



9 772686 250000

e-ISSN : 2686-2506



Pengujian dan Peningkatan Stabilitas Sediaan Hidrogel dalam Sistem Penghantaran Obat

*M. Ramadhan Saputro^{*1}, Yoga Windhu Wardhana², Nasrul Wathon²*

¹Program Studi Magister Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Bandung, Sumedang 45363, Indonesia.

²Departemen Farmasetika dan Teknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Bandung, Sumedang 45363, Indonesia

*E-mail: ramadhanputro@gmail.com

(Submit 13/09 /2021, Revisi 17/09/2021, Diterima 19/10/2021, Terbit 10/12/2021)

Abstrak

Produk obat yang diproduksi harus dilakukan pengujian stabilitas guna untuk mengetahui umur simpan dan jalur degradasi suatu obat. Produk obat seperti hidrogel sangat rentan terjadi penurunan mutu kualitas karena bahan yang digunakan banyak mengandung air. Menurut beberapa penelitian sediaan hidrogel umumnya terdegradasi melalui jalur kimia seperti oksidasi dan hidrolisis, sehingga hal ini yang dapat menurunkan kualitas sediaan hidrogel. Oleh karena itu, dari permasalahan yang dimunculkan, maka tujuan dari review artikel untuk memberikan solusi hal yang dapat meningkatkan stabilitas dari sediaan hidrogel, diantaranya dengan penambahan polimer alami maupun sintesis serta modifikasi sediaan hidrogel guna meningkatkan stabilitas sebagai sistem penghantaran obat. Bukan hanya itu pengujian stabilitas sediaan hidrogel juga akan diulas dari artikel ini seperti parameter pengujian yang dilakukan beberapa literatur seperti fisika (organoleptis, titik leleh), kimia (kandungan obat, pH) dan mikrobiologi.

Kata kunci: Degradasi, Hidrogel, Oksidasi, Stabilitas

Pendahuluan

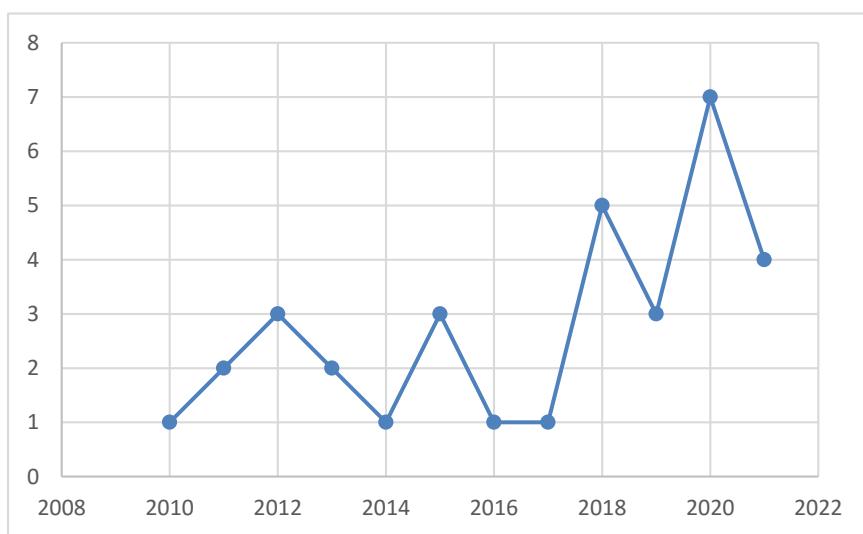
Pengujian stabilitas perlu dilakukan terhadap produk seperti sediaan farmasi ataupun makanan dan minuman [1,2]. Pengujian stabilitas harus dilakukan produsen sebelum produk diproduksi skala industri bahkan sampai sebelum pengajuan izin edar [1,2]. Umumnya pengujian stabilitas merujuk pada prosedur yang dikeluarkan oleh lembaga resmi obat maupun makanan yang ada di negara masing – masing, namun pengujian juga bisa merujuk sesuai dengan pedoman ICH (International Conference on Harmonisation) [3].

Hidrogel adalah satu sediaan farmasi semipadat, dengan basis yang bersifat hidrofilik [4]. Hidrogel memiliki keunggulan mudah digunakan, mudah dibersihkan, serta hidrogel juga memiliki gaya antarmolekul yang dapat mengurangi mobilitas molekul dan menghasilkan viskositas yang bagus [4]. Para peneliti beberapa tahun belakangan banyak membuat sediaan hidrogel karena salah satu kegunaannya bisa kearah medis [5, 6, 16].

Sediaan hidrogel yang sudah dibuat perlu dilakukan stabilitas untuk menjaga kualitas suatu produk bahkan menjadi salah satu syarat dalam pengajuan registrasi obat. Dalam beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa kualitas dari sediaan hidrogel dapat menurun karena mudah dalam terjadi oksidasi dan hidrolisis, hal ini disebabkan banyaknya kandungan air dalam sediaan hidrogel. Hal ini perlu dilakukan modifikasi dalam sediaan hidrogel. Oleh karena itu tujuan dari review artikel ini adalah untuk mengetahui peningkatan sediaan hidrogel dalam suatu produk obat yang akan dijelaskan lebih lanjut pada bab selanjutnya, serta memahami parameter uji stabilitas yang dilakukan terhadap sediaan hidrogel, pengukuran tersebut mencakup fisika (organoleptis, transisi suhu), kimia (pH, kadar obat) dan mikroba. Selain itu juga untuk mengetahui jalur degradasi sediaan hidrogel dan hal yang dapat meningkatkan stabilitas hidrogel [7,8,9].

Metodologi

Pembuatan artikel ini berdasarkan hasil pengumpulan jurnal penelitian sebanyak 33 jurnal (2010 – 2021) dari situs berupa Science Direct, Scopus, dengan kata kunci, “stability hydrogel”, “stability drug hydrogel”, “stability test hydrogel”, dan lain sebagainya.



Gambar 1. Grafik jumlah artikel penelitian yang digunakan berdasarkan tahun

Hidrogel

Hidrogel merupakan jaringan polimer yang mengembang secara ekstensif dengan air. Nama lain dari gel hidrofilik disebut hidrogel, jaringan yang terdiri dari rantai polimer, yang di mana air adalah yang didispersikan [10]. Para peneliti mendefinisikan tentang hidrogel yang paling umum adalah jaringan polimer air yang mengembang dan saling terkait oleh reaksi sederhana dari satu atau lebih monomer [11]. Dalam kriteria hidrogel terbagi berbagai macam klasifikasi yaitu

- 1) klasifikasi berdasarkan polimer,
- 2) klasifikasi berdasarkan jenis cross-linker,

- 3) klasifikasi berdasarkan penampilan fisik,
- 4) klasifikasi berdasarkan muatan listrik,
- 5) klasifikasi berdasarkan konfigurasi,
- 6) klasifikasi berdasarkan alami dan sintesis [12-15].

