

REVIEW ARTIKEL PENGGUNAAN POLIMER UNTUK FORMULASI NANOPARTIKEL METFORMIN

Viviane Annisa^{1*}

¹Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia

E-mail: viviane@uii.ac.id

*corresponding author

ABSTRAK

Metformin merupakan obat pilihan pertama terapi DM tipe 2 atau NIDDM (*Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus*) dan paling banyak diresepkan. Metformin memiliki sifat sangat hidrofilik dan permeabilitas yang buruk sehingga dikategorikan ke dalam *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) kelas 3. Nanoteknologi merupakan teknologi formulasi sediaan farmasi dan sistem penghantaran obat yang memiliki banyak keunggulan. Urgensi penelitian ini adalah pentingnya suatu *review* yang membahas penggunaan polimer untuk formulasi nanopartikel metformin untuk memberikan informasi dan pengetahuan sebagai acuan penelitian bagi peneliti yang ingin meneliti tentang formulasi metformin. Pada studi ini, dilakukan *review* artikel tentang formulasi nanopartikel metformin yang menggunakan polimer alami sebagai matriks. Database yang digunakan adalah Scopus dan PubMed. Tipe data dari database adalah jurnal penelitian tanpa ada pembatasan tahun. Referensi yang diperoleh dari database kemudian dilakukan identifikasi, analisis, dan dipilih sesuai dengan topik yang akan dikaji. Formulasi metformin dalam bentuk sediaan nanopartikel menggunakan polimer alami dapat memodifikasi metformin menjadi sediaan dengan pelepasan terkontrol, meningkatkan efikasi pengobatan menjadi lebih baik dan mengurangi frekuensi pemberian obat. Nanoenkapsulasi obat merupakan cara yang efektif untuk menurunkan efek samping obat yang diikuti dengan pelepasan terkontrol dan penghantaran obat pada lokasi spesifik. Polimer biasanya direkomendasikan sebagai pilihan terbaik untuk matriks obat karena sifatnya yang biodegradable dan biokompatibel. Polimer yang banyak digunakan sebagai matriks nanoenkapsulasi metformin adalah alginat dan kitosan. Nanopartikel polimerik efektif pada dosis rendah yang diikuti dengan pelepasan terkontrol sehingga menurunkan efek samping yang disebabkan oleh dosis tinggi. Enkapsulasi metformin ke dalam nanopartikel polimerik dapat memodifikasi pelepasan metformin menjadi *sustained release* dan efikasi yang lebih tinggi pada dosis rendah.

Kata kunci: Metformin; nanopartikel; polimer alami; formulasi; diabetes melitus

ABSTRACT

Metformin is the first-choice drug for type 2 DM or NIDDM (*Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus*) therapy and is the most widely prescribed. Metformin has very hydrophilic properties and poor permeability, so it is categorized into *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) class 3. Nanotechnology is a pharmaceutical formulation technology and drug delivery system that has many advantages. The urgency of this research is the importance of a *review* that discusses the use of polymers for metformin nanoparticle formulations to provide information and knowledge as a research reference for researchers who want to research metformin formulations. In this study, a *review* of articles on the formulation of metformin nanoparticles using natural polymers as a matrix was conducted. The databases used were Scopus and PubMed. The data type of the database is research journals without any year restrictions. References obtained from the database were then identified, analyzed, and selected according to the topic to be studied. Formulation of metformin in nanoparticle dosage form using natural polymers can modify metformin into preparations with controlled release, improve treatment efficacy for the better and reduce the frequency of drug administration. Drug nanoencapsulation is an effective way to reduce drug side effects followed by controlled release and drug delivery at specific locations. Polymers are usually recommended as the best choice for drug matrix due to their biodegradable and biocompatible nature. Polymers widely used as metformin nanoencapsulation matrix are alginate and chitosan. Polymeric nanoparticles are effective at low doses followed by controlled release thus

lowering the side effects caused by high doses. Encapsulation of metformin into polymeric nanoparticles can modify the release of metformin to sustained release and higher efficacy at low doses.

Keywords: Metformin; nanoparticle; natural polymer; formulation; diabetes mellitus

PENDAHULUAN

Sebanyak 98% penderita DM termasuk ke dalam kategori DM tipe 2. DM tipe 2 disebabkan oleh resistensi insulin yang menyebabkan respon sinyal melemah dari reseptor insulin terhadap insulin pada jaringan otot skeletal, hati, dan jaringan adiposa sehingga menurunkan uptake glukosa. Selain itu, DM tipe 2 juga disebabkan oleh ketidakcukupan jumlah insulin yang disekresikan. Metformin merupakan obat pilihan pertama pada pengobatan DM tipe 2. Penurunan glukosa darah oleh metformin dengan cara menurunkan produksi glukosa di hati (glukoneogenesis). Metformin memiliki risiko kecil terjadinya hipoglikemia karena metformin tidak memicu sekresi insulin. Selain itu, banyak manfaat metformin lainnya, seperti mengurangi risiko komplikasi mikrovaskular, menurunkan risiko kardiovaskular jika dibandingkan dengan terapi sulfonilurea, menurunkan berat badan, menurunkan sintesis asam lemak dan trigliserida serta mencegah komplikasi vaskular (Tan et al., 2016).

Metformin diklasifikasikan ke dalam Biopharmaceutics Classification System (BCS) kelas 3, yaitu memiliki kelarutan baik namun permeabilitas rendah. Rendahnya kemampuan permeabilitas metformin karena molekul metformin yang bersifat hidrofilik sehingga absorpsi pada membran usus kurang baik. Hal ini menyebabkan bioavailabilitas metformin dalam darah juga rendah (Cetin & Sahin, 2016).

Nanoteknologi merupakan teknologi formulasi sediaan farmasi dan sistem penghantaran obat yang memiliki banyak keunggulan, diantaranya dapat melindungi obat dari degradasi enzim, mengurangi efek samping obat, pelepasan obat terkontrol meningkatkan bioavailabilitas obat, meningkatkan kemampuan menembus ruang-ruang antar-sel, menembus dinding sel, meningkatkan kelarutan, dapat dikombinasikan dengan berbagai teknologi formulasi sesuai dengan target dan tujuannya (Ahmed & Aljaeid, 2017; Cetin & Sahin, 2016). Formulasi dalam bentuk sediaan nanopartikel dapat meningkatkan efikasi pengobatan menjadi lebih baik. Matriks nanopartikel dapat berbasis polisakarida yang merupakan polimer alami atau biopolimer. Biopolimer dideskripsikan sebagai molekul polimer yang memiliki biokompatibilitas pada sistem biologis. Polisakarida memiliki keuntungan seperti, tidak toksik, biokompatibel, biodegradabel, mukoadhesif, kelarutan baik dalam air, dan stabilitas tinggi. Gugus hidroksil, karboksil, dan amino pada polisakarida berperan penting terhadap bioadesif dan pelepasan terkontrol. Formulasi dengan polimer menghasilkan obat dengan pelepasan terkontrol, yang memiliki keuntungan, yakni dapat menurunkan frekuensi pemberian dosis, menurunkan efek samping obat, meningkatkan tingkat kepatuhan pasien, menurunkan fluktuasi, serta memperlama durasi aksi obat, dan memastikan respon farmakokinetik dan farmakodinamik dapat reproduibel dan diprediksi (Annisa, Choiri, et al., 2021).

Penelitian formulasi metformin menggunakan polimer telah dilakukan sebelumnya. Polimer yang paling banyak digunakan adalah alginat, kitosan, dan pektin (Chinnaiyan *et al.*, 2019; C. S. Kumar *et al.*, 2017; Lari *et al.*, 2021; Szekalska & Winnicka, 2017). Kajian tentang formulasi nanopartikel metformin yang menggunakan polimer alami sebagai matriks belum ada yang melakukan. Maka dari itu, pada artikel ini, penulis akan mengkaji artikel penelitian yang telah dilakukan mengenai formulasi metformin ke dalam teknologi nanopartikel menggunakan polimer alami.

