

**STUDI IN VITRO PENGARUH SISTEM PENGANTARAN NANOEMULSI
TERHADAP PERMEASI HIDROKLOROTHIAZID**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:
FADILAH ASRIL
145070501111012

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
DAFTAR RUMUS.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat	4
1.4.1. Manfaat Akademis	4
1.4.2. Manfaat Praktis.....	4

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Hidroklorothiazid.....	5
2.2. Struktur Kulit.....	6
2.3. Rute Transdermal.....	8
2.4. Strategi Peningkatan Permeabilitas.....	10
2.5. Nanoemulsi	11
2.5.1. Pembuatan Nanoemulsi	14
2.5.2. Sistem <i>Hydrophilic-Lipophilic Balance</i>	15
2.5.3. Evaluasi Nanoemulsi.....	17
2.5.3.1. Organoleptis	17
2.5.3.2. Ukuran Partikel dan Polidispersitas	17
2.5.3.3. Persen Transmitan	18
2.5.3.4. Studi Permeasi <i>In Vitro</i>	19
2.6. Kinetika Pelepasan Obat.....	20
2.6.1. Persamaan Kinetika Orde Nol	21
2.6.2. Persamaan Kinetika Orde Satu	21
2.6.3. Persamaan Kinetika Higuchi	22
2.6.4. Persamaan Kinetika Korsmeyer Peppas	23
2.7. Tinjauan Bahan	24
2.7.1. <i>Castor Oil</i>	24
2.7.2. Croduret 50ss	25
2.7.3. Span 80	26
2.7.4. Propilen Glikol.....	27

2.7.5. Akuades	28
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	30
3.1. Kerangka Konsep.....	30
3.2. Hipotesis Penelitian.....	32
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	33
4.1. Desain Penelitian	33
4.2. Variabel Penelitian	33
4.3. Lokasi dan Waktu Penelitian	33
4.4. Bahan dan Alat.....	34
4.4.1. Bahan	34
4.4.2. Alat	34
4.5. Definisi Operasional	34
4.6. Skema Kerja.....	36
4.7. Prosedur Penelitian	37
4.7.1. Pembuatan Makroemulsi HCTZ	37
4.7.2. Uji <i>In Vitro</i> Sediaan	37
4.8. Formula Optimum.....	38
4.9. Evaluasi Nanoemulsi dan Makroemulsi HCTZ.....	39
4.9.1. Uji Organoleptis	39
4.9.2. Analisa Ukuran Partikel dan Polidispersitas	39
4.9.3. Uji Persen Transmision.....	40
4.9.4. Uji Permeasi <i>In Vitro</i>	41
4.10. Spesifikasi Hasil Nanoemulsi dan Makroemulsi HCTZ	42

4.11. Analisa Hasil	42
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	44
5.1. Hasil Optimasi Nanoemulsi & Makroemulsi HCTZ.....	44
5.2. Evaluasi Sistem Nanoemulsi & Makroemulsi HCTZ	44
5.2.1. Hasil Uji Organoleptis.....	45
5.2.2. Hasil Uji Persen Transmision.....	47
5.2.3. Hasil Uji Pengukuran pH	48
5.2.4. Hasil Uji Pengukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas	48
5.3. Hasil Uji Difusi HCTZ.....	50
5.3.1. Hasil Perhitungan Persen Terdifusi	50
5.3.2. Hasil Uji Difusi HCTZ Menit ke 30	52
5.3.3. Hasil Uji Difusi HCTZ Menit ke 60	53
5.3.4. Hasil Uji Difusi HCTZ Menit ke 120	53
5.3.5.. Hasil Uji Difusi HCTZ Menit ke 180	54
5.3.6. Hasil Uji Difusi HCTZ Menit ke 240	54
5.3.7. Hasil Uji Difusi HCTZ Menit ke 300	55
5.3.8. Hasil Uji Difusi HCTZ Menit ke 360	55
BAB 6. PEMBAHASAN	56
6.1. Pembahasan	56
6.2. Keterbatasan Penelitian	64
BAB 7. PENUTUP	65
7.1. Kesimpulan	65
7.2. Saran	65