Dalam pengaplikasianya hidrogel sering digunakan dalam medis salah satunya, menurut Yang dkk dalam penelitiannya berguna sebagai penyembuhan luka, dapat diamati hidrogel yang terkandung dari PVA / kitosan / gliserol hidrogel dibuat dengan iradiasi diikuti dengan freeze-thawing, aplikasi hidrogel berhasil digunakan sebagai bahan pembalut dalam perawatan medis untuk luka bakar dan luka karena lingkungan yang basah dapat meningkatkan penyembuhan luka proses [5,16].

Aplikasi lainnya hidrogel juga dapat digunakan sebagai pembalut luka, menurut Roy dkk dalam studi stabilitas hydrogel sebagai obat baru untuk pembalut luka bahwa hydrogel dengan basis PVP-CMC dan PVP-CMC-As. borat sudah ada terbukti bermanfaat dan efektif dari segi perawatan kesehatan dilihat dan sangat menjanjikan, ramah pengguna, dan aman untuk digunakan sebagai bahan pembalut luka [6, 17]. Aplikasi hidrogel dapat digunakan juga untuk sistem pengantaran obat ke mata [18], modifikasi dilakukan dengan polimer poli (laktida – co – gycolide) (PLGA) yang dibentuk secara nanopartikel [18], karena ukuran partikel akan berpengaruh terhadap jumlah yang diserap, laju pelepasan obat, biokompatibilitas, dan kemampuan partikel untuk menembus jaringan [18,19]. Aplikasi lainnya juga hidrogel digunakan untuk penghantaran obat target ke usus besar [20], kombinasi antara polimer kitosan [20, 21] dan poli asam akrilat (PAA) [20, 22] dalam sistem penghantaran obat yang ditargetkan pada usus besar telah menarik minat yang cukup besar karena sinergi antara polimer ini dapat menawarkan solusi baru untuk perawatan yang ditargetkan pada usus besar [20,23]. Pada aplikasi hidrogel yang dibuat dalam bentuk film bukal yang digunakan sebagai antibiotik untuk penyakit infeksi [24], hal ini menjadi modifikasi baru dalam sediaan hidrogel yang lebih efektif digunakan untuk infeksi lokal pada mulut [24]. Antibiotik yang digunakan doksisisiklin dalam bentuk film bukal yang memiliki aktivitas farmakologgi baik untuk efek lokal [24, 25] seperti dalam kondisi stomatitis [26], mucositis oral [27], dan periodontitis [28].

Stabilitas Hidrogel

Stabilitas produk farmasi adalah suatu tahapan yang bertujuan untuk menjaga kapasitas suatu bahan obat atau produk obat untuk tetap berada dalam spesifikasi yang ditetapkan yaitu berupa identitas dari produk, kekuatan, kualitas, dan kemurniannya selama periode pengujian [3]. Studi stabilitas merupakan salah satu langkah terpenting dalam perkembangan proses obat karena dapat menjamin identitas, potensi, dan kemurnian bahan serta produk yang diformulasikan sampai mengetahui umur simpan suatu produk [3]. Stabilitas produk farmasi tergantung faktor lingkungan seperti cahaya, suhu, dan kelembaban. Uji stabilitas terbagi menjadi 2 yaitu ada dipercepat (suhu dan kelembaban ekstrim) dan jangka panjang (sesuai kondisi produk) [1, 29].

Dalam proses pengujian stabilitas ada yang disebut stabilitas dipaksa atau nama lainnya adalah stress stabilitas [1, 2]. Uji stress stabilitas pada bahan obat dapat membantu mengidentifikasi kemungkinan produk degradasi [1, 30], sehingga dapat membantu mengetahui jalur degradasi [1, 30]. Metode stabilitas stress dilakukan dengan cara meningkat suhu 10°C (misalnya, 50°C, 60°C, dll), kelembapan (misalnya, 75% RH atau lebih tinggi) di mana dapat terjadi oksidasi, dan fotolisis pada bahan obat [1, 30]. Pengujian juga harus mengevaluasi kerentanan zat obat terhadap hidrolisis [1,30]. Pengujian fotostabilitas harus sesuai dengan pedoman ICH Q1B [30]. Pemeriksa produk degradasi dalam kondisi stress berguna dalam penetapan jalur degradasi dan mengembangkan serta memvalidasi prosedur analitis yang sesuai [1]. Parameter uji yang digunakan dalam uji stabilitas yaitu secara fisika (penampilan, organoleptis), kimia (pH), mikrobiologi, terapeutik, toksikologi [1,7]. Tujuan studi stabilitas adalah untuk menetapkan produk obat umur simpan dan petunjuk penyimpanan pada label yang berlaku untuk semua batch produk obat yang diproduksi dan dikemas dalam keadaan serupa [1].

Pengujian stabilitas pada sediaan hidrogel sangat perlu dilakukan karena adanya risiko ketidakstabilan mungkin timbul dalam formulasi hidrogel yang banyak mengandung air [31]. Namun, sejauh ini telah dilakukan beberapa penelitian yang hanya fokus pada evaluasi formulasi hidrogel dalam penghantaran obat secara transdermal [31, 35]. Dalam stabilitas hidrogel juga perlu mengetahui jalur degradasi sediaan hidrogel, struktur molekul obat yang beragam dapat memungkinkan terjadinya jalur degradasi seperti hidrolisis, oksidasi, fotodegradasi, isomerisasi, polimerisasi dan eliminasi [32]. Sediaan hidrogel yang mengandung banyak air terdegradasi mengikuti mekanisme kinetika seperti sediaan larutan yang banyak mengandung air [32]. Degradasi sediaan hidrogel umumnya melalui jalur secara kimiawi [33]. Penelitian yang dilakukan Kim dkk, bahwa jalur degradasi melalui kimia bisa terjadi karena dalam studi ini penggunaan bahan tambahan yang mengandung asam arylborinic sangat rentan terjadi oksidasi oleh O₂ [34]. Dalam suhu tinggi hidrogel yang mengandung asam metacrilamidophenilboronic (MPBA) dapat terjadi oksidasi sedangkan hidrogel yang mengandung acrylamide (AAm) dapat terjadi degradasi secara hidrolisis [33].

Stabilitas hidrogel nanopartikel yang dilakukan lebih terhadap stabilitas fisika (organoleptic dan viskositas) dan kimia (kandungan obat) [36], karena nanopartikel sesuai dengan tujuan penggunaan meningkatkan bioavailabilitas dan kelarutan obat sehingga perlu dilakukan pengujian tersebut [36]. Sedangkan hidrogel yang berbasis polisakarida, perlu dilakukan uji stabilitas mikrobiologi [37], sebab sifat polisakarida yang sifatnya alami dan risikan terjadi pertumbuhan bakteri sehingga hal tersebut yang perlu dilakukan selain uji secara fisika dan kimia [37].