METODE PENELITIAN

Metode pengumpulan artikel pada studi ini dibatasi untuk artikel penelitian. Publikasi yang digunakan dari jurnal internasional yang terakreditasi. Metode pengumpulan artikel menggunakan pencarian pada

database PubMed dan Scopus dengan kata kunci “Metformin”, “Nanoparticle”, “Polymer”. Referensi yang diperoleh dari database kemudian diidentifikasi, dianalisis dan dipilih penelitian formulasi nanopartikel yang menggunakan polimer alami.

HASIL DAN PEMBAHASAN

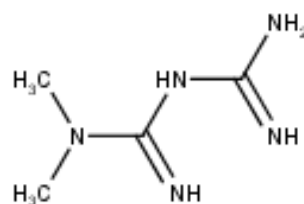
Diabetes Melitus

Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit atau gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah disertai gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein. Penyakit DM disebabkan oleh gangguan/kekurangan produksi insulin atau kurang responsifnya tubuh terhadap insulin (Kemenkes RI, 2014). Kondisi ini menyebabkan terjadinya peningkatan kadar glukosa dalam darah atau hiperglikemia. Menurut American Diabetes Association, DM diklasifikasikan menjadi 4 tipe, antara lain : DM tipe 1, tipe 2, tipe lainnya, dan tipe gestational. DM tipe 1 adalah terjadinya diabetes karena kerusakan sel β pankreas yang disebabkan oleh reaksi autoimun sehingga tidak dapat mensekresikan insulin atau defisiensi absolut insulin (Kemenkes RI, 2014). DM tipe 2 sebagian besar disebabkan oleh resistensi insulin atau kekurangan sekresi insulin sehingga terjadinya defisiensi relatif insulin. DM tipe lainnya disebabkan oleh kelainan genetik pada sel β pankreas, kelainan genetik pada aksi insulin, penyakit pankreas, endokrinopati, obat-obatan atau zat kimia, infeksi, imunologi, atau sindrom genetik lainnya (Banday et al., 2020).

DM tipe 2 merupakan kasus DM paling banyak, yakni lebih dari 90% dari keseluruhan kasus DM (Silbernagl & Lang, 2016). Patofisiologi utama DM tipe 2 berupa resistensi insulin perifer dan defisiensi insulin. Sebanyak 98% DM tipe 2 ditandai dengan kelebihan berat badan atau obesitas. Terjadinya peningkatan asam lemak bebas disebabkan oleh insulin yang tidak mampu mencegah lipolisis dan menurunkan asam lemak bebas dalam plasma. Peningkatan konsentrasi asam lemak bebas pada plasma dapat menimbulkan resistensi insulin pada otot, hati, dan adiposa, mengurangi sekresi insulin, serta menyebabkan kerusakan sel β pankreas. Resistensi juga disebabkan oleh inflamasi kronik atau aktivasi sistem imun terjadi pada jaringan adiposa, hati, otot, dan pankreas. Mediator inflamatori dapat menurunkan transport glukosa ke sel otot, peningkatan produksi glukosa hati, dan peningkatan pemecahan lemak (Banday et al., 2020). Selain itu, resistensi insulin terjadi pada pasien dengan kelainan genetik atau mutasi dari varian gen glukokinase, insulin atau elemen dari sinyal transduksi seluler (Silbernagl & Lang, 2016). Obat untuk DM tipe 2 yang dapat digunakan adalah metformin, tiazolidinedione (TZD), dan exenatide (Kemenkes RI, 2020).

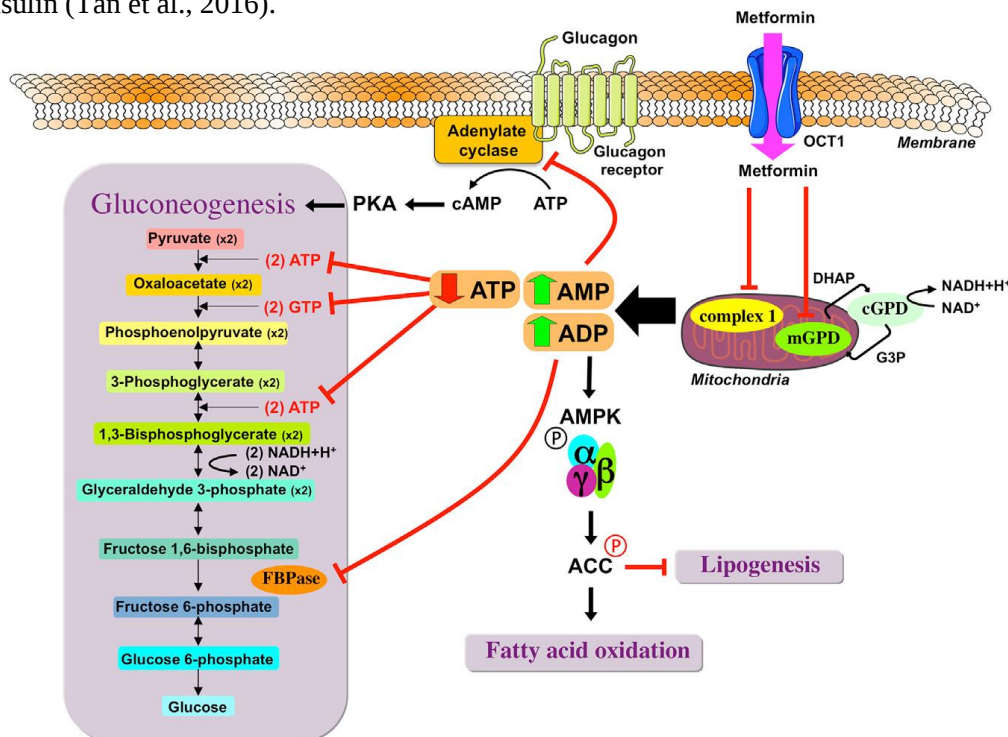
Metformin

Metformin (Gambar 1) merupakan obat Diabetes Mellitus (DM) golongan Biguanid pilihan pertama untuk terapi DM tipe 2 atau NIDDM (Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus) dan paling banyak diresepkan. Efek utama yang dihasilkan oleh metformin terhadap pasien DM 2 adalah penurunan output glukosa hati. Selain itu, metformin dapat pula meningkatkan penyimpanan glukosa di jaringan hati dan otot, menurunkan absorpsi glukosa di usus halus, dan menurunkan konsentrasi asam lemak bebas pada plasma darah (Cetin & Sahin, 2016). Metformin dapat digunakan sebagai monoterapi atau kombinasi dengan agen diabetes lainnya, seperti sulfonilurea, inhibitor alfa glukosidase, insulin, thiazolidinedion, inhibitor DPP-4 seperti agonis GLP-1 (Kemenkes RI, 2014).



Gambar 1. Struktur Kimia Metformin (N,N-Dimetilimidodikarbonimidic diamide)
(National Center for Biotechnology Information, 2024)

Mekanisme utama metformin untuk menurunkan glukosa darah adalah dengan menghambat produksi glukosa hepatic atau menghambat proses glukoneogenesis. Mekanisme molekuler metformin (Gambar 2) diawali dengan uptake metformin masuk ke inner membran mitokondria oleh OCT-1. Di dalam mitokondria, metformin menghambat kompleks I dari rantai transport elektron mitokondria yang menyebabkan produksi ATP menurun (da Trindade et al., 2018). Mekanisme metformin untuk menghambat glukosa lainnya adalah dengan cara menurunkan absorpsi glukosa di saluran cerna, meningkatkan uptake atau penyimpanan glukosa pada otot skeletal, serta meningkatkan sensitivitas reseptor insulin (Tan et al., 2016).