DAFTAR PUSTAKA.....	66
LAMPIRAN.....	75



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Struktur Hidroklorothiazid	6
Gambar 2.2. Struktur Kulit	8
Gambar 2.3. Rute Penetrasi Transdermal	9
Gambar 2.4. Jalur Penetrasi Obat Rute Transepidermal.....	10
Gambar 2.5. Struktur Nanoemulsi.....	13
Gambar 2.6. Proses Terbentuknya Emulsi.....	15
Gambar 2.7. Castor Oil	24
Gambar 2.8. Struktur Croduret 50ss	25
Gambar 2.9. Struktur Span 80	26
Gambar 2.10. Struktur Propilen Glikol.....	27
Gambar 2.11. Struktur Akuades.....	28
Gambar 3.1. Kerangka Konsep Penelitian	30
Gambar 4.1. Kerangka Alur Kerja Pembuatan Nanoemulsi HCTZ	36
Gambar 4.1. Alur Kerja Pembuatan Nanoemulsi & Makroemulsi HCTZ.....	37
Gambar 5.1. Hasil Pengamatan Organoleptis	45
Gambar 5.2. Hasil Uji Tipe Sediaan menggunakan Metode Pengenceran	46
Gambar 5.3. Hasil Uji Tipe Emulsi menggunakan Metode Pewarnaan	46
Gambar 5.4. Persentase Konsentrasi HCTZ yang Berdifusi melalui Membran	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Aplikasi Surfaktan Berdasarkan Nilai HLB.....	16
Tabel 4.1. Komposisi Formula Nanoemulsi & Makroemulsi HCTZ	38
Tabel 4.2. Spesifikasi Nanoemulsi dan Makroemulsi HCTZ.....	42
Tabel 5.1. Hasil Titrasi Nanoemulsi dan Makroemulsi HCTZ	44
Tabel 5.2. Hasil Uji Organoleptik Nanoemulsi dan Makroemulsi HCTZ	45
Tabel 5.3. Hasil Uji Persen Transmitan Nanoemulsi dan Makroemulsi	47
Tabel 5.4. Hasil Uji Pengukuran pH Nanoemulsi dan Makroemulsi.....	48
Tabel 5.5. Hasil Uji Ukuran Partikel Nanoemulsi dan Makroemulsi	49
Tabel 5.6. Hasil Perhitungan % Kumulatif HCTZ yang Berdifusi setiap Waktu	51
Tabel 5.7. Hasil Analisa Kinetika Pelepasan Obat	52

DAFTAR SINGKATAN

F1	= Formula 1
F2	= Formula 2
F3	= Formula 3
HCTZ	= Hidroklorothiazid
HLB	= <i>Hydrophilic Lipophilic Balance</i>
O/W	= <i>Oil in Water</i>
PBS	= <i>Phospat Buffered Saline</i>
PDI	= <i>Polidispersity Index</i>
PSA	= <i>Particle Size Analyzer</i>
SEM	= <i>Standar Error Measurement</i>
Smix	= Surfaktan <i>mix</i>
UV	= Ultraviolet
W/O	= <i>Water in Oil</i>

DAFTAR RUMUS

	Halaman
Rumus 2.1. Rumus rHLB	17
Rumus 2.2. Rumus Persen Transmitan	19
Rumus 2.3. Rumus Absorbansi	19
Rumus 2.4. Rumus Flux	20
Rumus 2.5. Rumus Kinetika Orde Nol	21
Rumus 2.6. Rumus Kinetika Orde Satu	22
Rumus 2.7. Rumus Kinetika Higuchi.....	23
Rumus 2.8. Rumus Kinetika Korsmeyers Peppas.....	23

