

KARAKTERISASI & AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI KURKUMIN- NANOSTRUCTURED LIPID CARRIER

CHARACTERIZATION & ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CURCUMIN- NANOSTRUCTURED LIPID CARRIER

Rabima Rabima¹, Riki¹, Ariesa Oktamauri¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945, Jakarta, Indonesia

rabima86@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk memformulasi kurkumin dalam sediaan Nanostructured-Lipid Carrier dan karakterisasi dari sediaan kurkumin-NLC sebagai salah satu upaya meningkatkan bioavailailitas kurkumin serta aktivitas antibakterinya. Kurkumin-NLC dibuat dengan metode evaporasi dan difusi pelarut dalam sistem berair kemudian diikuti ultrasonikasi, asam oleat dan kolesterol digunakan sebagai matriks lipid cair dan lipid padat. Kurkumin-NLC dikarakterisasi dengan parameter indeks polidispersitas (IP), ukuran partikel, zeta potensial, efisiensi penjerapan serta drug-loading.

Karakteristik kurkumin-NLC yang dihasilkan pada penelitian ini yaitu ukuran partikel rata-rata 17,4 nm, indeks polidispersitas (IP) 0,574, zeta potensial -63,43 mV, Efisiensi Penjerapan dan Drug-loading berturut-turut sebesar 92,23 % dan 0,87% , Hasil ini menunjukkan bahwa kurkumin dapat diformulasikan sebagai NLC dengan karakteristik yang baik serta potensial untuk dikembangkan sebagai sistem penghantaran obat yang efektif. Rata-rata zona hambat kurkumin-NLC terhadap *S.aureus* dan *E.coli* sebesar 7,72 mm dan 6,0 mm dengan kadar hambat minimum (KHM) sebesar 50%.

Kata Kunci: Antibakteri, Bioavailabilitas, Kurkumin, NLC

ABSTRACT

The aim of this study is to formulate curcumin into Nanostructured-Lipid Carrier preparations as an effort to improve bioavailability of curcumin, determined its characterization and to study its antibacterial activity. The method used to synthesis curcumin-NLC is evaporation and diffusion of solvents in the aqueous system and ultrasonication, oleic acid and cholesterol are used as liquid lipid and solid lipid matrices. Curcumin-NLC was characterized by parameters of polydispersity index (IP), particle size, potential zeta, entrapment efficiency and drug loading.

*The curcumin-NLC produced in this study had an average particle size of 17.4 nm, polydispersity index (IP) of 0.574, zeta potential of -63.43 mV, entrapment efficiency and drug loading are 92.23% and 0.87% respectively. These results indicate that curcumin can be formulated as an NLC with good characteristics and potential to be developed as an effective drug delivery system. The inhibition zone of curcumin-nlc against *S. aureus* and *E.coli* obtained from this study are 7,72 mm and 6,0 mm respectively, and Minimum Inhibition Concentration (MIC) is 50%.*

Keywords : Antibacterial, Bioavailabilty, Curcumin, NLC

PENDAHULUAN

Kurkumin merupakan senyawa fenolik yang berperan sebagai pigmen kuning utama pada rimpang tanaman *Curcuma longa* (Hewlings & Kalman 2017). Kurkumin telah mendapatkan perhatian yang tinggi karena potensi obat yang besar (Prasad et al 2014). Agen ini memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, antiarthritic, antiatherosclerotic, antidepresan, antipenuaan, antidiabetes, antimikroba, penyembuhan luka meningkatkan sensitivitas memori, dan antikanker (Aggarwal et al. 2013). Kurkumin telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dengan spektrum kerja yang luas, meliputi bakteri gram positif seperti *B. cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis* dan gram negatif seperti *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica* and *Shigella dysenteriae* (Mun et al. 2013). Terlepas dari potensi besar tersebut, hingga saat ini kurkumin belum digunakan sebagai agen terapeutik (Prasad et al. 2014). Kurkumin memiliki kelarutan yang rendah, metabolisme yang cepat sehingga cepat dikeluarkan dari tubuh, penyerapan jaringan yang tidak memadai dan degradasi pada pH tinggi, sebagai akibatnya, bioavailabilitas oral kurkumin sangat buruk (Anand et al. 2007; Wahlang et al. 2011).