Gambar 2. Mekanisme Metformin (Foretz et al., 2014)

Metformin termasuk ke dalam klasifikasi BCS Kelas 3, yakni memiliki kelarutan tinggi dan permeabilitas rendah. berat molekul metformin adalah 129,2. Kelarutan pada metformin HCl dalam air adalah 300 mg/mL pada pH 1,2-6,8, sedikit larut dalam alkohol, dan tidak larut dalam aseton dan metilen klorida (Cetin & Sahin, 2016; da Trindade et al., 2018). Obat yang sangat hidrofil tidak dapat permeasi ke dalam membran biologi. Sebaliknya, obat yang sangat lipofil tidak dapat terlarut pada lingkungan gastrointestinal. Nilai Log P (oktanol/air) metformin, yakni -2,6 (da Trindade et al., 2018). Nilai Log P yang lebih dari 3 atau kurang dari 1 menunjukkan kemampuan absorpsi yang buruk (Fahmy et al., 2018). Metformin bermuatan kation lebih dari 99,9% pada pH fisiologis (Cetin & Sahin, 2016). Permeabilitas yang rendah menyebabkan bioavailabilitas di dalam tubuh juga rendah. Bioavailabilitas metformin HCl dosis 500 mg adalah 50-60% diabsorpsi predomanan dari usus kecil dan mengalami absorpsi secara sempurna selama 6 jam dicerna (Prabhakaran et al., 2017).

Metformin bersifat basa kuat dibandingkan obat basa lainnya karena memiliki pKa 11,5. Rendahnya bioavailabilitas metformin dipercaya karena kepolaran metformin yang tinggi, sebesar 99,9% metformin terionisasi pada pH fisiologis dan hanya 0,01% dalam bentuk molekul utuh atau tidak terionisasi dalam darah. Kelarutan lipid dalam bentuk tidak terionisasi sangat kecil sehingga tidak dapat dengan cepat menembus membran usus secara difusi pasif. Metformin tersedia dalam bentuk garamnya, yakni metformin HCl tetapi akan terbentuk basa bebas dalam cairan biologis (Acebedo-Martínez et al., 2023).

Pengembangan formulasi obat metformin dilakukan untuk meningkatkan bioavailabilitas, pelepasan terkontrol, menurunkan dosis, meningkatkan kepatuhan pasien, dan mengurangi efek samping. Metformin dipasarkan berupa tablet telah dimodifikasi dengan berbagai tujuan. Matriks tablet pelepasan terkontrol telah diformulasikan menggunakan polimer hidrofilik, polimer sintetik hidrofilik, dan polimer natural hidrofobik, juga dengan menggabungkan wax lipofilik dengan granulasi basah (Penkov et al., 2023; Srinivasan et al., 2023). Formulasi metformin secara nanopartikel dapat memperbaiki permeabilitas dan membuat pelepasan obat terkontrol sehingga dapat berada dalam tubuh dalam waktu lama dengan dosis yang lebih kecil (Fahmy et al., 2018).

Nanoteknologi

Keunggulan nanopartikel

Nanoteknologi dalam sediaan farmasi atau nanopartikel merupakan formulasi suatu partikel terdispersi dalam ukuran nanometer atau dibawah satu mikrometer. Karakterisasi ukuran nanopartikel dapat dilakukan secara sederhana dengan melihat dispersi yang relatif transparan serta perpanjangan lama pengendapan yang disebabkan karena resultan gaya ke bawah oleh gaya gravitasi yang berkurang. Berkurangnya lama pengendapan disebabkan karena berkurangnya massa tiap partikel dan meningkatnya luas permukaan total yang signifikan sehingga menghasilkan interaksi tolak-menolak antar partikel yang besar dan muncul fenomena gerak Brown (Haleem et al., 2023; Malik et al., 2023; Sim & Wong, 2021). Nanoteknologi dapat meningkatkan kemampuan obat menembus ruang-ruang antar-sel, menembus dinding sel, meningkatkan kelarutan, dan dapat dikombinasikan dengan berbagai teknologi formulasi sesuai dengan target dan tujuannya. Dengan demikian, sediaan dalam bentuk nanopartikel dapat meningkatkan bioavailabilitas obat dalam sirkulasi sistemik, mengontrol pelepasan obat, memperlama keberadaan obat di dalam sirkulasi sistemik, melindungi obat dari lingkungan gastrointestinal, mengurangi eliminasi pada ginjal, dan meningkatkan kapasitas loading obat (Patra et al., 2018).

Nanopartikel memiliki kemampuan untuk meningkatkan ketersediaan hayati pada obat yang memiliki kelarutan rendah, permeabilitas mukosa rendah, serta obat yang mengalami first pass effect. Baik untuk sediaan oral, intravena, maupun transdermal (Patra et al., 2018). Peningkatan ketersediaan hayati dalam sirkulasi sistemik sebanding dengan peningkatan kadar obat dalam darah yang menunjukkan adanya peningkatan efek farmakologi. Sistem penghantaran obat nanopartikel dapat membawa obat dalam jumlah yang optimal sehingga hanya memerlukan dosis yang lebih kecil (Gunasekaran et al., 2014). Nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat dapat meningkatkan kestabilan obat, menyatukan substansi aktif hidrofobik dan hidrofilik, memiliki kapasitas yang besar sebagai pembawa obat, serta dapat melalui berbagai rute. Beberapa sistem pembawa yang termasuk dalam nanoteknologi adalah sistem pembawa berbahan dasar fosfolipid, seperti liposom, fitosom, etosom, dan transferosom, pembawa berbahan dasar lemak seperti nanoemulsi dan solid lipid nanopartikel (SLN), pembawa berbasis surfaktan seperti misel, serta pembawa berbasis polimer seperti nanopartikel kitosan (Gunasekaran et al., 2014). Rute pemberian obat nanopartikel dapat diberikan melalui per-oral, transdermal, pulmonari, okular, mukosa, nasal, bukal, vaginal, penghantaran gen, penghantaran vaksin, terapi kanker (Haleem et al., 2023).

Klasifikasi nanopartikel berdasarkan material

Nanopartikel terbagi menjadi 3 kategori berdasarkan komposisi materialnya, yaitu bio-inspired nanopartikel, nanopartikel sintetik, dan nanopartikel inorganik.

a. Bio-Inspired Nanopartikel

Terbuat dari material yang diderivatisasi langsung dari alam atau dari material yang diderivat secara sintesis tetapi didesain mirip material alami. Kategori ini berbahan dasar lipid, protein, polisakarida, dan virus. Nanopartikel berbahan dasar lipid seperti liposom memiliki potensi untuk menggabungkan obat hidrofobik ke dalam lamela atau membran lipid dan obat hidrofilik ke dalam kompartemen dalam air. Nanopartikel berbahan dasar protein diformulasikan berdasarkan pelarut yang sering menyebabkan toksisitas karena pengaruh pelarut. Nanopartikel berbahan dasar polisakarida bersifat sangat hidrofilik dan strukturnya dapat memudahkan pembuatan sistem nanopartikel secara reaksi kimia sederhana.

Nanopartikel berbahan dasar virus diderivat dari virus yang secara alami memiliki mekanisme untuk mentransfeksi sel dengan efisiensi yang tinggi sehingga cocok untuk terapi gen atau penghantaran oligonukleotida (Koudelka et al., 2015).