Sediaan hidrogel dipertimbangkan untuk digunakan pada alat kesehatan, hal ini perlu diketahui daya tahannya untuk penggunaan yang aman. Daya tahannya sangat tergantung pada kondisi lingkungan seperti perubahan secara fisika, kimia dan mikrobiologi di mana material tersebut disimpan [7]. Pengujian stabilitas dapat diukur melalui instrumen DSC untuk melihat geseran titik leleh, dari instrument tersebut dapat digunakan untuk salah satu parameter uji stabilitas untuk sediaan hidrogel [9].

Studi penelitian dari patlolla dkk, menunjukkan bahwa pengujian stabilitas juga dapat digunakan dengan parameter FTIR untuk melihat gugus fungsi yang hilang selama preparasi. Materi ini akan dijelaskan lebih rinci di bab selanjutnya.

Pengujian Stabilitas Hidrogel

Dalam beberapa tahun terakhir pengujian stabilitas dilakukan dalam periode waktu dan kondisi yang bervariasi seperti hanya stabilitas di percepat [9, 31, 36], jangka Panjang [37] dan kombinasi dipercepat dan jangka panjang [36]. Namun pengujian tetap dilakukan tiga parameter yaitu fisika [8, 9], kimia [31, 38], mikrobiologi [39].

Pengujian Stabilitas Hidrogel terhadap Fisik

Pengujian stabilitas produk obat dengan parameter fisik adalah hal utama yang dilihat dalam stabilitas obat. Dalam penelitian Roy (2011) dalam pengujian stabilitas dengan berbagai macam suhu yaitu $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, dan 40°C masing – masing selama 3 bulan. Hasil menunjukkan bahwa hidrogel yang mengandung PVP-CMC-asam borat menjadi benar-benar kering dan rapuh, serta asam borat keluar karena akibat dari pengaruh suhu. Proses pengeringan hidrogel menjadi lebih cepat pada suhu yang lebih tinggi, dan selama pengeringan air yang menguap dari hidrogel dalam waktu tertentu, BA terlarut mencapai kejemuhan dan mengkristal kembali sehingga nampak bintik putih [40]. Telah diamati bahwa, di kasus hidrogel PVP-CMC, sampai percobaan berakhir tidak ada perubahan warna yang signifikan, tetapi dalam kasus PVP-CMC-asam borat, pada 40°C , dari 90 hari dan seterusnya bintik putih asam borat muncul dan menyebar seperti jaringan di seluruh hidrogel. Ini muncul karena, pada suhu yang lebih tinggi, hidrogel mulai kehilangan air dan asam borat mulai terlihat jenuh.

Adapun dari Pereira dkk melakukan studi perkembangan obat baru film hidrogel dengan basis alginate untuk penyembuh luka. Mereka menguji secara termodinamika menggunakan instrumen DSC, analisis DSC dilakukan tidak hanya mengetahui titik leleh suatu produk namun juga bisa mengetahui geseran titik transisi titik leleh suatu zat [41]. DSC memiliki keunggulan dibandingkan melting point apparatus karena DSC dapat mengukur sifat termoplastik yang penting termasuk titik leleh, kalor peleburan, karakterisasi kristalin. Stabilitas termal perlu juga digunakan instrumen TGA guna untuk mengkonfirmasi hasil dari DSC tersebut [9,42]. Analisis gravimetri termogravimetri (TGA) adalah jenis pengujian yang dilakukan pada sampel untuk menentukan perubahan bobot dalam kaitannya dengan perubahan suhu [42]. TGA umumnya digunakan pengujian untuk menentukan karakteristik bahan seperti polimer, untuk menentukan suhu degradasi, penyerapan kadar air dalam bahan, tingkat komponen organik dan anorganik dalam bahan, dan pelarut residu [42].

Pengujian evaluasi stabilitas dilakukan oleh Djekic dkk (2018) dengan uji stabilitas dipercepat selama 1 bulan dan jangka Panjang selama 3 bulan. Untuk uji dipercepat, sampel hidrogel dilakukan dalam suhu yang berbeda yaitu kondisi ambien (24 jam pada $20 \pm 3^\circ\text{C}$), dalam lemari es (24 jam pada $5 \pm 3^\circ\text{C}$) dan dalam termostat (24 jam pada suhu $40 \pm 1^\circ\text{C}$), lebih dari 10 siklus selama 1 bulan, evaluasi yang dilakukan berupa pemeriksaan organoleptic pemeriksaan (warna, bau, homogenitas, dan konsistensi) [31]. Berbeda dengan uji stabilitas jangka panjang dalam kondisi ambien pada $20 \pm 5^\circ\text{C}$ selama 3 bulan. Pengukuran dilakukan secara berkala, setelah 1 bulan, 2 bulan, dan 3 bulan bulan, sampel dikarakterisasi dengan menerapkan hal yang sama metode yang digunakan dalam uji dipercepat. Selain itu, untuk penguatan status obat di hidrogel setelah 1 bulan penyimpanan dalam uji percepatan dan uji jangka panjang, itu menggunakan uji sentrifugasi, mikroskop cahaya, dan differential scanning calorimetry [31].

Pengujian Stabilitas Hidrogel terhadap Kimia

Stabilitas produk juga perlu dilakukan secara kimia seperti pada penelitian Qindeela dkk (2019) yang berjudul pengembangan obat baru hidrogel yang mengandung pH sensitif untuk pengantaran obat transdermal. Mereka melakukan studi stabilitas hidrogel sesuai dengan pedoman menurut pedoman ICH [1], Studi stabilitas dipercepat dilakukan di suhu $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ dan kelembaban relatif $75\% \pm 5\%$ untuk selama 6 bulan (0, 1, 3, dan 6 bulan), hidrogel yang di evaluasi bukan hanya fisik namun kimia seperti pH dan kandungan obat juga diukur. Pengukuran pH hidrogel sebaiknya bersifat asam kuat, karena pH dari kulit normal berada dalam kisaran asam 4 – 6 kebanyakan 5,5, sehingga formulasi yang memiliki pH dalam kisaran ini dianggap ideal untuk digunakan disampaikan melalui kulit [43]. Kandungan obat adalah hal utama yang dilakukan untuk proses stabilitas, karena akan berhubungan terhadap efek terapi yang dimiliki oleh suatu sediaan obat terutama hidrogel [44].

Sebelum pengujian stabilitas hidrogel penting juga dilakukan karakterisasi secara kimia seperti fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), instrumen tersebut berfungsi untuk menafsirkan hasil berupa gugus fungsi [45]. Dalam aplikasinya karakterisasi kimia menggunakan FTIR yang dilakukan oleh Pereira dkk sangat penting untuk mengenali kelompok kimia yang ada di dalamnya struktur kimia, serta untuk menyelidiki kemungkinan terbentuknya interaksi kimia antar senyawa atau ada hilangnya gugus fungsi suatu sediaan [9].

