk.



Gambar 2. Scanning electron micrograph (a) Atorvastatin murni (b) Mikrokristal atorvastatin dengan *stabilizing agent* 5%

Pada pengujian menggunakan XRD, terlihat bahwa karakteristik polimorf dari puncak-puncak tertentu terlihat di dalam difraktogram (Gambar 3). Pada difraktogram baku atorvastatin dan mikrokristal atorvastatin sama-sama menunjukkan adanya puncak yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadinya perubahan polimorf dari mikrokristal yang dibentuk.

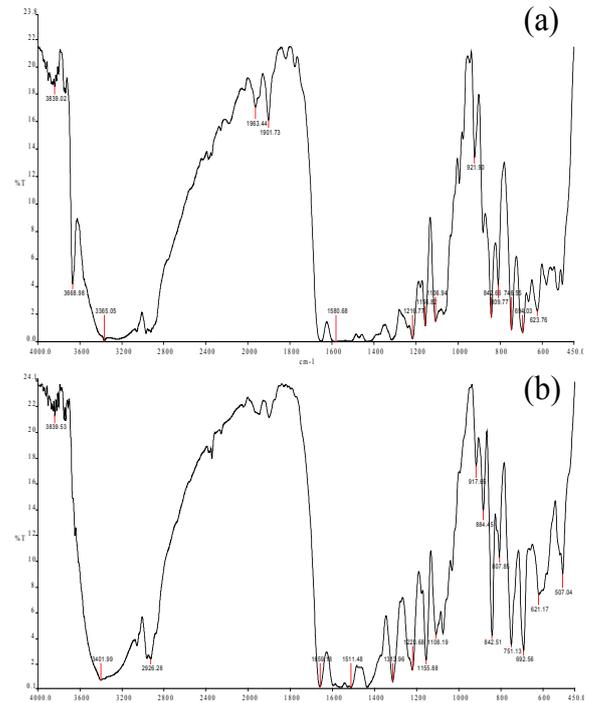


Gambar 3. Difraktogram dari (a) atorvastatin murni (b) Mikrokristal atorvastatin dengan *stabilizing agent* 5%

Perbedaan dari masing-masing difraktogram adalah tinggi (intensitas) dari puncak yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadinya perubahan habit kristal. Dapat pula menunjukkan terjadinya perubahan ukuran dari kristal yang terbentuk. Sesuai dengan persamaan Bragg, jika seberkas sinar-X dijatuhkan pada sampel kristal, maka bidang kristal itu akan membiaskan sinar-X yang memiliki panjang gelombang sama dengan jarak antar kisi dalam kristal tersebut. Sinar yang dibiaskan akan ditangkap oleh detektor yang kemudian diterjemahkan sebagai puncak difraksi. Penurunan intensitas pada sampel ini merupakan hasil dari pengurangan kisi atau bidang dari kristal atorvastatin setelah mengalami proses mikronisasi. Setiap puncak yang muncul pada pola XRD mewakili satu kisi atau bidang yang memiliki orientasi tertentu dalam sumbu tiga dimensi, sehingga semakin banyak kisi atau bidang kristal yang terdapat dalam suatu sampel, maka makin kuat intensitas yang dihasilkan.

Pada hasil spektroskopi infra merah (Gambar 4), terlihat spektrum infra merah dari zat atorvastatin dan mikrokristal yang dibentuk menunjukkan karakteristik yang identik pada puncak 3403 cm^{-1} (N-H stretching), 3059 cm^{-1} (C-HO stretching gugus alkohol), $2966,15\text{ cm}^{-1}$ (CH-stretching), 1656 cm^{-1} (C=C bending), 1564 cm^{-1} (C=O stretching gugus amida) $1313,56\text{ cm}^{-1}$ (C-N stretching), 1104 cm^{-1} (O-H bending), 751 cm^{-1} dan $695,08\text{ cm}^{-1}$ (C-F stretching). Hal ini menunjukkan tidak adanya perubahan gugus fungsi dari mikrokristal yang dibuat dan tidak adanya interaksi antara *stabilizing agent* dengan mikrokristal. Intensitas

dari mikrokristal atorvastatin yang terbentuk terlihat menurun dibandingkan dengan baku atorvastatin. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadinya perubahan habit kristal dan reduksi ukuran partikel yang terjadi pada mikrokristal (Varshosaz *et al.*, 2008).



Gambar 4. Spektra infra merah dari (a) Atorvastatin murni (b) Mikrokristal atorvastatin dengan *stabilizing agent* 5%

Pengujian kelarutan dari atorvastatin dan mikrokristal dilakukan dengan metode Higuchi and Connor. Pengujian dilakukan dengan menambahkan sejumlah sampel ke dalam etanol hingga jenuh dan dilakukan pengadukan dengan *shaker* selama 48 jam. Dan di dapatkan hasil seperti pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji kelarutan dalam etanol