Polisakarida merupakan polimer dari monosakarida. Berdasarkan sumbernya, polisakarida dapat berasal dari alga seperti alginat, dari tanaman seperti pektin, guar gum, dari mikroba seperti dextran, xanthan gum, dan dari hewan seperti kitosan, kondroitin. Polisakarida mempunyai gugus reaktif dalam jumlah besar, kisaran bobot molekul yang lebar, komposisi kimia yang bervariasi yang mempengaruhi struktur suatu polisakarida. Berdasarkan tipe muatannya, polisakarida dapat diklasifikasikan menjadi 2 kelompok, yaitu polielektrolit dan non-polielektrolit. Polielektrolit dapat dibagi menjadi kationik (kitosan, dll), anionik (alginat, heparin, pektin, asam hialuronat, dll) dan netral (pullulan, dextran, dll) (Salatin & Jelvehgari, 2017).

Sebagai natural biomaterial, polisakarida mempunyai kestabilan yang tinggi, aman, non-toksik, hidrofilik, dan biodegradable. Polisakarida banyak terdapat di alam dan harganya terjangkau. Sebagian besar polisakarida memiliki gugus hidrofilik seperti gugus hidroksil, karboksil, dan amino yang dapat membentuk ikatan non-kovalen dengan jaringan tubuh (membran epitelial dan mukosa usus). Pembawa nanopartikel berupa polisakarida bersifat bioadesif dapat memperlama durasi pengobatan dan meningkatkan absorpsi obat. Sebagai biomaterial, polisakarida aman dan non-toksik. Telah banyak pula polisakarida yang telah dikembangkan dalam bentuk derivatnya sebagai penghantaran obat nanopartikel (Salatin & Jelvehgari, 2017). Nanopartikel berbahan dasar polisakarida jika dibandingkan dengan nanopartikel metal memiliki kestabilan yang baik, aman, tidak eksplosif, dan tersedia di alam (Khan et al., 2018).

b. Nanopartikel Sintetik

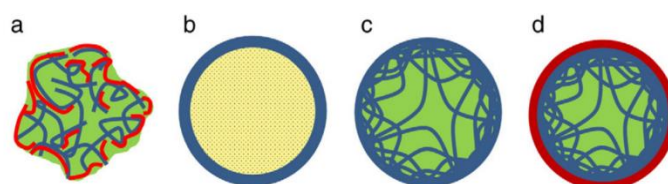
Nanopartikel sintetik berasal dari polimer sintetik yang diderivatisasi di laboratorium. Variasi polimer dapat dibentuk sesuai dengan tujuan formulasinya, misalnya pelepasan obat yang responsif, mengontrol degradasi pembawa, dll tergantung dari aplikasi yang disukai. Nanopartikel sintetik dapat dikelompokkan menjadi beberapa kategori, yaitu dendrimer, polimersom, misel, dan polimer terkonjugasi (Zielińska et al., 2020).

c. Nanopartikel Inorganik

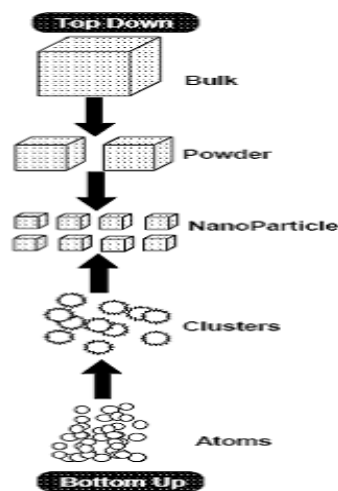
Nanopartikel inorganik merupakan sistem nanopartikel ketiga yang banyak digunakan. Sistem ini memiliki keunikan dan dapat dimodifikasi untuk meningkatkan target pengobatan. Nanopartikel inorganik dapat dibagi menjadi emas atau perak, keramik yang terbuat dari alumina atau silika, kuantum dots, dan nanopartikel karbon (Zielińska et al., 2020).

Mekanisme pembentukan nanopartikel

Sistem nanopartikel dapat berupa nanoagregat, nanokapsul, dan nanosfer (Gambar 3) memiliki ukuran nanometer dengan diameter 10-1000 nm. Sistem ini dapat membawa enzim, obat, dan komponen lainnya dengan melarutkan atau menjerapkan obat ke dalam matriks nanopartikel. Nanoagregat adalah sistem koloid ukuran nano dimana obat terdispersi secara fisika. Nanokapsul adalah sistem vesikular obat yang dimasukkan ke dalam inti berupa cairan minyak atau air yang dikelilingi oleh membran polimer. Nanosfer adalah partikel sferik dengan interior gel dimana komponen terjerap terdispersi fisika. Ada pula nanopartikel berupa gabungan antara nanosfer dan nanokapsul. Biasanya, diawali dengan pembentukan nanosfer kemudian menambahkan cangkang yang dibentuk pada permukaan dari nanosfer (Paques et al., 2014).



Gambar 3. Bentuk Nanopartikel (a) nanoagregat (b) nanokapsul (c) nanosfer (d) gabungan nanokapsul dan nanosfer (Paques et al., 2014)



Gambar 4. Teknik Pembuatan Nanopartikel (Arole & Munde, 2014)

Terdapat dua teknik pembuatan nanopartikel, yaitu top-down dan bottom-up (Gambar 4). Teknik top-down dengan membuat bulk material menjadi bentuk struktur yang lebih kecil. Teknik yang digunakan seperti teknik penggilingan media, mikrofluidisasi, dan homogenisasi tekanan tinggi. Teknik bottom-up dengan membuat komponen yang lebih kecil dari material atom atau molekul yang digabungkan menjadi lebih besar. Pembentukannya dilakukan dengan cara melarutkan obat ke dalam pelarut organik lalu diendapkan (Ahmed & Aljaeid, 2017). Pembuatan nanopartikel konvensional biasanya berdasarkan teknik bottom-up.

Pembentukan nanopartikel berbasis polisakarida dapat dengan cara cross-linking kovalen, cross-linking ionik, polyelectrolyte complexation (PEC), dan self-assembly polisakarida modifikasi hidrofobik. Cross-linking ionik memiliki keunggulan dibandingkan dengan cross-linking kovalen karena lebih mudah dan tidak banyak preparasi. Polisakarida bermuatan, yaitu polikation dan polianion dengan bobot molekul rendah dapat berinteraksi secara ionik (Manivasagan & Oh, 2016).

Karakterisasi nanopartikel

a. Ukuran Partikel

Ukuran partikel dan distribusi ukuran adalah karakteristik yang paling penting dalam sistem nanopartikel karena ukuran partikel menentukan distribusi obat dalam tubuh, aktivitas biologis, toksisitas, dan kemampuan tertarget. Selain itu, ukuran partikel dapat mempengaruhi loading obat, pelepasan obat, dan stabilitas nanopartikel. Ukuran nanopartikel memiliki kemampuan uptake intraseluler yang lebih tinggi dibandingkan dengan mikropartikel. Ukuran partikel yang semakin kecil memiliki luas area yang semakin besar sehingga meningkatkan disolusi obat dan absorpsi obat. Namun, ukuran partikel yang kecil memiliki risiko lebih besar untuk terjadi agregasi selama penyimpanan dan transportasi dari dispersi nanopartikel. Maka dari itu, diperlukan optimasi untuk memperoleh formula nanopartikel yang stabil (Zielińska et al., 2020).