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Identifikasi Bahan Baku	75
Lampiran 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	78
Lampiran 3. Kurva Kalibrasi HCTZ dalam Methanol dan pH PBS 7,4	79
Lampiran 4. Kurva Persen Recovery	80
Lampiran 5. Pembuatan Dapar Pospat	81
Lampiran 6. Data Pengukuran Persen Transmitta, pH, dan Ukuran Partikel	82
Lampiran 7. Data Absorbansi Uji Difusi	83
Lampiran 8. Kurva Persen Terdifusi	84
Lampiran 9. Persentase Kumulatif Obat yang Berdifusi setiap Waktu	86
Lampiran 10. Contoh Perhitungan Persen Terdifusi	88
Lampiran 11. Model Kinetika	90
Lampiran 12. Perhitungan Bioavailabilitas Relatif	92
Lampiran 13. Pengukuran Ukuran Partikel Formula 1 Replikasi 1	93
Lampiran 14. Pengukuran Ukuran Partikel Formula 1 Replikasi 2	94
Lampiran 15. Pengukuran Ukuran Partikel Formula 1 Replikasi 3	95
Lampiran 16. Pengukuran Ukuran Partikel Formula 2 Replikasi 1	96
Lampiran 17. Pengukuran Ukuran Partikel Formula 2 Replikasi 2	97
Lampiran 18. Pengukuran Ukuran Partikel Formula 2 Replikasi 3	98
Lampiran 19. Pengukuran Ukuran Partikel Formula 3 Replikasi 1	99

Lampiran 20. Pengukuran Ukuran Partikel Formula 3 Replikasi 2	101
Lampiran 21. Pengukuran Ukuran Partikel Formula 3 Replikasi 3	103
Lampiran 22. Data Analisa Statistik Pengujian Persen Transmitan.....	105
Lampiran 23. Data Analisa Statistik Pengujian pH	110
Lampiran 24. Data Analisa Statistik Pengujian Ukuran Partikel.....	113
Lampiran 25. Data Analisa Statistik Uji Difusi Menit ke 30	117
Lampiran 26.Data Analisa Statistik Uji Difusi Menit ke 60	118
Lampiran 27. Data Analisa Statistik Uji Difusi Menit ke 120	123
Lampiran 28. Data Analisa Statistik Uji Difusi Menit ke 180	127
Lampiran 29. Data Analisa Statistik Uji Difusi Menit ke 240	129
Lampiran 30. Data Analisa Statistik Uji Difusi Menit ke 300	133
Lampiran 31. Data Analisa Statistik Uji Difusi Menit ke 360	134
Lampiran 32. Data Analisa Statistik Akumulasi % Terdifusi	135
Lampiran 33. <i>Certificate of Analysis Castor Oil</i>	139
Lampiran 34. <i>Certificate of Analysis HCTZ</i>	141
Lampiran 35. <i>Certificate of Analysis Span 80</i>	143
Lampiran 36. <i>Certificate of Analysis Croduret 50ss</i>	145

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

STUDI IN VITRO PENGARUH SISTEM PENGANTARAN NANOEMULSI
TERHADAP PERMEASI HIDROKLOROTHIAZID

Oleh:
Fadilah Asril
145070501111012

Telah diuji pada
Hari : Kamis
Tanggal : 19 Juli 2018
Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Dra. Diana Lyrawati, M.S., Ph.D., Apt.
NIP. 2016099210192001

Pembimbing-I/Penguji-II

Oktavia Eka Puspita, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIK. 2011068510252001

Pembimbing-II/Penguji-III

Ferri Widodo, M.Biomed., Apt.
NIK. 2009127503151001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,



Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt.
NIP. 195408231981032001

ABSTRAK

Asril, Fadilah. 2018. *Studi In Vitro Pengaruh Sistem Pengantaran Nanoemulsi terhadap Permeasi Hidroklorothiazid*. Pembimbing: (1) Oktavia Eka Puspita, S. Farm., M. Sc., Apt. (2) Ferri Widodo, M. Biomed., Apt