Pendekatan yang menjanjikan untuk mengatasi masalah ini adalah pengembangan sistem penghantaran obat yang layak. Selama dekade terakhir, beberapa strategi telah dipelajari untuk mengembangkan sistem dalam ukuran nano sebagai pembawa obat. Sistem ini pada dasarnya dibagi menjadi dua kelompok nanopartikel polimerik dan nanopartikel lipid. Nanosistem polimerik adalah partikel koloid padat yang terdiri dari polimer sintetik non-biodegradable atau bahan makromolekul biodegradable sintesis, semisintesis atau alami. Kelemahan nanopartikel polimerik adalah sitotoksitas polimer dan kurangnya teknik produksi berskala besar yang sesuai. Karena berasal dari alam, risiko toksikologi nanopartikel lipid jauh lebih sedikit daripada nanopartikel polimerik (Carmona-Ribeiro 2010; Sawant & Dodiya 2008).

Nanostructured Lipid Carrier (NLC) merupakan generasi kedua sediaan nanopartikel berbasis lipid yang diperkenalkan untuk mengatasi kelemahan Nanopartikel Lipid Padat (NLP) yaitu keterbatasan daya muat dan ekspulsi obat saat penyimpanan (Chinsriwongkul et al. 2011). Nanostructured Lipid Carrier (NLC) memiliki struktur hibrida polimer nanokapsul dan liposom, muncul sebagai alternatif yang menarik karena kemampuan untuk menjerat obat lipofilik dalam inti cair serta melindungi obat tersebut terhadap kemungkinan degradasi. Selain itu, NLC dapat meningkatkan stabilitas, pelepasan obat yang terkontrol, tolerabilitas yang baik, mengatasi multidrug resistency (MDR), meningkatkan internalisasi intraseluler, hingga meningkatkan efikasi obat yang diangkut (Laine et al. 2012; Keat et al. 2015; Lollo et al. 2015). Penelitian ini bertujuan untuk melakukan formulasi, karakterisasi kurkumin-NLC dan analisis khasiatnya sebagai antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif yaitu *S. aureus* dan *E.coli*

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, batch pemanas, hotplate, pengaduk magnet, homogenizer (IKA Ultra Turrax®), ultrasonic processor (130 Watt 20 kHz, Cole-Parmer), particle size analyzer (Delsa NanoC, Beckman Coulter), sentrifus, spektrofotometer UV-Vis 1700 PC (Shimadzu, Kyoto, Jepang), Transmission Electron Microscopy (TEM) JEOL JEM 1400 dan alat-alat gelas.

Bahan yang digunakan yaitu kurkumin, kolesterol, asam oleat, Poloksamer 188, Tween 80, aquades, etanol, aseton, medium NA, medium TSA, S.aureus, E.coli

Prosedur Kerja

Formulasi dan Karakterisasi Kurkumin-NLC

Kurkumin-NLC diformulasikan berdasarkan metode yang telah dilakukan sebelumnya, yaitu evaporasi dan difusi pelarut yang kemudian diikuti dengan ultrasonikasi (Emami et al. 2012). Fase lipid dibuat dengan menambahkan 60 mg campuran kolesterol (Merck) dan asam oleat (15% Merck), dilarutkan menggunakan aseton (3 ml) dan etanol (3 ml) pada suhu 60 °C. Kurkumin (Merck) (10 % dari jumlah lipid) kemudian ditambahkan kedalam campuran tersebut. Fase air dibuat sebanyak 60 ml dengan mencampurkan tween 80 (1%) dengan 60 ml aquades pada suhu 60 °C. Fase Lipid-kurkumin kemudian didispersikan pada fase air menggunakan magnetik stirer dengan kecepatan 800 rpm selama 5 menit lalu dilakukan ultrasonikasi menggunakan ULTRA-TURRAX homogenizer (IKA Works, Inc., Wilmington) selama 4 menit pada kecepatan 800 rpm menggunakan amplitudo 40% hingga didapatkan campuran emulsi yang homogen. Campuran kemudian didinginkan pada suhu ruang selama 1 jam. Kurkumin-NLC kemudian dikarakterisasi ukuran partikel, zeta potensial dan indeks polidispersitasnya menggunakan DelsaTMNano C (Beckman Coulter, Inc.)