Salah satu metode untuk mengukur ukuran partikel nanometer adalah dengan metode dynamic light scattering (DLS) atau yang dikenal pula photon-correlation spectroscopy (PCS) atau Quasi-Elastic Light Scattering (QELS). Metode ini merekam variasi intensitas dari hamburan cahaya per mikro-detik. Variasi hasil ukuran partikel dipengaruhi oleh gerak Brown. Keuntungan dari metode ini adalah analisisnya cepat, tidak memerlukan kalibrasi, dan sensitif (Carvalho et al., 2018). Pengukuran ukuran partikel dapat diverifikasi dengan melihat morfologi partikel menggunakan alat Scanning Electron Microscopy (SEM) dan Transmission Electron Microscopy (TEM) (Mukherjee et al., 2023).

b. Permukaan Partikel

Zeta potensial nanopartikel biasanya digunakan untuk mengkarakterisasi muatan permukaan nanopartikel. Zeta potensial menunjukkan potensial listrik partikel yang dipengaruhi oleh komposisi partikel

dan medium dispersi. Nanopartikel dengan zeta potensial diatas 30 mV atau dibawah – 30 mV menunjukkan bahwa nanopartikel stabil dalam suspensi karena muatan pada permukaan dapat melindungi terjadinya agregasi partikel. Zeta potensial juga dapat memperlihatkan enkapsulasi berada dalam sistem nanokapsul atau hanya teradsorpsi di permukaan (Honary & Zahir, 2013).

Zeta potensial dapat dimodifikasi dengan stabilizer atau modifikasi permukaan dengan penambahan polimer. Pengukuran zeta potensial dengan cara osilasi (variasi periodik terhadap waktu dari hasil pengukuran) sinyal dari hasil hamburan cahaya oleh lokasi partikel dalam medan listrik. Sifat permukaan nanopartikel dapat digunakan untuk memprediksi biodistribusi nanopartikel di dalam sistem biologis. Metode yang digunakan untuk mengukur zeta potensial adalah secara electrophoretic light scattering, U-tube elektroforesis, dan elektrostatis-FFF (Malik et al., 2023).

c. Efisiensi Penjerapan

Efisiensi penjerapan adalah seberapa banyak obat yang terperangkap dalam matriks. Keberhasilan sistem nanopartikel dapat dilihat dari tingginya kapasitas loading obat. Efisiensi penjerapan dan loading obat tergantung pada kelarutan obat dalam eksipien matriks yang dipengaruhi oleh komposisi matriks, berat molekul, interaksi obat-polimer, dan keberadaan ujung gugus fungsional. Untuk molekul kecil, interaksi ionik diantara obat dan material matriks dapat sangat efektif meningkatkan loading obat (Sim & Wong, 2021).

d. Pelepasan Obat

Pelepasan obat dan biodegradasi polimer sangat mempengaruhi keberhasilan sistem nanopartikel. Kecepatan pelepasan obat tergantung pada kelarutan obat, desorpsi dari ikatan permukaan atau adsorpsi obat, difusi obat melewati matriks, degradasi atau erosi matriks, serta kombinasi dari proses erosi atau difusi. Pada nanosfer, dimana obat terdistribusi seragam, pelepasan obat terjadi dengan difusi atau erosi dari matriks dibawah kondisi sink. Jika difusi obat lebih cepat dari erosi matriks, mekanisme pelepasan obat sebagian besar dikontrol oleh proses difusi (Malik et al., 2023).

Metode yang dapat digunakan untuk mengukur pelepasan obat antara lain: sel difusi side-by-side, difusi dialysis bag, difusi reverse dialysis bag, agitasi diikuti dengan sentrifugasi, dan ultra-sentrifugasi. Biasanya metode pelepasan obat yang digunakan adalah dengan mengontrol agitasi diikuti dengan sentrifugasi. Namun, metode ini memerlukan waktu yang lama dan teknik yang sulit sehingga metode yang disukai adalah dialysis (Titus et al., 2019).

Aplikasi formulasi nanopartikel metformin

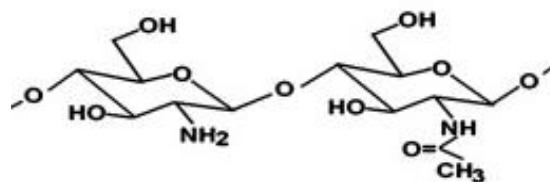
Beberapa penelitian telah dilakukan terkait formulasi metformin ke dalam sediaan nanopartikel menggunakan polisakarida (Tabel 1). Polisakarida yang banyak digunakan adalah kitosan dan alginat.

Tabel 1. Penelitian Formulasi Nanopartikel Metformin

No.	Judul Penelitian	Polimer	Tujuan	Sitasi
1.	Enhanced Effects Of Metformin Loaded Chitosan Nanoparticles In L6 Myotubes : In Vitro	Kitosan	Prolonged release	(C. S. Kumar et al., 2017)
2.	Metformin-Loaded Alginate Nanoparticles As An Effective Antidiabetic Agent For Controlled Drug Release	Alginat	Controlled release	(S. Kumar et al., 2017)
3.	Development And Characterization Of Metformin Loaded Pectin Nanoparticles For T2 Diabetes Mellitus	Pektin	Sustained release	(Chinnaiyan et al., 2018)
4.	Combined synergetic potential of metformin loaded pectin-chitosan biohybrids nanoparticle for NIDDM	Pektin dan kitosan	Menurunkan dosis, efek samping, dan meningkatkan efisiensi terapi	(Chinnaiyan et al., 2019)
5.	BÜCHI nano spray dryer B-90: a	Alginat	Sustained release	(Shehata & Ibrahima,

	promising technology for the production of metformin hydrochloride-loaded alginate-gelatin nanoparticles			2019)
6.	Microfluidic-based synthesized carboxymethyl chitosan nanoparticles containing metformin for diabetes therapy: In vitro and in vivo assessments	Karboksimetil Kitosan	Controlled release	(Lari et al., 2021)
7.	The Influence Of Chitosan Cross-Linking On The Properties Of Alginate Microparticles With Metformin Hydrochloride : In Vitro And In Vivo Evaluation	Alginat	Sustained releasae	(Szekalska et al., 2017)

Kitosan (Gambar 5) merupakan polisakarida kation yang dibuat dari N-deasetilasi biopolimer kitin. Senyawa kitin yang terkandung dalam cangkang kelompok crustaceae, seperti udang, lobster, kepiting, dsb. Kitin merupakan linear heteropolimer kation dari N-asetil glukosamin dan residu glukosamin dengan gabungan unit I oleh β -(1,4) (Quiñones et al., 2018).



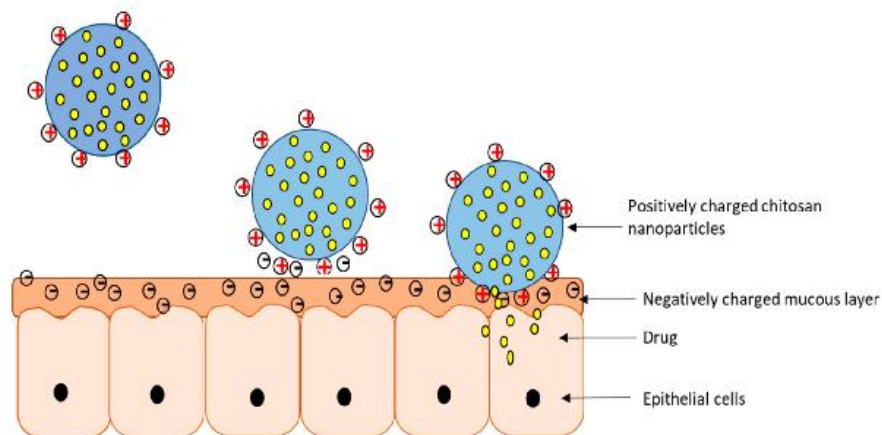
Gambar 5. Struktur Kimia Kitosan (Elgadir et al., 2015)

Derajat deasetilasi kitosan adalah diatas 60% dengan berat molekul kisaran 2000 Da (oligomer) sampai 10^4 - 2×10^6 Da (Mohammed et al., 2017; Yanat & Schroën, 2021). Derajat deasetilasi mempengaruhi sifat hidrofobik, kelarutan, dan toksisitas. Kitosan yang memiliki derajat deasetilasi lebih tinggi menunjukkan sifat toksik yang tergantung dengan berat molekulnya. Semakin rendah berat molekul maka semakin berkurang efek toksisitasnya. Kitosan dengan derajat asetilasi yang lebih rendah dapat berperan sebagai penambah daya absorpsi pada berat molekul tinggi maupun rendah. Berat molekul kitosan berefek pada kelarutan dan degradasi. Kitosan dengan berat molekul yang lebih tinggi menunjukkan kemampuan kelarutan rendah dan kecepatan degradasi rendah (Garg et al., 2019).