Pengujian Stabilitas Hidrogel terhadap Mikrobial

Produk obat khususnya sediaan farmasi akan lebih berkualitas jika melakukan pengujian mikrobiologi [1], apalagi produk steril [37]. Dalam uji stabilitas mikrobiologi aplikasinya dilakukan oleh Fleck dkk dengan menggunakan analisis mikrobiologi dengan metode total viable count (bakteri dan jamur) dan menentukan patogen spesifik (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*). Kriteria penerimaan mengikuti spesifikasi U.S. Pharmacopoeia [46], direkomendasikan untuk produk farmasi tidak steril.

Peningkatan Stabilitas Hidrogel

Upaya dalam melakukan peningkatan stabilitas sediaan hidrogel dapat dilakukan beberapa modifikasi dengan cara penambahan polimer. Dalam aplikasinya untuk meningkatkan stabilitas fisik hidrogel dapat ditambahkan biopolimer sebagai crosslinker yaitu gelatin metakrilat (GelMA) dan poli (laktat-etilen oksida fumarat) (PLEOF) [47]. Hasil menunjukkan hidrogel yang mengandung GelMA dan PLEOF dapat meningkatkan stabilitas secara fisika dengan tingkat degradasi yang menurun dilihat dari penelitian sebelumnya dengan bukti kehilangan massa kumulatif hampir $41,2 \pm 2,0\%$ berat setelah 14 hari inkubasi [47].

Aplikasi lainnya juga untuk meningkatkan stabilitas hidrogel dengan cara penambahan polimer, pembawa nanostruktur lemak (NSL) dipengaruhi stabilitas yang buruk, sehingga ditambahkan alginate yang dapat meningkatkan stabilitas [48]. Pengukuran secara instrumentasi FTIR, TEM, DLS, dan XRD tidak ada pengaruh besar pada morfologi dan struktur [48]. Sedangkan pada evaluasi stabilitas fisika dengan pengukuran ukuran partikel dengan 3 perbandingan NSL dispersi, sol-NSL-alginat dan hidrogel NSL – alginate [48], hasil menunjukkan bahwa ukuran partikel hidrogel NSL-alginate hanya 100 nm sehingga dapat membatasi gerakan brown dan mencegah agregasi [49].

Meningkatkan stabilitas hidrogel dapsomisin juga dapat dengan penambahan thermosensitive biodegradable [50]. Dapat dilihat dari parameter instrument H-NMR yang dilanjut dengan HPLC – MS bahwa hidrogel yang mengandung termosensitif vinil sulfon dan asam hyaluronat dapat mempertahankan stabilitas [50]. Perbandingan dilakukan dengan dapsomisin murni dengan dapsomisin mengandung vinil sulfon/asam hyaluronat menyatakan hasil dapsomisin murni terdegradasi lebih cepat ketimbang dengan dapsomisin yang mengandung vinil sulfon/asam hyaluronat [50].

Teknik lainnya yang dapat meningkatkan stabilitas dari hidrogel dengan cara imobilisasi nanopartikel hidrogel menggunakan polimer karboksimetil kitosan (CMCS) [51, 52], kitosan dan turunan dapat membentuk hidrogel nanopartikel [53, 54] dan salah satu matriks yang sesuai untuk enzim imobilisasi sebab kitosan memiliki luas permukaan yang tinggi untuk memuat enzim, nontoksik dan biokampaktibilitas [55]. Zat aktif yang digunakan enzim N-acetyl-glucosaminidase (DspB) sebagai antibiofilm [56], namun memiliki stabilitas yang rendah [49]. Hasil menunjukkan stabilitas termal pada enzim DspB-nanopartikel (imobilisasi) menunjukkan lebih stabil ketimbang enzim DspB yang mobilisasi [51], stabilitas untuk enzim DspB-nanopartikel mungkin karena beberapa molekul enzim telah masukkan ke dalam inti dari nanopartikel dapat melindungi molekul enzim. Sedangkan pada stabilitas penyimpanan pada suhu 37°C selama 7 jam enzim yang termobilisasi kehilangan hamper seluruh aktivitasnya [51], berbeda dengan enzim terimobilisasi dalam nanopartikel enzim tersebut dapat mempertahankan aktivitasnya hingga 33,4% [51]. Peningkatan stabilitas ini enzim terimobilisasi ini karena adanya beberapa interaksi seperti terbentuknya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektristik antara enzim DspB dengan nanopartikel [51, 57].

Metode lainnya yang dapat meningkatkan stabilitas dengan cara hidrogel dengan sistem pengantaran obat dalam bentuk nanospoms [58], bukan hanya stabilitas namun berguna memperbaiki bioavailabilitas dan sifat farmakokinetik dari zat aktif [59]. Dalam penelitian ini zat aktif digunakan lulikonazol, karena dianggap BCS kelas II [60], dengan polimer nanospoms adalah etil selulosa dan polivinil alcohol [61], serta pembuatan nanospoms dengan teknis emulsion solvent diffusion [62]. Hasil stabilitas menunjukkan difusi in vitro yang disimpan pada suhu 25 + 2°C dan RH 60 + 5% selama 3 bulan menyatakan bahwa memiliki pelepasan yang baik dan tidak mengalami perubahan degradasi apapun [58]. Dapat di simpulkan bahwa hidrogel luliconazole yang mengandung nanospoms stabil secara fisik maupun mekanisme pelepasan obat [58].

Adapun cara lainnya meningkatkan stabilitas dengan cara membuat hidrogel gelatin dimodifikasi hidrofobik sebagai pembawa obat yang bermuatan hidrofilik dan obat hidrofobik [63]. Meningkatnya interaksi hidrofobik yang terjadi akan membentuk ikatan silang secara fisik sehingga akan membuat peningkatan stabilitas dari hidrogel [63], dengan metode yang dilakukan membuat hidrogel modifikasi hidrofobik gelatin (MHG) yaitu dengan freeze-drying [64]. Kemudian di uji stabilitas suhu panas [63]. Hasil menunjukkan bahwa hidrogel yang tidak di modifikasi meleleh pada suhu 30°C [52], berbeda dengan hidrogel yang dimodifikasi hidrofobik gelatin tidak mencair sampai suhu 80°C [63]. Sehingga dapat disimpulkan hidrogel dimodifikasi hidrofobik gelatin meningkat stabilitas termalnya [63]. Selain itu hidrogel MHG juga potensi sebagai pembawa obat hidrofilik yang bermuatan dan obat yang bersifat hidrofobik [63]. Hasil dapat dibuktikan dengan model hidrofobik (natrium fluorescein) [65] dan angiogenesis sebagai model hidrofilik bermuatan [66], bahwa hidrogel MHG terabsorpsi pada model hidrofobik karena interaksi hidrofobik dengan natrium fluorescein tinggi [63], sedangkan pada model hidrofilik hidrogel MHG menghambat sel dari angiogenesis sebagai sel kanker [66], hal ini di sebabkan, karena gelatin dapat diikat silang dengan transglutaminase melalui transfer akril reaksi antara gugus ε-amino dari residu lisin dan kelompok γ-karboksyamid dari residu glutamin [67].