Hidroklorothiazid (HCTZ) merupakan salah satu obat antihipertensi yang diklasifikasikan dalam BCS (*Biopharmaceutical Classification System*) kelas IV. Hal ini menunjukkan bahwa HCTZ memiliki kelarutan dalam air dan permeabilitas melalui membran yang rendah sehingga HCTZ memiliki absorpsi oral yang rendah sekitar 50-60%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh sistem pengantaran nanoemulsi terhadap permeasi hidroklorothiazid dibandingkan dengan makroemulsi melalui model membran secara *in vitro* melalui rute transdermal. Sistem pengantaran nanoemulsi menjadi solusi untuk meningkatkan kelarutan HCTZ dan membantu permeasi HCTZ melalui membran transdermal. Nanoemulsi dibentuk menggunakan *Castor Oil* sebagai fase minyak, Croduret 50ss dan Span 80 sebagai surfaktan, serta Propilen Glikol sebagai kosurfaktan. Sistem nanoemulsi Hidroklorothiazid yang digunakan adalah F1 dengan perbandingan surfaktan: kosurfaktan (3:1) dan fase minyak: *Smix* (1:9) dan F2 (2:8), serta F3 (3:7) yang merupakan makroemulsi. Ukuran droplet yang dihasilkan sediaan F1 sebesar $53,997 \pm 0,137$ nm, F2 sebesar $503,567 \pm 26,509$ nm dan F3 sebesar $5066,667 \pm 92,075$ nm. Konsentrasi pelepasan obat maksimal dicapai pada menit ke 60 dengan % terdifusi F1 yang paling tinggi yaitu $9,641 \pm 0,198$ % dan akumulasi obat yang terdifusi pada menit ke 360 adalah $51,919 \pm 0,935$ %. Apabila dibandingkan dengan sediaan HCTZ oral sediaan F1 menunjukkan bioavailabilitas relatif yang rendah serta tidak mampu menurunkan frekuensi penggunaan obat. Kesimpulan penelitian ini adalah, HCTZ yang diformulasikan dalam nanoemulsi dengan ukuran droplet terendah dapat meningkatkan kemampuan permeasi HCTZ melalui model membran transdermal.

Kata Kunci: hidroklorothiazid, nanoemulsi, pengantaran obat, transdermal, kinetika, difusi

ABSTRACT

Asril, Fadilah. 2018. *In Vitro Study of Nanoemulsion Drug Delivery System on Hydrochlorothiazide Permeation*. Final Assignment. Bachelor of Pharmacy Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisor: (1) Oktavia Eka Puspita, S. Farm., M. Sc., Apt. (2) Ferri Widodo, M. Biomed., Apt

Hydrochlorothiazide (HCTZ) is one of antihypertensive drug that is classified into class IV BCS (Biopharmaceutical Classification System) meaning it has low solubility in water and low penetration through membrane. Thus, HCTZ undergo poor oral absorption approximately 50-60% despite it mostly used via oral route. This study aim to know the effect of nanoemulsion drug delivery system on Hydrochlorothiazide permeation as transdermal drug through *in vitro* membrane model. Nanoemulsion conducted with Castor oil as oil phase, Croduret 50ss and Span 80 as cosurfactant and Propylen Glycole as cosurfactant. The HCTZ nanoemulsion was produced at surfactant:cosurfactant ratio (3:1) and oil phase:Smix ratio (1:9) further called as F1 and was compared to F2 (2:8) and F3 (3:7) as macroemulsion formula. The droplet size result of F1 formula was $53,997 \pm 0,137$ nm, F2 was $503,567 \pm 26,509$ nm, and F3 was $5066,667 \pm 92,075$ nm. The maximum HCTZ released was discovered at minutes 60 with F1 shown the highest drug concentration $9,641 \pm 0,198$ % and cumulative drug release at minutes 360 was $51,919 \pm 0,935$ %. F1 formula shown a low relative bioavailability value and cannot reduce the use frequency compared to oral dosage form. All of the formula shown non Fickian drug release mechanism. The conclusion of this study is nanoemulsion with smalest droplet size improve HCTZ penetration through transdermal membrane.

Keywords: hydrochlorothiazide, nanoemulsion, drug delivery, transdermal route, kinetics, diffusion