Kitosan memiliki fitur yang unik, yakni terdapat keberadaan amina primer pada posisi C-2 dari residu glukosamin (Garg et al., 2019). Kitosan sangat tergantung dengan pH karena kelarutannya. Kitosan berbentuk kristalin normalnya tidak larut air pada $\text{pH} > 7$. Namun, pada larutan asam (pH dibawah pK_a kitosan 5.5-6.5), gugus $-\text{NH}_2$ dari glukosamin akan terprotonasi sehingga dapat meningkatkan kelarutan kitosan. Muatan positif dari molekul kitosan diperoleh dari lingkungan asam yang sangat penting untuk mekanisme meningkatkan absorpsi (Van Bavel et al., 2023).

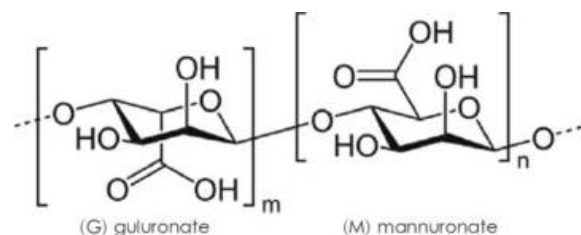
Kitosan memiliki aktivitas biologis sebagai antimikroba, penyembuhan luka, dan homeostatik. Kitosan memiliki sifat biokompatibel, biodegradable, mukoadhesif, dan non toksik sehingga telah banyak digunakan di bidang formulasi penghantaran obat. Penggunaan polimer dalam formulasi tidak selalu untuk meningkatkan solubilitas, namun dapat pula menambah kemampuan absorpsi molekul yang dibawa. Kitosan meningkatkan absorpsi obat ke usus dengan cara membuka tight junction diantara sel sehingga molekul obat dapat menembus sel mukosa.

Interaksi antara muatan positif dari gugus amino kitosan dan muatan negatif dari mukus usus menyebabkan peningkatan penetrasi ke barrier epitelial (Gambar 6). Penghantaran obat kitosan seperti nanopartikel dapat melalui berbagai rute pemberian obat, seperti oral, parental, mukosal (nasal, pulmonari, vaginal) dan okular (Smith et al., 2004).



Gambar 6. Interaksi Kitosan Terhadap Lapisan Mukus (Mohammed et al., 2017)

Alginat adalah polisakarida linear larut air yang diekstraksi dari rumput, tetapi bentuk asetilasi juga diproduksi sebagai polimer eksoselular oleh bakteri tertentu (Vijayalakshmi et al., 2014). Secara kimia, struktur alginat berupa 1,4 terhubung residu alfa-L-guluronat dan β -D-asam manuronat (Gambar 7).

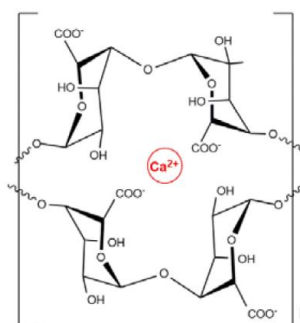


Gambar 7. Struktur Alginat (G) Guluronat dan (M) Manuronat (Kwon & Kim, 2016)

Alginat dilaporkan memiliki sifat mukoadhesif, biodegradable, dan biokompatibilitas sehingga telah banyak digunakan sebagai material penghantaran obat. Alginat dapat bertransformasi menjadi hidrogel, mikropartikel, nanopartikel, dan scaffold. Alginat memiliki gugus karboksil dan hidroksil yang mudah dimodifikasi untuk enkapsulasi obat (Venkatesan et al., 2017).

Sifat alginat dipengaruhi oleh tingkat polimerisasi serta perbandingan komposisi guluronat dan manuronat. Kelarutan alginat dalam bentuk garamnya, seperti natrium alginat, kalium alginat, kalsium alginat, dan aminium alginat, bersifat larut dalam air dingin maupun panas. Alginat sangat stabil pada pH 5-10, jika pada pH yang lebih tinggi, viskositas alginat sangat kecil yang disebabkan oleh terjadinya degradasi β -eliminatif.

Nanopartikel alginat dapat dibuat secara gelasi ionik dengan pembentukan sebuah egg-box ikatan elektrostatik antara divalen ion kalsium dan residu asam guluronat (Gambar 8) (Khan et al., 2018).



Gambar 8. Interaksi dari Gugus Asam Guluronat dengan Ion Kalsium (Annisa, Sulaiman, et al., 2021)

Matriks alginat menyerap molekul obat dengan gaya kapiler yang bermigrasi secara difusi yang tergantung dari ukurannya. Pembentukan gel dipengaruhi oleh nilai pH, kelarutan, dan temperatur. Metode pembuatan nanopartikel menggunakan alginat dapat dilakukan dengan cara gelasi ionik, cross-link kovalen, emulsi, self-assembly, dan kompleksasi. Gelasi ionik dan kompleksasi (PEC) merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk formulasi nanopartikel alginat (Venkatesan et al., 2017).

Metode Formulasi

Metode gelasi ionik banyak digunakan untuk enkapsulasi menggunakan polisakarida seperti kitosan, alginat, gum, selulolosa, dll. Keuntungan dari metode gelasi ionik adalah mudah, sangat terjangkau, tidak memerlukan peralatan yang rumit, efisien, tidak toksik, dan tidak memerlukan pelarut organik, pengadukan berlebih ataupun panas yang tinggi. Metode gelasi ionik dapat diikuti dengan kompleksasi polielektrolit atau polyelectrolyte complexation (PEC) untuk meningkatkan kekuatan mekanik dan barrier permeabilitas (Iurciuc-Tincu et al., 2020). Pembentukan secara PEC terjadi antara muatan polimer yang berlawanan oleh interaksi elektrostatik intermolekuler. Polielektrolit dapat berinteraksi dengan polisakarida untuk membentuk PEC. Namun, pada praktiknya polielektrolit dibatasi untuk polimer larut air dan biokompatibel untuk menjaga keamanannya (Wissam & Samer, 2019).

Terdapat dua tahap yang terjadi pada pembentukan kompleks PEC. Pertama, proses difusi kinetik dari ikatan timbal balik antara polimer yang terjadi relatif pada waktu singkat dan tergantung pada perbedaan ukuran. Kemudian, melalui ikatan sekunder seperti gaya Coulomb (sangat cepat) menyebabkan terbentuk kompleks utama. Kedua, penataan ulang termodinamika dari agregat sederhana yang telah terbentuk. Proses ini terjadi pada waktu lama yang menjadi sumber ketidakstabilan dari PEC sehingga dapat terjadi pemisahan pada media air. Penataan ulang termodinamika meliputi (a) pembentukan dari intrakompleks yang termasuk pembentukan ikatan baru atau koreksi dari distorsi dari rantai polimer dan (b) proses agregasi interkompleks yang termasuk agregasi dari kompleks sekunder, sebagian besar interaksi hidrofobik (Annisa, Sulaiman, et al., 2021).