Efisiensi Penjerapan

Efisiensi Penjerapan & Drug-Loading Kurkumin-NLC ditentukan menggunakan metode yang telah dipublikasikan sebelumnya dengan sedikit modifikasi (Madane & Mahajan. 2016). Penentuan efisiensi penjerapan dilakukan dengan cara, kurkumin-NLC disentrifugasi pada 10000 rpm selama 3 × 35 menit dan supernatannya didekantasi. 1 ml supernatan diencerkan dengan 3 ml campuran DMSO dan metanol. Sedangkan daya muat obat (Drug Loading) ditentukan dengan cara, Kurkumin dari NLC diekstraksi dengan campuran DMSO dan metanol. Kandungan kurkumin kemudian dianalisis menggunakan High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) dengan asetonitril dan asam asetat 2 % sebagai fase gerak. Persen efisiensi penjerapan (%EE) dan persen daya muat obat (%DL) dihitung dengan persamaan berikut:

$$\% EE = \left(\frac{\text{Jmlh kurkumin yg ditambahkan} - \text{Jmlh kurkumin dalam supernatan}}{\text{Jmlh kurkumin yg ditambahkan}} \right) \times 100\%$$

$$\% DL = \left(\frac{\text{Jmlh kurkumin yg ditambahkan}}{\text{Jmlh kurkumin yg ditambahkan} + \text{Jmlh eksipien ditambahkan}} \right) \times 100$$

Uji Aktivitas Antibakteri Kurkumin-NLC

Pembuatan larutan uji

Larutan uji dibuat dengan berbagai variasi pengenceran dari kurkumin-NLC yaitu 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%.

Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar

Media NA dan TSA yang sudah disterilkan masing-masing ditambahkan dengan bakteri *S. aureus* untuk NA dan *E.coli* untuk TSA sebanyak 0,1 ml/100 ml kemudian media dituang dalam cawan petri berbeda yang sudah diberi tanda menggunakan spidol untuk tiap konsentrasi ekstrak sebanyak 20 ml. Tiap bakteri masing-masing dibuat sebanyak 5 petri. Setelah media NA dan TSA mengeras kemudian kertas cakram diletakkan pada media yang sudah diberi tanda dan ditetaskan dengan kurkumin-NLC sebanyak 10 µl dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%.

Untuk kontrol positif, pada kertas cakram lain ditetaskan dengan larutan kloramfenikol sebanyak 10 µl dan untuk kontrol negatif hanya berisi kertas cakram yang ditetaskan larutan DMSO. Cawan petri kemudian dibungkus dengan kertas wrap dan di inkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Zona hambat yang terbentuk pada masing-masing cakram diukur dengan menggunakan jangka sorong.

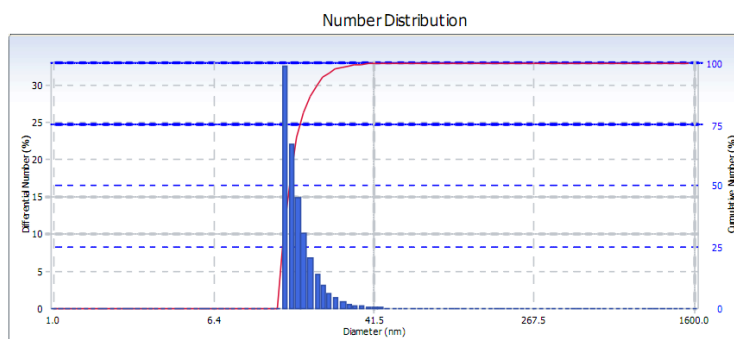
HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 1. Hasil Formulasi Kurkumin-NLC