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hidroklorothiazid merupakan obat hipertensi golongan diuretik tiazid. Diuretik golongan tiazid sudah lama digunakan dalam pengobatan hipertensi serta merupakan agen antihipertensi yang efektif dan dapat meningkatkan efek obat antihipertensif lainnya (Sica, 2004). Selain digunakan dalam terapi hipertensi hidroklorothiazid juga digunakan pada penyakit gagal jantung kongestif (Beermann & Margaretha, 1979). Hidroklorothiazid diklasifikasikan ke dalam BCS (*Biopharmaceutical Classification System*) kelas IV yang artinya memiliki kelarutan dalam air dan permeabilitas melalui membran yang rendah. Hal ini menyebabkan hidroklorothiazid memiliki absorpsi oral yang rendah yaitu sekitar 50-60 % (Sanphui *et al*, 2015). Hidroklorothiazid pada penelitian ini ditujukan sebagai model obat BCS kelas 4 untuk mengetahui potensi sistem pengantaran nanoemulsi untuk meningkatkan kelarutan dan permeabilitas obat. Penggunaan hidroklorothiazid jangka panjang memungkinkan terjadinya ketidakpatuhan. Selain itu sediaan hidroklorothiazid yang banyak terdapat dipasaran adalah sediaan tablet. Sediaan tablet memiliki kelemahan karena membutuhkan waktu yang lama untuk menghasilkan efek serta memiliki keterbatasan penggunaan pada pasien yang sulit menelan seperti pasien disfagia dan pasien geriatri (Bhowmik *et al*, 2009).

Rute transdermal menjadi salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan konsumsi obat pada penyakit kronis sebagai upaya meningkatkan kepatuhan pengobatan serta untuk menghindari penurunan efektifitas obat akibat metabolisme lintas pertama (Samant *et al*, 2012). Rute transdermal dapat diartikan sebagai pengantaran obat melalui epidermis hingga masuk kedalam pembuluh darah dan memberikan efek sistemik (Khan *et al*, 2012). Namun pengantaran obat melalui rute transdermal memiliki keterbatasan akibat adanya stratum korneum yang menjadi *rate limiting barrier* sehingga laju dan jumlah obat yang dihantarkan tidak adekuat. Teknik nanoemulsi dapat digunakan dalam meningkatkan penetrasi obat melalui rute transdermal (Baboota *et al*, 2007). Nanoemulsi adalah campuran isotropik antara minyak, surfaktan, kosurfaktan, dan obat yang membentuk droplet minyak dalam air (o/w) atau air dalam minyak (w/o) (Priya *et al*, 2015). Nanoemulsi sudah banyak dirancang untuk beberapa aplikasi di bidang farmasi karena kemampuannya dalam melarutkan obat yang bersifat non polar. Sistem pengantaran ini dapat meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas obat yang bersifat lipofilik dengan penggunaan surfaktan dan kosurfaktan. Droplet yang dihasilkan pada nanoemulsi meningkatkan luas permukaan difusi yang mempengaruhi transpor obat (Shafiq-un-Nabi *et al*, 2007).

Bahan pembentuk fase minyak yang akan digunakan pada penelitian ini adalah *castor oil*. *Castor oil* sering digunakan dalam produk obat untuk rute topikal. Surfaktan yang digunakan adalah Croduret 50 (*PEG-50 Hydrogenated Castor Oil*) dan Span 80 (Sorbitan monooleate). Keduanya merupakan jenis surfaktan non ionik yang banyak digunakan untuk proses emulsifikasi dan dispersi obat dan makanan (Rowe

et al, 2009). Selain itu, untuk mengurangi tegangan permukaan dan memungkinkan terbentuknya lapisan antarmuka yang cukup lentur untuk membentuk nanoemulsi dibutuhkan kosurfaktan. Propilen glikol merupakan kosurfaktan larut air yang dapat memodifikasi sifat fisikokimia larutan. Penambahan Propilen Glikol (PG) pada fase air telah menunjukkan peningkatan nilai HLB (*Hydrophobic-lipophilic balance*) serta mempengaruhi ukuran droplet yang dibentuk melalui emulsifikasi spontan (Saberi *et al*, 2013). Propilen glikol dapat melarutkan α -keratin pada stratum korneum dan mengurangi terjadinya ikatan obat dengan jaringan sehingga mendorong terjadinya penetrasi (Patel *et al*, 2012).

Dengan sistem pengantar nanoemulsi diharapkan terjadi peningkatan penetrasi hidroklorothiazid melalui membran dibandingkan dengan sediaan makroemulsi sehingga dapat dijadikan pertimbangan pengembangan pengantaran obat yang memiliki sifat kelarutan dan permeabilitas membran yang rendah.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimanakah pengaruh sistem pengantaran nanoemulsi terhadap permeasi hidroklorothiazid dibandingkan dengan sediaan makroemulsi?