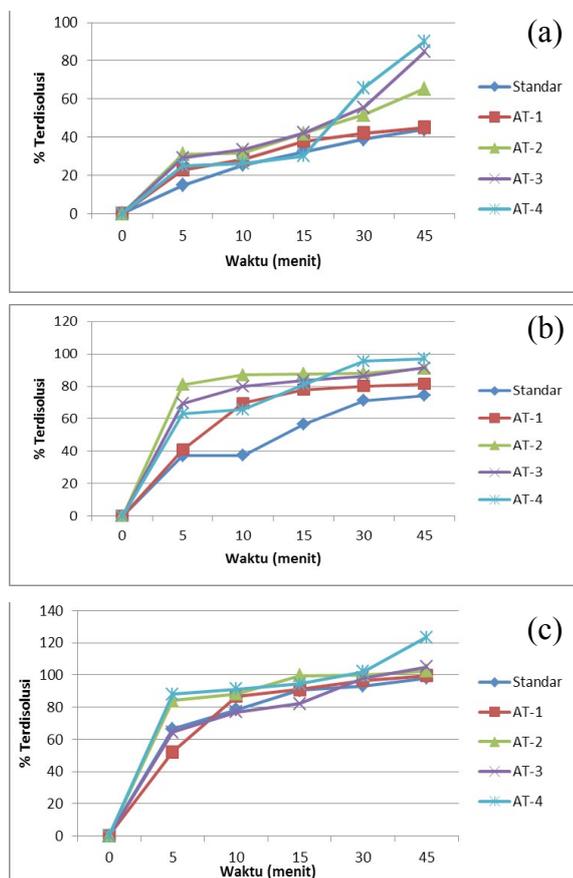
Jenis	Kelarutan dalam etanol (mg/ml)
Atorvastatin standar	0,493
F1	0,513
F2	0,53
F3	0,591
F4	0,612

Dari Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa F4 memiliki kelarutan yang paling besar. Hal ini pula menunjukkan bahwa kelarutan dari mikrokristal yang dibentuk meningkat karena adanya luas penampang dari zat yang diperbesar.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian disolusi terbanding serbuk kristal atorvastatin. Pada dasarnya laju disolusi diukur dari jumlah zat aktif yang terlarut pada waktu tertentu dalam medium cair yang diketahui volume dan suhu yang relatif konstan. Tujuan dilakukan pengujian profil disolusi serbuk mikrokristal yaitu untuk mengetahui berapa banyak serbuk kristal yang terlarut pada waktu tertentu.

Uji disolusi dilakukan dalam medium 900 mL dapar HCl pH 1,2, dapar Asetat pH 4,5 dan dapar fosfat pH 6,8 dan dilakukan pengadukan dengan alat disolusi tipe II dengan kecepatan 50 rpm pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$. Interval pengambilan sampel dilakukan pada 5, 10, 15, 30 dan 45 menit dengan pengambilan sampel sebanyak 5mL dan disertai penambahan medium dengan volume yang sama sehingga volume medium disolusi tetap.

Hasil pengujian disolusi pada Gambar 5 menunjukkan bahwa mikrokrystal yang dihasilkan dari proses mikrokristalisasi dapat meningkatkan kelarutan dari atorvastatin. Jumlah atorvastatin murni (%) yang terdisolusi setelah 45 menit pada media dapar HCl, dapar Asetat, dan dapar fosfat adalah 44,12%, 74,42% dan 98,17%. Sedangkan mikrokrystal atorvastatin-CMC 5% melalui proses ultra homogenizer kecepatan 24.000 rpm menunjukkan hasil 90,16%, 97,07% dan 123%. Perbedaan laju disolusi sering berhubungan dengan luas permukaan kristal, distribusi partikel dan kemurnian dari kristal tersebut.



Gambar 5. Profil disolusi masing masing perlakuan terhadap (a) Media larutan HCl pH 1,2 (b) Media dapar Asetat pH 4,5 (c) Media dapar fosfat pH 6,8

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peningkatan disolusi suatu senyawa aktif dapat dilakukan dengan proses mikrokristalisasi dan hasil dari pengujian menunjukkan bahwa pada larutan HCl pH 1,2 terjadi peningkatan sekitar 2 kali, pada dapar asetat pH 4,5 terjadi peningkatan sebesar 1,3 kali dan pada dapar fosfat pH 6,8 terjadi peningkatan sebesar 1,25 kali.

DAFTAR PUSTAKA

- British Comission Secretariat. 2007. British Pharmacopeia. London: British Comission Secretariat.
- Chiou, WL. & Riegelman S. 1971. Pharmaceutical applications of solid dispersions systems. *J Pharm Sci* 60: 1281-1320.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. Jakarta: Farmakope Indonesia IV.
- Faroongsang & Sunthornpit, A. 2000. Thermal Behaviour of a Pharmaceutical Solid Acetaminophen Doped. *AAPS Pharm. Sci Tech.*
- Florence & Atwood. 2011. *Physicochemical Principles of Pharmacy*, Fifth Edition. London: MacMillan Press, : 8-27.
- Shargel, L. & Andrew B.C.YU. 2005. *Biofarmasetika dan Farmakoterapi Terapan*. Surabaya: Airlangga Press.
- Soewandhi, Sundani N. 2006. *Kristalografi Farmasi I*. Bandung: ITB. 9-12, 104-105, 208.
- Soewandhi, Sundani N. 2006. *Kristalografi Farmasi II*. Bandung: ITB. 5-8.
- Soewandhi, Sundani N. 2006. *Kristalografi Farmasi III*. Bandung: ITB. 1-9.
- Swarbick, J. 2007. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* 3rd ed vol6. USA.
- Varshosaz, J. 2008. Dissolution enhancement of gliclazide using in situ micronization by solvent change method. *Powder Tech.* 187: 222-300