Formulasi kurkumin-NLC menggunakan dua matriks lipid cair dan padat berturut-turut asam oleat dan kolesterol. Penggunaan tween 80 dalam formulasi ini adalah sebagai pengemulsi untuk mempertahankan stabilitas dispersi lipid (Fang et al. 2012). Formulasi dilakukan menggunakan metode evaporasi dan difusi pelarut dalam sistem berair kemudian diikuti

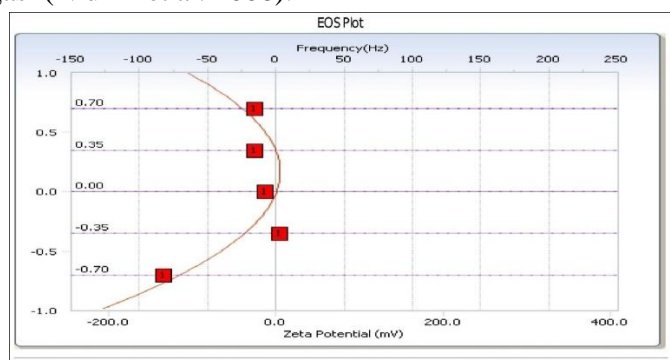
ultrasonikasi (Emami et al. 2012; Rosli et al. 2015; Jing et al. 2015). Hasil formulasi didapatkan kurkumin-NLC yang berwarna kuning jernih, tidak terdapat endapan, tidak berbusa serta homogen.



Gambar 2. Hasil Analisis PSA (Particle Size Analyzer) Kurkumin-NLC

Hasil Particle Size Analyzer memperlihatkan ukuran partikel rata-rata sebesar 17,4 nm, dimana ukuran ini sesuai dengan ukuran formulasi NLC yaitu antara 10-100 nm (Rosli et al. 2015). Ukuran partikel dispersi NLC merupakan suatu faktor krusial yang menentukan laju pelepasan obat serta absorpsinya. Semakin kecil ukuran partikel akan menyebabkan luas permukaan yang lebih besar sehingga meningkatkan absorpsi obat (Madane & Mahajan. 2016).

Indeks Polidispersitas yang didapat adalah sebesar 0,574 yang menunjukkan bahwa kurkumin terdispersi secara monodispers. Indeks polidispersitas adalah parameter yang menyatakan distribusi ukuran partikel dari sistem nanopartikel yang nilainya dimulai dari 0,01 sampai 0,5-0,7 untuk partikel monodispersi. Nilai indeks polidispersitas menyatakan kestabilan sistem nanopartikel, semakin meningkatnya nilai indeks polidispersitas menunjukkan semakin banyak partikel yang beragregasi. Sistem partikel monodispersi memperlihatkan distribusi ukuran partikel yang cenderung sempit dan menandakan sistem nanopartikel yang stabil karena semakin sedikitnya partikel yang beragregasi (Nidhin et al. 2008).



Gambar 3. Hasil Analisa Zeta Potensial Kurkumin-NLC

Zeta potensial yang didapat sebesar -63,43 mV. Suatu sistem dispersi koloid dengan nilai zeta potensial ± 30 mV dianggap merupakan suatu formulasi yang stabil. Nilai negatif atau positif yang tinggi dari zeta potensial akan menyebabkan nanopartikel saling tolak dan mencegah kecenderungan agregasi (Rosli et al. 2015).