Metode yang biasa digunakan untuk formulasi kitosan dan alginat adalah ionotropik pre-gelasi dari alginat lalu diikuti kompleks polielektrolit elektrostatik (PEC) dengan kitosan (Maan et al., 2016). Pre-gelasi alginat dilakukan dengan CaCl_2 ataupun ion divalen lainnya (Paques et al., 2014). Kemudian, obat dapat dilarutkan atau didispersikan ke dalam larutan alginat atau dimasukkan ke dalam campuran nanopartikel kitosan dan alginat (Chinnaiyan et al., 2018). Campuran larutan dari polikation dan polianion menyebabkan terjadinya pembentukan spontan dari PEC yang tidak larut dibawah kondisi tertentu. Penambahan kitosan sebagai muatan yang berlawanan membentuk PEC pada permukaan alginat. PEC memiliki interaksi elektrostatik kuat antara muatan yang berlawanan dari makromolekul. Interaksi yang terjadi dapat berupa ikatan Hidrogen, hidrofobik, dan gaya Van der Waals (Mahalakshmi Devi et al., 2014).

KESIMPULAN

Formulasi metformin ke dalam sediaan nanopartikel dapat memperbaiki permeabilitas, durasi pengobatan, dan menurunkan dosis. Formulasi metformin kedalam sediaan nanopartikel dapat menjadikan pelepasan metformin terkontrol, sehingga dapat menurunkan dosis, efek samping, dan meningkatkan efisiensi terapi. Nanopartikel polimerik efektif pada dosis rendah yang diikuti dengan pelepasan terkontrol sehingga menurunkan efek samping yang disebabkan oleh dosis tinggi. Enkapsulasi metformin ke dalam nanopartikel polimerik dapat memodifikasi pelepasan metformin menjadi sustained release dan efikasi yang lebih tinggi pada dosis rendah.

REFERENSI

Acebedo-Martínez, F. J., Domínguez-Martín, A., Alarcón-Payer, C., Garcés-Bastida, C., Verdugo-Escamilla, C., Gómez-Morales, J., & Choquesillo-Lazarte, D. (2023). Metformin-NSAIDs

- Molecular Salts: A Path towards Enhanced Oral Bioavailability and Stability. *Pharmaceutics*, 15(2), 449. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020449>
- Ahmed, T. A., & Aljaeid, B. M. (2017). A potential in situ gel formulation loaded with novel fabricated poly(Lactide-co-glycolide) nanoparticles for enhancing and sustaining the ophthalmic delivery of ketoconazole. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 1863–1875. <https://doi.org/10.2147/IJN.S131850>
- Annisa, V., Choiri, S., Nanda, T., Sulaiman, S., & Nugroho, A. E. (2021). Polymer as precipitation inhibitor of weak base drug: An update and brief review. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(5), 326–332.
- Annisa, V., Sulaiman, T. N. S., Nugroho, A. K., & Nugroho, A. E. (2021). Review Sinergisitas Kombinasi Polimer Alami Serta Pemanfaatan dalam Formulasi Obat. *Majalah Farmasetika*, 6(5), 436. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v6i5.35935>
- Arole, V. M., & Munde, S. V. (2014). Fabrication of Nanomaterials Top-Down and Bottom-Up Approaches - An Overview. *JAAST:Material Science (Special Issue)*, 1(2), 2–89. <https://pdfs.semanticscholar.org/34f8/921434fb256c9c8cca886722b5c920a1e4d2.pdf>
- Banday, M. Z., Sameer, A. S., & Nissar, S. (2020). Pathophysiology of diabetes: An overview. *Avicenna Journal of Medicine*, 10(04), 174–188. https://doi.org/10.4103/ajm.ajm_53_20
- Carvalho, P. M., Felício, M. R., Santos, N. C., Gonçalves, S., & Domingues, M. M. (2018). Application of Light Scattering Techniques to Nanoparticle Characterization and Development. *Frontiers in Chemistry*, 6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00237>
- Cetin, M., & Sahin, S. (2016). Microparticulate and Nanoparticulate Drug Delivery Systems for Metformin Hydrochloride. *Drug Delivery*, 23(8), 2796–2805. <https://doi.org/10.3109/10717544.2015.1089957>
- Chinnaiyan, S. K., Deivasigamani, K., & Gadela, V. R. (2019). Combined synergetic potential of metformin loaded pectin-chitosan biohybrids nanoparticle for NIDDM. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125, 278–289. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.009>
- Chinnaiyan, S. K., Karthikeyan, D., & Gadela, V. R. (2018). Development and Characterization of Metformin Loaded Pectin Nanoparticles for T2 Diabetes Mellitus. *Pharmaceutical Nanotechnology*, 6(4), 253–263. <https://doi.org/10.2174/2211738507666181221142406>
- da Trindade, M. T., Kogawa, A. C., & Salgado, H. R. N. (2018). Metformin: A Review of Characteristics, Properties, Analytical Methods and Impact in the Green Chemistry. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 48(1), 66–72. <https://doi.org/10.1080/10408347.2017.1374165>
- Elgadir, M. A., Uddin, M. S., Ferdosh, S., Adam, A., Chowdhury, A. J. K., & Sarker, M. Z. I. (2015). Impact of Chitosan Composites and Chitosan Nanoparticle Composites on Various Drug Delivery Systems: A Review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(4), 619–629. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.10.008>
- Fahmy, U. A., Aldawsari, H., Ahmed, O. A. A., Abdulaziz, K., Pharmacy, I., & Pharmacy, I. (2018). Polymeric Nanoparticulate Formulation To Improve Bioavailability of Metformin in Rats. 13(4), 1223–1229.
- Foretz, M., Guigas, B., Bertrand, L., Pollak, M., & Viollet, B. (2014). Metformin: From Mechanisms of Action to Therapies. *Cell Metabolism*, 20(6), 953–966. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.09.018>
- Garg, U., Chauhan, S., Nagich, U., & Jain, N. (2019). Current Advances in Chitosan Nanoparticles Based Drug Delivery and Targeting. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 9(2), 195–204.
- Gunasekaran, T., Haile, T., Nigusse, T., & Dhanaraju, M. D. (2014). Nanotechnology: an effective tool for enhancing bioavailability and bioactivity of phytomedicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4, S1–S7. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C980>
- Haleem, A., Javaid, M., Singh, R. P., Rab, S., & Suman, R. (2023). Applications of nanotechnology in medical field: a brief review. *Global Health Journal*, 7(2), 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.glohj.2023.02.008>