1.3. Tujuan

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pengantaran nanoemulsi terhadap permeasi hidroklorothiazid dibandingkan dengan sedian makroemulsi.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik nanoemulsi hidroklorothiazid antara lain organoleptis, ukuran droplet, polidispersitas, persen transmitan, dan pH.

1.4. Manfaat

1.4.1. Manfaat Akademis

Secara akademis, hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi pembaca mengenai pengaruh sistem pengantaran nanoemulsi dalam penetrasi membran transdermal secara *in vitro*.

1.4.2. Manfaat Praktik

Secara praktis, hasil penelitian dapat menjadi masukan bagi pihak yang memproduksi dan mengembangkan obat dalam pengembangan sediaan terapi yang baru di masa mendatang.

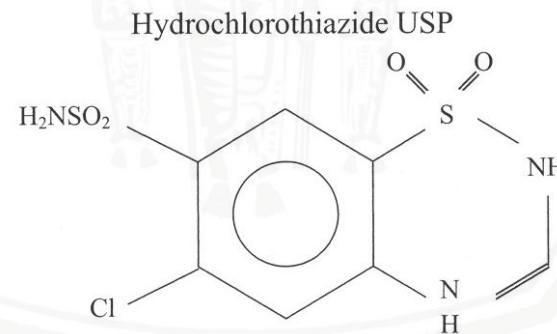
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Hidroklorothiazid

Hidroklorothiazid (HCTZ) merupakan salah satu obat hipertensi golongan diuretik thiazid. Diuretik golongan thiazid banyak digunakan sebagai dasar terapi hipertensi sebagai regimen pengobatan hipertensi stage 1. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa golongan ini dapat mencegah komplikasi penyakit jantung dan vaskuler (Chobanian *et al*, 2003). Golongan ini bekerja sebagai antihipertensi dan mencegah terjadinya resistensi obat-obatan penghambat adrenergik dan vasodilator (Chobanian *et al*, 2003; Shah *et al*, 1978). Golongan ini menghambat reasorpsi Na⁺ / Cl⁻ dari tubulus distal di ginjal. Golongan thiazid menyebabkan hilangnya potassium dan peningkatan serum asam urat. Mekanisme kerja diuretik golongan thiazid dalam mencegah morbiditas dan mortalitas terkait hipertensi belum sepenuhnya dipahami. Golongan thiazid juga menyebabkan vasodilatasi dengan mengaktifkan kanal kalium kalsium pada otot polos pembuluh darah dan menghambat berbagai anhidrida karbonat dalam jaringan vaskular (PubChem, 2017). Beberapa studi menyatakan bahwa golongan thiazid dapat bekerja melalui penurunan volume ekstraseluler (*Extracellular Fluid/ECF*) termasuk volume plasma sehingga terjadi penurunan tekanan darah, serta penurunan resistensi vaskular perifer karena efek vasodilatasinya (Shah *et al*, 1978).

Hidroklorothiazid (HCTZ) merupakan kristal atau serbuk putih, tidak berbau, dan sedikit pahit termasuk dalam golongan benzothiadiazin (PubChem, 2017). Nama kimia dari HCTZ adalah 2*H*-1,2,4-benzothiadiazine-7-sulfonamide, 6-chloro-3,4-dihydro-, 1,1-dioxide (Gambar 2.1) (Carter *et al*, 2004). HCTZ memiliki rumus molekul $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ dengan berat molekul 297,7 (Moffat *et al*, 2011). Hidroklorothiazid memiliki nilai pK_a sebesar 7,9, LogP sebesar -0,07, dan titik leleh 266-268 °C. Satu liter air pada suhu 25 °C dapat melarutkan sebanyak 722 mg hidroklorothiazid yang menunjukkan hidroklorothiazid merupakan zat yang sangat sukar larut (PubChem, 2017). Penggunaan Hidroklorothiazid didasarkan atas penggolongannya yang termasuk BCS (*Biopharmaceutical Classification System*) kelas IV yang menjadikan hidroklorothiazid sebagai kandidat obat serta model obat yang baik untuk dikembangkan melalui sistem pengantaran obat (Sanphui *et al*, 2015).