Hasil Efisiensi Penjerapan Kurkumin-NLC

Jumlah kurkumin ditambahkan (ppm)	Jumlah kurkumin dalam supernatant (ppm)
90	6,993

$$\% EE = \left(\frac{\text{Jmlh kurkumin yg ditambahkan} - \text{Jmlh kurkumin dalam supernatan}}{\text{Jmlh kurkumin yg ditambahkan}} \right) \times 100\%$$

$$= \left(\frac{90 \text{ ppm} - 6,993 \text{ ppm}}{90 \text{ ppm}} \right) \times 100\%$$

$$= 92,23 \%$$

Hasil Drug-Loading Kurkumin-NLC

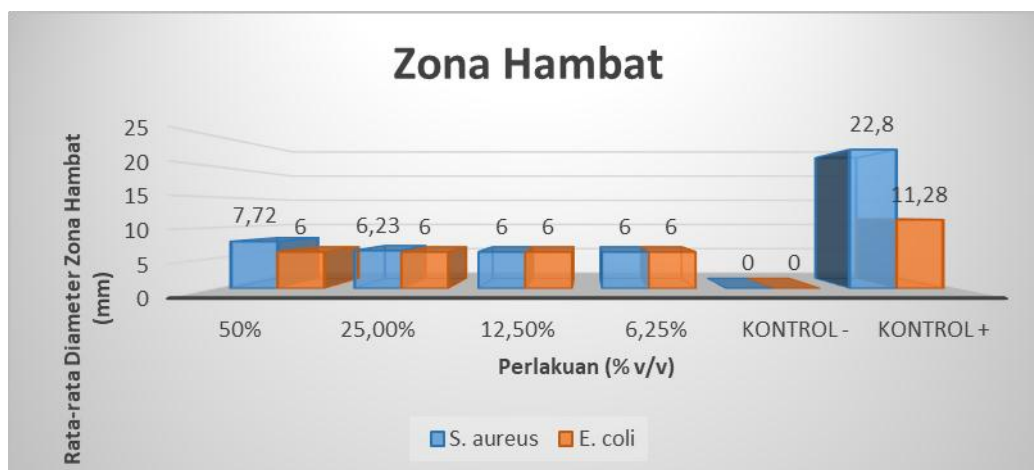
Jumlah kurkumin dalam NLC (ppm)	Jumlah kurkumin & Eksiipien yang ditambahkan (ppm)
7,95	909,09

$$\% DL = \left(\frac{\text{Jmlh kurkumin yg ditambahkan}}{\text{Jmlh kurkumin yg ditambahkan} + \text{Jmlh eksiipien ditambahkan}} \right) \times 100 \%$$

$$= \left(\frac{7,95 \text{ ppm}}{909,09 \text{ ppm}} \right) \times 100 \% = 0,87 \%$$

Persen efisiensi penjerapan dinyatakan sebagai persentase kurkumin yang ada dalam fase lipid nanopartikel terhadap jumlah total kurkumin yang ditambahkan. Persentase tersebut menyatakan jumlah kurkumin yang terjerat dalam nanopartikel dan jumlah kurkumin yang ada dalam media pendispersi. Sedangkan persentase Drug-Loading dinyatakan sebagai persentase kurkumin yang ada dalam fase lipid nanopartikel terhadap jumlah total kurkumin fase lipid (Madane & Mahajan. 2016). Hasil efisiensi penjerapan yang didapat kan setelah analisa menggunakan High-Pressure Liquid Chromatography (HPLC) adalah sebesar 92,23%, hasil yang didapat menunjukkan efisiensi penjerapan yang tinggi. Efisiensi penjerapan yang tinggi sangat menguntungkan karena dapat mengangkut cukup obat pada sel target dan meningkatkan waktu kontak obat (Ranjan et al. 2012). Hasil Drug-loading yang didapat adalah sebesar 0,87%.

Hasil Uji Antibakteri Kurkumin-NLC terhadap *S. aureus* dan *E. coli*



Gambar 4. Diagram rata-rata zona hambat kurkumin-nlc terhadap *S.aureus* dan *E.coli*

Hasil uji aktivitas antibakteri dari kurkumin-NLC menunjukkan adanya zona hambat pada pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter rata-rata 7,72 mm dan pada *E.coli* sebesar 6 mm. Konsentrasi hambat minimum dari kurkumin-NLC terhadap kedua bakteri adalah 50%. Hasil ini memperlihatkan adanya aktivitas antibakteri kurkumin-NLC dengan kategori lemah (Greenwood 1995).