Metode encapsulasi juga salah satu yang dapat meningkatkan stabilitas dari hidrogel [68]. Quercetin senyawa yang banyak kegunaannya seperti antioksidan, antikanker, antiinflamasi dan lain – lain [69]. Namun dengan keunggulan khasiat, quercetin memiliki kelarutan yang rendah [70] dan bioavailibilitas rendah [71]. Encapsulasi didukung dengan bahan whey protein isolate (WPI) [72] dan amilopektin akar teratai [73, 74], sebab WPI telah dilaporkan memiliki kemampuan dalam sistem pengantaran obat dan keunggulannya seperti non-toksitas, biodegradabilitas, pelepasan terkontrol, dan meningkatkan stabilitas dan bioavailibilitas [75 – 78]. Sedangkan amilopektin akar teratai (LRA) menurut penelitian sebelumnya [74], LRA menunjukkan kemampuan yang baik untuk meningkatkan pembentukan gel dari WPI. Hasil uji stabilitas penyimpanan menunjukkan, quercetin yang tidak diencapsulasi mengalami penurunan drastis pada kandungannya yaitu hanya 12 % selama penyimpanan 35 hari [68], namun quercetin yang dienkapsulasi memiliki stabilitas penyimpanan lebih tinggi dengan nilai kandungan quercetin selama 35 hari berada 80 % [68]. Uji stabilitas photokimia juga menunjukkan bahwa quercetin tanpa encapsulasi mengalami degradasi 90% selama 180 menit sinar UV di pancarkan [79], hal tersebut karena, degradasi cepat quercetin dapat dikaitkan

dengan dekarboksilasi oksidatif pada cincin C [79], sedangkan hasil yang berbeda pada quercetin yang di encapsulasi menunjukkan tidak ada quercetin terdegradasi selama 180 menit pancaran sinar UV [68, 80], hal tersebut karena pengikatan ligan antara quercetin dan protein yang membentuk kompleks sehingga melindungi dari quercetin tersebut [81].

Perubahan bentuk nanopartikel hidrogel adalah salah satu metode yg dapat meningkatkan stabilitas fisik [82]. Terbukti ekstrak capsicum (capcaisinoid) sebagai zat aktif yang memiliki sebagai obat nyeri [83] dan dibantu ekstrak Benincasa hispida (lilin labu) sebagai sistem pengiriman obat transdermal [84] serta dibantu dengan asam hialuronat sebagai agen penstabil dari nanopartikel. Penambahan ekstrak labu lilin pada capcaisinoid menurunkan toksitas dari capcaisinoid tersebut [82, 84, 85]. Hasil stabilitas pada modifikasi ini menunjukkan secara fisik yang dilakukan selama 2 bulan pada suhu 4°C, 30°C, dan 45°C terbukti stabilitas fisik meningkat [82], karena asam hialuronat yang ada terabsorpsi pada permukaan nanopartikel dapat membantu mencegah nanopartikel terjadi aglomerasi dan sedimentasi [86].

Kesimpulan

Stabilitas hidrogel dilakukan dengan parameter pengujian seperti secara fisika (organoleptis dan titik leleh), kimia (pH, kandungan obat), dan mikrobiologi. Pengujian stabilitas disarankan tetap melakukan karakterisasi seperti instrumen FTIR. Jalur degradasi dalam pengujian stabilitas juga sering secara kimia dan untuk meningkatkan stabilitas dari sediaan hidrogel dapat menambahkan polimer – polimer baik secara alami maupun sintetik serta modifikasi sediaan hidrogel sebagai sistem penghantaran obat.

Daftar Pustaka

1. ICH Guidelines. Stability testing of new drug substances and products. Q1A (R2). FDA, US Federal Register. 2003; 68(225).
2. ASEAN Guidelines. Asean Guidelines on Stability Study and Shelf-Life of Health Supplements. Yogyakarta, Indonesian. 2013: 1 – 20.
3. Narayan, S., & Manupriya, C. A Review on Stability Studies of Pharmaceutical Products. International Journal of Applied Pharmaceutical and Biological Research, 2017; 2(3); 67-75.
4. Maqbool, A., Mishra, M. K., Pathak, S., Kesharwani, A., Kesharwani, A. Semi Solid Dosage Forms Manufacturing: Tools, Critical Process Parameters, Strategies, Optimization and Recent Advances. Indo American Journal of Pharmaceutical Research. 2017. Vol 7 (11). 882 – 893.
5. Yang, X.; Yang, K.; Wu, S.; Chen, X. Cytotoxicity and wound healing properties of PVA/ws-chitosan/glycerol hydrogels made by irradiation followed by freeze–thawing Radiat. Phys. Chem. 2010; 79: 606
6. Roy N., Saha N., Saha P. Stability Study of Novel Medicated Hydrogel Wound Dressings. International Journal of Polymeric Materials, 2011; 62; 150–156.

7. Kommanaboyina B, Rhodes C.T. Trends in stability testing, with Emphasis on Stability during Distribution and Storage, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 25, 1999, 857-867.
8. Roy, N.; Saha, N.; Kitano, T.; Saha, P. Development and Characterization of Novel Medicated Hydrogels for Wound Dressing. *Softe Materials.* 2010, 8(2), 130
9. Pereira, R., Carvalho, A., Vaz. D. C., Gil, M. H., Mendes, A., Bartolo, P. Development of Novel Alginate Based Hydrogel Films for Wound Healing applications. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2013: 221 – 230.
10. Ahmed Enas M, Aggor Fatma S, Awad Ahmed M, El-Aref Ahmed T. An innovative method for preparation of nanometal hydroxide superabsorbent hydrogel. *Carbohydr Polym* 2013; 91:693–8.
11. Buchholz F.L, Graham A.T. Modern superabsorbent polymer technology. New York: Wiley- VCH; 1998 [chapters 1–7].
12. Wen Zhao, Xing Jin, Yang Cong, Yuying Liu, Jun Fu. Degradable natural polymer hydrogels for articular cartilage tissue engineering. *J Chem Technol Biotechnol* 2013; 88 (3):327–39.
13. Takashi L, Hatsumi T, Makoto M, Takashi I, Takehiko G, Shuji S. Synthesis of porous poly(N-isopropylacrylamide) gel beads by sedimentation polymerization and their morphology. *J Appl Polym Sci* 2007;104(2):842.
14. Hacker MC, Mikos AG. Synthetic polymers, principles of regenerative medicine. 2nd ed.; 2011. p. 587–622.
15. Maolin Z, Jun L, Min Y, Hongfei H. The swelling behaviour of radiation prepared semi-interpenetrating polymer networks composed of polyNIPAAm and hydrophilic polymers. *Radiat Phys Chem* 2000; 58: 397–400.
16. Rebers, L., Reichsöllner, R., Regett, S., Tovar, G.E.M., Borchers, K., Baudis, S., Southan, A. Differentiation of physical and chemical cross linking in gelatin methacryloyl hydrogels. *Scientific Reports.* 2021: 11; 3256.
17. Huang, S., Chen, H.J., Deng, Y.P., You, X.Y., Fang, Q.H., Lin, M. Preparation of novel stable microbicidal hydrogel films as potential wound dressing. *Polymer Degradation and Stability.* 2020: 181; 1 – 10.
18. Hsu, X.L., Wu, L.C., Hsieh, J.Y., Huang, Y.Y. Nanoparticle-Hydrogel Composite Drug Delivery System for Potential Ocular Applications. *Polymers.* 2021: 13; 1 – 19.
19. Seah, I., Zhao, X., Lin, Q., Liu, Z., Su, S.Z.Z., Yuen, Y.S., Hunziker, W., Lingam, G., Loh, X.J., Su, X. Use of Biomaterials for Sustained Delivery of anti-VEGF to Treat Retinal Diseases. *Eye.* 2020: 34; 1341–1356.
20. Hoang, H.T., Jo, S.H., Phan, Q.T., Park, H., Park, S.H., Oh, C.W., Lim. K.T. Dual pH-/Thermo-Responsive Chitosan-Based Hydrogels Prepared Using "click" Chemistry for Colon-Targeted Drug Delivery Applications. *Carbohydrate Polymers.* 2021: 260; 1 – 13.
21. Song, Q., Jia, J., Niu, X., Zheng, C., Zhao, H., Sun, L., Zhang, Y. An Oral Drug Delivery System with Programmed Drug Release and Imaging Properties for Orthotopic Colon Cancer Therapy. *Nanoscale.* 2019: 11; 15958 – 15970.
22. Zhang, J., Liang, X., Zhang, Y., & Shang, Q. Fabrication and Evaluation of A Novel Polymeric Hydrogel of Carboxymethyl Chitosan-G-Polyacrylic Acid (CMC-G-PAA) for Oral Insulin Delivery. *RSC Advances.* 2016: 6; 52858 – 52867.
23. Pell'a, M. C. G., Lima-Ten'orio, M. K., Ten'orio-Neto, E. T., Guilherme, M. R., Muniz, E. C., Rubira, A. F. Chitosan-based hydrogels: From Preparation to Biomedical Applications. *Carbohydrate Polymers.* 2018: 196; 233 – 245.