- Honary, S., & Zahir, F. (2013). Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems - A Review (Part 1). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(2). <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i2.19>
- Iurciuc-Tincu, C. E., Atanase, L. I., Ochiuz, L., Jérôme, C., Sol, V., Martin, P., & Popa, M. (2020). Curcumin-loaded polysaccharides-based complex particles obtained by polyelectrolyte complexation and ionic gelation. I-Particles obtaining and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 629–642. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.247>
- Kemenkes RI. (2014). Pedoman Pelayanan Kefarmasian pada Diabetes Melitus. Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Kemenkes RI. (2020). Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran (PNPK) Tata Laksana Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa.
- Khan, W., Abtew, E., Modani, S., & Domb, A. J. (2018). Polysaccharide Based Nanoparticles. *Israel Journal of Chemistry*, 58(12), 1315–1329. <https://doi.org/10.1002/ijch.201800051>
- Koudelka, K. J., Pitek, A. S., Manchester, M., & Steinmetz, N. F. (2015). Virus-Based Nanoparticles as Versatile Nanomachines. *Annual Review of Virology*, 2(1), 379–401. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-055141>
- Kumar, C. S., Karthikeyan, D., & Gadela, V. R. (2017). Enhanced Effects of Metformin Loaded Chitosan Nanoparticles in L6 Myotubes: In vitro. *Dm*, 48–63. <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>
- Kumar, S., Bhanjana, G., Verma, R. K., Dhingra, D., Dilbaghi, N., & Kim, K. H. (2017). Metformin-loaded alginate nanoparticles as an effective antidiabetic agent for controlled drug release. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69(2), 143–150.
- Kwon, K., & Kim, J. C. (2016). Redox-responsive alginate microsphere containing cystamine. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 27(15), 1520–1533. <https://doi.org/10.1080/09205063.2016.1215800>
- Lari, A. S., Zahedi, P., Ghourchian, H., & Khatibi, A. (2021). Microfluidic-based synthesized carboxymethyl chitosan nanoparticles containing metformin for diabetes therapy: In vitro and in vivo assessments. *Carbohydrate Polymers*, 261, 117889. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117889>
- Maan, G. K., Bajpai, J., & Bajpai, A. K. (2016). Investigation of In Vitro Release of Cisplatin from Electrostatically Crosslinked Chitosan-Alginate Nanoparticles. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry*, 46(10), 1532–1540. <https://doi.org/10.1080/15533174.2015.1137012>
- Mahalakshmi Devi, B., Latha, S., Umamaheshwari, D., Vijayalakshmi, K., Gomathi, T., & Sudha, P. N. (2014). Synthesis and characterisation of chitosan/sodium alginate/carboxymethyl cellulose beads. *Der Pharmacia Lettre*, 6(6), 389–395.
- Malik, S., Muhammad, K., & Waheed, Y. (2023). Emerging Applications of Nanotechnology in Healthcare and Medicine. *Molecules*, 28(18), 6624. <https://doi.org/10.3390/molecules28186624>
- Manivasagan, P., & Oh, J. (2016). Marine polysaccharide-based nanomaterials as a novel source of nanobiotechnological applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 315–327. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.081>
- Mohammed, M., Syeda, J., Wasan, K., & Wasan, E. (2017). An Overview of Chitosan Nanoparticles and Its Application in Non-Parenteral Drug Delivery. *Pharmaceutics*, 9(4), 53. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics9040053>
- Mukherjee, S., Kaushik, S., Singh, P., Shweta, S., & Sahu, I. P. (2023). Transmission electron microscopy for biomedical nanotechnology. In *Analytical Techniques for Biomedical Nanotechnology* (pp. 12-1-12-19). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/978-0-7503-3379-5ch12>
- National Center for Biotechnology Information. (2024). Metformin. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4091>

- Paques, J. P., Van Der Linden, E., Van Rijn, C. J. M., & Sagis, L. M. C. (2014). Preparation Methods of Alginate Nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 209, 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.03.009>
- Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., Campos, E. V. R., Rodriguez-Torres, M. del P., Acosta-Torres, L. S., Diaz-Torres, L. A., Grillo, R., Swamy, M. K., Sharma, S., Habtemariam, S., & Shin, H.-S. (2018). Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8>
- Penkov, D., Lukova, P., Manev, H., Dimitrova, S., & Kassarova, M. (2023). Polymer Tablet Matrix Systems for the Controlled Release of Dry Betula pendula Leaf Extract. *Polymers*, 15(17), 3558. <https://doi.org/10.3390/polym15173558>
- Prabhakaran, S., Thirumal, D., Gimbut, J., & Ranganathan, B. (2017). Metformin - A Panacea Pharmaceutical Agent Through Convergence Revolution Initiative. *Journal of Natural Remedies*, 17(3), 69–79. <https://doi.org/10.18311/jnr/2017/17938>
- Quiñones, J. P., Peniche, H., & Peniche, C. (2018). Chitosan Based Self-Assembled Nanoparticles in Drug Delivery. *Polymers*, 10(3), 1–32. <https://doi.org/10.3390/polym10030235>
- Salatin, S., & Jelvehgari, M. (2017). Natural Polysaccharide Based Nanoparticles for Drug/Gene Delivery. *Pharmaceutical Sciences*, 23(2), 84–94. <https://doi.org/10.15171/PS.2017.14>
- Shehata, T. M., & Ibrahima, M. M. (2019). BÜCHI nano spray dryer B-90: a promising technology for the production of metformin hydrochloride-loaded alginate–gelatin nanoparticles. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 45(12), 1907–1914. <https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1680992>
- Silbernagl, S., & Lang, F. (2016). *Color Atlas of Pathophysiology* (3rd ed.). Thieme Publishers Stuttgart.
- Sim, S., & Wong, N. (2021). Nanotechnology and its use in imaging and drug delivery (Review). *Biomedical Reports*, 14(5), 42. <https://doi.org/10.3892/br.2021.1418>
- Smith, J., Wood, E., & Dornish, M. (2004). Effect of Chitosan on Epithelial Cell Tight Junctions. *Pharmaceutical Research*, 21(1), 43–49. <https://doi.org/10.1023/B:PHAM.0000012150.60180.e3>
- Srinivasan, S., Elumalai, K., Cherian, B. V., & Ramanujam, S. K. (2023). Formulation and characterization of metformin hydrochloride orodispersible tablets with super disintegrants. *Intelligent Pharmacy*, 1(3), 162–166. <https://doi.org/10.1016/j.ipha.2023.06.006>
- Szekalska, M., Sosnowska, K., Zakrzewska, A., Kasacka, I., Lewandowska, A., & Winnicka, K. (2017). The Influence of Chitosan Cross-linking on the Properties of Alginate Microparticles with Metformin Hydrochloride—In Vitro and In Vivo Evaluation. *Molecules*, 22(1), 182. <https://doi.org/10.3390/molecules22010182>
- Szekalska, M., & Winnicka, K. (2017). Evaluation of hard gelatin capsules with alginate microspheres containing model drugs with different water solubility. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 74(4), 1221–1230.
- Tan, M. H., Alquraini, H., Mizokami-Stout, K., & MacEachern, M. (2016). Metformin: From Research to Clinical Practice. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 45(4), 819–843. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2016.06.008>
- Titus, D., James Jebaseelan Samuel, E., & Roopan, S. M. (2019). Nanoparticle characterization techniques. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles* (pp. 303–319). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102579-6.00012-5>
- Van Bavel, N., Issler, T., Pang, L., Anikovskiy, M., & Prenner, E. J. (2023). A Simple Method for Synthesis of Chitosan Nanoparticles with Ionic Gelation and Homogenization. *Molecules*, 28(11), 4328. <https://doi.org/10.3390/molecules28114328>
- Venkatesan, J., Anil, S., Singh, S. K., & Kim, S. K. (2017). Preparations and Applications of Alginate Nanoparticles. In *Seaweed Polysaccharides: Isolation, Biological and Biomedical Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809816-5.00013-X>
- Vijayalakshmi, K., Gomathi, T., & Sudha, P. N. (2014). Preparation and characterization of nanochitosan/sodium alginate/microcrystalline cellulose beads. *Der Pharmacia Lettre*, 6(4), 65–77.

- Wissam, Z., & Samer, H. (2019). Encapsulation of flaxseed oil extract in alginate–salep system by ionic gelation. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000200261>.
- Yanat, M., & Schroën, K. (2021). Preparation methods and applications of chitosan nanoparticles; with an outlook toward reinforcement of biodegradable packaging. *Reactive and Functional Polymers*, 161, 104849. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.104849>.
- Zielińska, A., Carreiró, F., Oliveira, A. M., Neves, A., Pires, B., Venkatesh, D. N., Durazzo, A., Lucarini, M., Eder, P., Silva, A. M., Santini, A., & Souto, E. B. (2020). Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology. *Molecules*, 25(16), 3731. <https://doi.org/10.3390/molecules25163731>.