Menurut Greenwood (1995), Besar atau kecilnya zona hambat yang terbentuk dapat menyatakan bahwa suatu antimikroba tersebut bersifat sensitif, intermediet atau resisten terhadap pertumbuhan suatu mikroba. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa kurkumin-NLC konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% dan 6,25% tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri, Kemampuan kurkumin-NLC dalam menghambat pertumbuhan bakteri bila dibandingkan dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif sangat berbanding terbalik. Aktivitas yang lemah diduga disebabkan adanya komposisi kurkumin-NLC yang menghambat aktivitas antibakteri kurkumin serta diduga karena faktor teknis, biologis, serta daya difusi ekstrak dan adanya kemungkinan resistensi bakteri terhadap kurkumin-NLC. Resistensi bakteri sangat mungkin terjadi dikarenakan resistensi merupakan adaptasi bakteri untuk bertahan hidup (Brooks et al. 2010; CLSI, 2014; Choffness et al. 2010).

KESIMPULAN

Kurkumin dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan Nanostructured-Lipid Carrier. Karakteristik kurkumin-NLC yang dihasilkan pada penelitian ini yaitu ukuran partikel rata-rata 17,4 nm, indeks polidispersitas (IP) 0,574, zeta potensial -63,43 mV, dengan struktur dan morfologi berbentuk bulat dengan permukaan halus. Efisiensi Penjerapan dan Drug-loading berturut-turut sebesar 92,23 % dan 0,87%. Hasil ini menunjukkan bahwa kurkumin dapat diformulasikan sebagai NLC dengan karakteristik yang baik serta potensial untuk dikembangkan

sebagai sistem penghantaran obat yang efektif. Rata-rata zona hambat kurkumin-NLC terhadap *S.aureus* dan *E.coli* berturut-turut sebesar 7,72 mm dan 6,0 mm, dengan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) yaitu 50%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara atas bantuan finansial dari Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia (Kontrak No. 3/E/KPT/2017). Ucapan terima kasih ditujukan pada Nanotech Herbal Indonesia yang telah menyediakan sarana dan prasarana laboratorium yang digunakan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal, B. B., Yuan, W., Li, S., & Gupta, S. C. 2013. Curcumin-free turmeric exhibits anti-inflammatory and anticancer activities: Identification of novel components of turmeric. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(9), 1529–1542.
- Almoussalam, M. Claudia Moia, C. Zhu. 2015. Development of nanostructured lipid carrier for dacarbazine delivery. *International Nano Letters*. 5, 241–248.
- Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807–818.
- Brooks, G.F. Carrol, K.C. Butel, J.S. Morse, S.A. 2010. *Jawetz, Melnick, and Adelbergs Medical Microbiology 25th Edition*. USA: McGraw-Hill Companies
- Carmona-Ribeiro, AM. 2010. Biomimetic nanoparticles: preparation, characterization and biomedical applications. *International Journal of Nanomedicine*. 5, 249-59.
- Chinsriwongkul, A. Chareanputtakhun, P. Ngawhirunpat, T. Rojanarata, T. Sila-on, W. Ruktanonchai, U. Opanasopit, P. 2011. Nanostructured Lipid Carriers (NLC) for parenteral delivery of an anticancer drug. *American Association of Pharmaceutical Scientist Pharmaceutival Science Technology*.
- Choffness, E.R. David, A.R. Alison, M. 2010. *Antibiotic Resistance*. USA: The National Academic Press
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2014. *Perfomance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Fourth Informational Supplement*. USA: Wayne, P.A.
- Emami J, Rezazadeh M, Varshosaz J, Tabbakhian M, Aslani A. 2012. Formulation of LDL targeted nanostructured lipid carriers loaded with paclitaxel: A detailed study of preparation, freeze drying condition, and in vitro cytotoxicity. *Journal of Nanomaterials*.
- Facchi, S. P., Scariot, D. B., Bueno, P. V. A., Souza, P. R., Figueiredo, L. C., Follmann, H. D. M., Martins, A. F. 2016. Preparation and cytotoxicity of N-modified chitosan