24. Patlolla, V.G.R., Popovic, N., Holbrook, W.P., Kristmundsdottir, T., Gizurarson, S. Effect of Doxycycline Microencapsulation on Buccal Films: Stability, Mucoadhesion and In Vitro Drug Release. *Gels.* 2021; 7; 1 – 14.
25. Skúlason, S.; Ingólfsson, E.; Kristmundsdóttir, T. Development of A Simple HPLC Method for Separation of Doxycycline and Its Degradation Products. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2003; 33; 667 – 672.
26. Häyrinen-Immonen, R.; Sorsa, T.; Nordström, D.; Malmström, M.; Konttinen, Y.T. Collagenase and Stromelysin In Recurrent Aphthous Ulcers (RAU). *Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.* 1993; 22; 46 – 49.
27. Al-Azri, A.R.; Gibson, R.J.; Bowen, J.M.; Stringer, A.M.; Keefe, D.M.; Logan, R.M. Involvement of Matrix Metalloproteinases (MMP-3 and MMP-9) In the Pathogenesis of Irinotecan-Induced Oral Mucositis. *J. Oral Pathol. Med.* 2014; 44; 459 – 467. (86)
28. Sorsa, T.; Tjäderhane, L.; Salo, T. Matrix Metalloproteinases (Mmps) In Oral Diseases. *Oral Dis.* 2004; 10; 311 – 318.
29. Florence, A. T., & Siepmann, J. (Eds.). (2009). *Modern Pharmaceutics Volume 1: Basic Principles and Systems.* CRC Press. Page 243, 245.
30. ICH Guidelines. Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products. Q1B. FDA, U.S Federal Register. 1996; 1 – 6.
31. Djekic, L., Martinovic, M., Dobricic, V., Calija, B., Medarevic, D., Primorac, M. Comparison of the Effect of Bioadhesive Polymers on Stability and Drug Release Kinetics of Biocompatible Hydrogels for Topical Application of Ibuprofen. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2018; 1 – 8.
32. Loftsson, T. Drug Stability Pharmaceutical Scientists: Degradasi Pathways, Drug Degradasi in Semisolids Dosage Forms. Academic Press. 2014; 63 – 107.
33. Kim, A., Lee, H., Jones, C. F., Mujumdar, S. K., Gu, Y., Siegel, R. A. Swelling, Mechanics, and Thermal/Chemical Stability of Hydrogels Containing Phenylboronic Acid Side Chains. *Gels.* 2018; 4: 1 – 14.
34. Hall, D.G. Structure, properties, and preparation of boronic acid derivatives. In Boronic Acids: Preparation and Applications in Organic Synthesis, Medicine and Materials (Volume 1 and 2), 2nd ed.; Hall, D.G., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2011.
35. Parhi, R. Development and Optimization of Pluronic® F127 and HPMC Based Thermosensitive Gel for the Skin Delivery of Metoprolol Succinate. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2016; 36; 23 – 33.
36. Qindeela, M., Ahmeda, N., Sabira, F., Khanb, S., Ur-Rehmana, A. Development of Novel pH-Sensitive Nanoparticles Loaded Hydrogel for Transdermal Drug Delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy.* 2019; 1 – 13.
37. Soler, D.M., Guez, Y.R., Correa, H., Moreno, A., Carrizales, L. Pilot Scale-Up and Shelf Stability of Hydrogel Wound Dressings Obtained by Gamma Radiation. *Radiation Physics and Chemistry.* 2012; 81; 1249 – 1253.
38. Patlolla V. G. R., Holbrook, W. P., Gizurarson, S., Kristmundsdottir T. Doxycycline and Monocaprin In Situ Hydrogel: Effect on Stability, Mucoadhesion and Texture Analysis and In Vitro Release. *MDPI Journal.* 2019. Vol, 5 (47), 1 – 13.
39. Fleck, A., Cabral, P.F.G., Vieira, F.F.M., Pinheiro, D.A., Pereira, C.R., Santos, W.C., Machado, T.B. Punica granatum L. Hydrogel for Wound Care Treatment: From Case Study to Phytomedicine Standardization. *Molecules.* 2016; 21: 1 – 13.