- nanoparticles applied in curcumin delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, 87, 237–245.
- Fang, C.-L., A. Al-Suwayeh, S., & Fang, J.-Y. 2012. Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) for Drug Delivery and Targeting. *Recent Patents on Nanotechnology*, 7(1), 41–55.
- Greenwood. 1995. *Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial and Chemotherapy*. USA: Addison Westley Longman Inc
- Hewlings, S., & Kalman, D. 2017. Curcumin: A Review of Its' Effects on Human Health. *Foods*, 6(10), 92.
- Jing, M. Yongzhong, D. Hong, Y. Xingguo, Z. Qian, L. Yuefeng, R. Mengdan, Z. Fuqiang, H. 2015. Improved cytotoxicity of paclitaxel loaded in nanosized lipid carriers by intracellular delivery. *Journal of Nanoparticles Research*. 17, 10-19.
- Laine A-L, Huynh NT, Clavreul A, Balzeau J, Béjaud J, Vessieres A, et al. 2012. Brain tumour targeting strategies via coated ferrociphenol lipid nanocapsules. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 81(3), 690-3.
- Lollo G, Vincent M, Ullio-Gamboa G, Lemaire L, Franconi F, Couez D, et al. 2015. Development of multifunctional lipid nanocapsules for the co-delivery of paclitaxel and CpG-ODN in the treatment of glioblastoma. *International Journal of Pharmaceutics*. 495(2), 972-80.
- Mun, S.H. Joung, D.K. Kim, Y.S. Kang, O.H. Kim, S.B. Seo, Y.S. Kim, Y.C. Lee, D.S. Shin, D.W. Kweon, K.T. and Kwon, D.Y. 2013. Synergistic Antibacterial Effect of Curcumin Against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Phytomedicine*. 20, 714-718
- Ng, W. K., Saiful Yazan, L., Yap, L. H., Wan Nor Hafiza, W. A. G., How, C. W., & Abdullah, R. 2015. Thymoquinone-Loaded Nanostructured Lipid Carrier Exhibited Cytotoxicity towards Breast Cancer Cell Lines (MDA-MB-231 and MCF-7) and Cervical Cancer Cell Lines (HeLa and SiHa). *BioMedical Research International*, 1–10.
- Nidhin, M. Indumathy, R. Sreeram, K.J. and Nair, B.U. 2008. Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles of Narrow Size Distribution on Polysaccharide Templates. *Bulletin Material Science*. 31 (1), 93-96
- Pillarisetti, S., Maya, S., Sathianarayanan, S., & Jayakumar, R. 2017. Tunable pH and redox-responsive drug release from curcumin conjugated γ -polyglutamic acid nanoparticles in cancer microenvironment. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 159, 809–819.
- Prasad, S., Gupta, S. C., Tyagi, A. K., & Aggarwal, B. B. 2014. Curcumin, a component of golden spice: From bedside to bench and back. *Biotechnology Advances*, 32(6), 1053–1064.
- Ranjan AP, Mukerjee A, Helson L, Vishwanatha K. 2012. Scale Up, Optimization and Stability Analysis of Curcumin C3 Complex-Loaded Nanoparticles for Cancer Therapy. *Journal of Nanobiotechnology*. 10(38), 1-18.

- Rosli, N.A. Hasham, R. Aziz, A. Aziz, R. 2015. Formulation and characterization of nanostructured lipid carrier encapsulated Zingiber zerumbet oil using ultrasonication technique. *Journal of Advanced Research in Applied Mechanics*. 11(1), 16-23.
- Sawant KK, Dodiya SS. 2008. Recent advances and patents on solid lipid nanoparticles. *Recent Patents on Drug Delivery Formulation*. 2, 120-35.
- Wahlang B., Pawar Y. B., Bansal A. K. 2011. Identification of permeability-related hurdles in oral delivery of curcumin using the CaCo-2 cell model. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 77, 275–282.