40. Pal, K., Banthia, A. K., Majumdar, D. K. Pal, K.; Banthia, A. K.; Majumdar, D. K. Biomedical evaluation of polyvinyl alcohol–gelatine esterified hydrogel for wound dressing. *J. Mater. Sci: Mater. Med.* 2007, 18, 1889.
41. Gill, P., Moghadam, T.T., Ranjbar, B. Differential Scanning Calorimetry Techniques: Applications in Biology and Nanoscience. *J Biomol Tech.* 2010. Vol, 21(4): 167–193.
42. Kittel, C. 2000. Introduction to Solid State Physics. John Wiley & Sons, Inc. New York.
43. Chen H, Chang X, Du D, Li J, Xu H. Yang X. Microemulsion-based Hydrogel Formulation of Ibuprofen for Topical Delivery. *Int J Pharm.* 2006; 315: 52–58.
44. Budhian A, Siegel SJ, Winey KI. Haloperidol-Loaded PLGA Nanoparticles: Systematic Study of Particle Size and Drug Content. *Int J Pharm.* 2007: 367–375.
45. Rohman, A., Ghazali, M.A.B., Windarsih, A., Irnawati, Riyanto, S., Yusof, F.M., Mustafa, S. Comprehensive Review on Application of FTIR Spectroscopy Coupled with Chemometrics for Authentication Analysis of Fats and Oils in the Food Products. *Molecules.* 2020; 25; 1 – 28.
46. U.S. Pharmacopeia Convention; United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 30-NF 25): Rockville, MD, USA, 2007; Vol. 2, pp. 42–51.
47. Fathi, A., Lee, S., Breen, A., Shirazi, A.N., Valtchev, P., Dehghani, F. Enhancing the Mechanical Properties and Physical Stability of Biomimetic Polymer Hydrogels for Micro-Patterning and Tissue Engineering Applications. *European Polymer Journal.* 2014: 161 – 170.
48. Sun, R., & Xie, Q. Nanostructured Lipid Carriers Incorporated in Alginate Hydrogel: Enhanced Stability and Modified Behavior in Gastrointestinal Tract. *Colloids and Surfaces A.* 2019: 574; 197 – 206.
49. Chauhan, N., Narang, J., Sunny Pundir, C.S. Immobilization of Lysine Oxidase On A Gold-Platinum Nanoparticles Modified Au Electrode for Detection of Lysine. *Enzyme Microb Technol.* 2013; 52: 265–271.
50. Casadidio, C., Butini, M.E., Trampuz, A., Luca, M.D., Censi, R., Martino, P.D. Daptomycin-Loaded Biodegradable Thermosensitive Hydrogels Enhance Drug Stability and Foster Bactericidal Activity Against *Staphylococcus aureus*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* 2018: 130; 260 – 271.
51. Tan, Y., Ma, S., Liu, C., Yu, W., Han, F. Enhancing the Stability and Antibiofilm Activity of DspB by Immobilization on Carboxymethyl Chitosan Nanoparticles. *Microbiological Research.* 2015: 178; 35 – 41.
52. Liu, C., Fan, W., Chen, X., Liu, C., Meng, X., Park, H.J. Self-Assembled Nanoparticles Based on Linoleic-Acid Modified Carboxymethyl-Chitosan as Carrier of Adriamycin (ADR). *Curr Appl Phys.* 2007: 7; 125 – 129.
53. Tan, Y.L., Liu, C.G. Preparation and Characterization of Self-Assembled Nanoparticles Based on Folic Acid Modified Carboxymethyl Chitosan. *J Mater Sci Mater Med.* 2011: 22; 1213–1220.
54. Jin, Y.H., Hu, H.Y., Qiao, M.X., Zhu, J., Qi, J.W., Hu, C.J. pH-Sensitive Chitosan-Derived Nanoparticles as Doxorubicin Carriers for Effective Antitumor Activity: Preparation and in Vitro Evaluation. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2012; 94:184 – 191.
55. Kuo, C.H., Liu, Y.C., Chang, C.M.J., Chen, J.H., Chang, C., Shieh, C.J. Optimum Conditions for Lipase Immobilization on Chitosan-Coated Fe₃O₄ Nanoparticles. *Carbohydr Polym.* 2012; 87: 2538–2545.

51. Tan, Y., Ma, S., Liu, C., Yu, W., Han, F. Enhancing the Stability and Antibiofilm Activity of DspB by Immobilization on Carboxymethyl Chitosan Nanoparticles. *Microbiological Research.* 2015; 178; 35 – 41.
52. Liu, C., Fan, W., Chen, X., Liu, C., Meng, X., Park, H.J. Self-Assembled Nanoparticles Based on Linoleic-Acid Modified Carboxymethyl-Chitosan as Carrier of Adriamycin (ADR). *Curr Appl Phys.* 2007; 7; 125 – 129.
53. Tan, Y.L., Liu, C.G. Preparation and Characterization of Self-Assembled Nanoparticles Based on Folic Acid Modified Carboxymethyl Chitosan. *J Mater Sci Mater Med.* 2011; 22; 1213–1220.
54. Jin, Y.H., Hu, H.Y., Qiao, M.X., Zhu, J., Qi, J.W., Hu, C.J. pH-Sensitive Chitosan-Derived Nanoparticles as Doxorubicin Carriers for Effective Antitumor Activity: Preparation and in Vitro Evaluation. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2012; 94:184 – 191.
55. Kuo, C.H., Liu, Y.C., Chang, C.M.J., Chen, J.H., Chang, C., Shieh, C.J. Optimum Conditions for Lipase Immobilization on Chitosan-Coated Fe₃O₄ Nanoparticles. *Carbohydr Polym.* 2012; 87: 2538–2545.
56. Kaplan, J.B., Jabbouri, S., Sadovskaya, I. Extracellular DNA-Dependent Biofilm Formation by *Staphylococcus epidermidis* RP62A in Response to Submini-mal Inhibitory Concentrations of Antibiotics. *Res Microbiol.* 2011; 162: 535–541. (44)
57. Ren, Y., Rivera, J.G., He, L., Kulkarni, H., Lee, D.K., Messersmith, P.B. Facile, High Efficiency Immobilization of Lipase Enzyme on Magnetic Iron Oxide Nanoparticles Via Abiomimetic Coating. *BMC Biotechnol.* 2011; 11:1 – 8.
58. Kapileshwari, G. R., Barve, A.R., Kumar, L., Bhide, P.J., Joshi, M., Shirodkar, R.K. Novel drug delivery system of luliconazole - Formulation and characterization. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020; 55; 1 – 20.
59. Patel, E., Oswal, R. Nanospunge and Microsponges: A Novel Drug Delivery System, *Int. J. Res. Pharm. Chem.* 2012; 2; 237–244.
60. Kumar, M., Shanthia, N., Mahato, A., Sonia, S., Rajnikanth, P. Preparation of Luliconazole Nanocrystals Loaded Hydrogel for Improvement of Dissolution and Antifungal Activity. *Heliyon.* 2019; 5; 1 – 10.
61. Bothiraja, C., Ghlap, A., Shaikh, K., Pawar, A. Investigation of Ethyl Cellulose Microsponge Gel for Topical Delivery of Eberconazole Nitrate for Fungal Therapy. *Ther. Deliv.* 2014; 5; 781–794.
62. Sharma, R., Pathak, K. Polymeric Nanospanges As an Alternative Carrier for Improved Retention of Econazole Nitrate onto The Skin Through Topical Hydrogel Formulation. *Pharm. Dev. Technol.* 2012; 16; 367 – 376.
63. Takei, T., Yoshihara, R., Danjo, S., Fukuhara, Y., Evans, C., Tomimatsu, R., Ohzuno, Y., Yoshida, M. Hydrophobically-Modified Gelatin Hydrogel as A Carrier for Charged Hydrophilic Drugs and Hydrophobic Drugs. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2020; 149; 140 – 147.
64. [64] Mizuno, Y., Mizuta, R., Hashizume, M., Taguchi, T. Enhanced Sealing Strength of A Hydrophobically-Modified Alaska Pollock Gelatin-Based Sealant. *Biomater.* 2017; 5; 982 –989.
65. Oba, Y., Poulson, S.R. Octanol-Water Partition Coefficients (K_{ow}) Vs. pH for Fluorescent Dye Tracers (Fluorescein, Eosin Y), and Implications for Hydrologic Tracer Tests. *Geochem. J.* 2012; 46; 517–520.

66. Hiraki, Y., Inoue, H., Iyama, K., Kamizono, A., Ochiai, M., Shukunami, C., Iijima S., Suzuki F., Kondo, J. Identification of Chondromodulin I As A Novel Endothelial Cell Growth Inhibitor. Purification and Its Localization in the Avascular Zone of Epiphyseal Cartilage. *J. Biol. Chem.* 1997; 272; 32419–32426.
67. Yung, C.W., Wu, L.Q., Tullman, J.A., Payne, G.F., Bentley, W.E., Barbari, T.A. Transglutaminase Crosslinked Gelatin as A Tissue Engineering Scaffold. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2007; 83; 1039–1046.
68. Liu, K., Zha, X.Q., Shen, W.D., Li, Q.M., Pan, L.H., Luo, J.P. The Hydrogel of Whey Protein Isolate Coated by Lotus Root Amylopectin Enhance The Stability and Bioavailability Of Quercetin. *Carbohydrate Polymers*. 2020; 236; 1 – 8.
69. Lu, N. H., Sui, Y. H., Zeng, L. Z., Tian, R., Peng, Y. Y. Generation of A Diligand Complex of Bovine Serum Albumin with Quercetin and Carbon Nanotubes for The Protection of Bioactive Quercetin and Reduction of Cytotoxicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018; 66; 8355–8362.
70. Karadag, A., Ozcelik, B., & Huang, Q. Quercetin Nanosuspensions Produced by High-Pressure Homogenization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014; 62; 18592 –18599.
71. Ghayour, N., Hosseini, S. M. H., Eskandari, M. H., Esteghlal, S., Nekoei, A. R., Gahrue, H. H. Nanoencapsulation of Quercetin and Curcumin in Casein-Based Delivery Systems. *Food Hydrocolloids*. 2019; 87; 394–403.
72. Zhu, J. X., Wang, C., Gao, J., Wu, H., Sun, Q. J. Aggregation of Fucoxanthin and Its Effects on Binding and Delivery Properties of Whey Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019; 67; 10412–10422.
73. Wang, X., Li, X., Chen, L., Xie, F., Yu, L., Li, B. Preparation and Characterization of Octenyl Succinate Starch as A Delivery Carrier for Bioactive Food Components. *Food Chemistry*. 2011; 126; 1218–1225.
74. Liu, K., Li, Q. M., Zha, X. Q., Pan, L. H., Bao, L. J., Zhang, H. L., et al. Effects of Calcium or Sodium Ions on the Properties of Whey Protein Isolate-Lotus Root Amylopectin Composite Gel. *Food Hydrocolloids*. 2019; 87; 629–636.
75. Allahdad, Z., Varidi, M., Zadmard, R., Saboury, A. A., Haertlé, T. Binding of β -carotene to Whey Proteins: Multi-Spectroscopic Techniques and Docking Studies. *Food Chemistry*. 2019; 277; 96–106.
76. Evangelou, V., Panagopoulou, E., Mandala, I. Encapsulation of EGCG and Esterified EGCG Derivatives in Double Emulsions Containing Whey Protein Isolate, Bacterial Cellulose and Salt. *Food Chemistry*. 2019; 281; 171–177.
77. Wang, H. H., Shou, Y. K., Zhu, X., Xu, Y. Y., Shi, L. H., Xiang, S. S., et al. Stability of Vitamin B12 With the Protection of Whey Proteins and Their Effects on the Gut Microbiome. *Food Chemistry*. 2019; 276; 298–306.
78. Mirpoor, S. F., Hosseini, S. M. H., Nekoei, A. R. Efficient Delivery of Quercetin After Binding to Beta-Lactoglobulin Followed by Formation Soft-Condensed Core-Shell Nanostructures. *Food Chemistry*. 2017; 233; 282–289.
79. Cuevas-Bernardino, J. C., Leyva-Gutierrez, F. M. A., Vernon-Carter, E. J., Lobato-Calleros, C., Román-Guerrero, A., Davidov-Pardo, G. Formation of Biopolymer Complexes Composed of Pea Protein and Mesquite Gum-Impact of Q Addition on Their Physical and Chemical Stability. *Food Hydrocolloids*. 2018; 77; 736–745.

80. Sun, C. X., Dai, L., & Gao, Y. X. Interaction and Formation Mechanism of Binary Complex Between Zein and Propylene Glycol Alginate. Carbohydrate Polymers. 2017; 157; 1638 –1649.
81. Sun, C. X., Dai, L., & Gao, Y. X. Binary Complex Based on Zein and Propylene Glycol Alginate for Delivery of Quercetagatin. Biomacromolecules. 2016; 17; 3973–3985.
82. Chittasupho, C., Thongnopkoon, T., Burapapisut, S., Charoensukkho, C., Shuwisitkul, D., Samee, W. Stability, Permeation, and Cytotoxicity Reduction of Capsaicinoid Nanoparticles loaded Hydrogel containing Wax Gourd Extract. Saudi Pharmaceutical Journal. 2020; 28; 1538 – 1547.
83. Fattori, V., Hohmann, M.S., Rossaneis, A.C., Pinho-Ribeiro, F.A., Verri, W.A. Capsaicin: Current Understanding of Its Mechanisms and Therapy of Pain and Other Pre-Clinical and Clinical Uses. Molecules. 2016; 21; 1 – 33.
84. Knotkova, H., Pappagallo, M., Szallasi, A. Capsaicin (TRPV1 Agonist) Therapy for Pain Relief: Farewell or Revival. Clin J Pain. 2008; 24; 142-154.
85. Ko, F., Diaz, M., Smith, P., Emerson, E., Kim, Y.J., Krizek, T.J., et al. Toxic Effects of Capsaicin on Keratinocytes and Fibroblasts. J Burn Care Rehabil. 1998; 19; 409-413.
86. Almalik, A., Benabdelkamel, H., Masood, A., Alanazi, I.O., Alradwan, I., Majrashi, M.A., et al. Hyaluronic Acid Coated Chitosan Nanoparticles Reduced the Immunogenicity of the Formed Protein Corona. Scientific Reports. 2017; 7; 10542.
87. Ching, S.H., Bansal, N., Bhandari, B., Alginate Gel Particles—A Review of Production Techniques and Physical Properties. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2017; 57; 1133–1152.