Gambar 2.1. Struktur Hidroklorothiazid (Carter *et al*, 2004).

2.2. Struktur Kulit

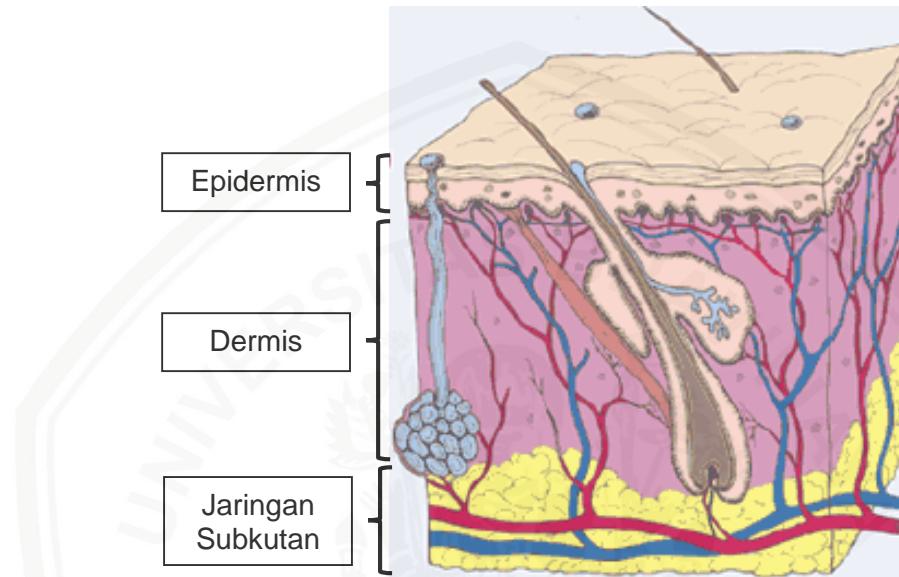
Kulit merupakan organ tubuh yang paling luas dan mudah diakses serta memiliki struktur yang kompleks dan tebal. Fungsi utamanya adalah sebagai

pelindung, pengatur suhu, pengatur keluaran air, dan sensasi. Pada orang dewasa rata-rata luas kulit sebesar 1,73 m² dan mendapatkan 1:3 suplai darah tubuh. Molekul tersebut harus dapat berpenetrasi melalui epidermis, papillary dermis, dan dinding kapiler pembuluh darah atau sistem limfatik. Kulit tersusun atas 2 lapisan utama yaitu epidermis dan dermis dengan ketebalan berturut-turut 0,1 mm dan 1 mm (Gambar 2.2). Selain itu terdapat struktur apendageal yang terdiri dari folikel rambut, kuku, dan kelenjar keringat. Komponen seluler utama epidermis adalah korneosit yang proporsinya hampir > 90% dan memiliki fungsi sebagai barier. Korneosit adalah sel mati berbentuk pipih dan sitoplasmanya tersusun dominan atas keratin. Sel lainnya yang terdapat di epidermis antara lain melanosit, sel langerhan, dan sel marker (Ramteke *et al*, 2012).

Stratum korneum dianggap sebagai *rate limiting barrier* pada permeasi transdermal. Stratum korneum tersusun atas 15-20 lapis korneosit, dan ketika kering tebalnya sekitar 10-15 µm. Saat terhidrasi stratum korneum mengembang hingga mencapai ketebalan µm. Struktur dari stratum korneum dikenal dengan susunan bata dan mortar (*brick and mortar arrangement*), dimana korneosit yang tinggi keratin sebagai bata tertanam pada matriks interseluler tinggi lipid sebagai mortarnya (El Maghraby *et al*, 2008).

Pembuluh darah dan limfa, ujung saraf, unit pilosebaseus (folikel rambut dan kelenjar sebaseus) dan kelenjar keringat terdapat didalam dermis. Folikel rambut dan kelenjar keringat terbuka langsung ke lingkungan pada permukaan kulit dan membentuk rute permeasi senyawa yang disebut dengan rute transappendageal.

Pada bagian dermislah obat dengan rute transdermal memasuki sirkulasi sistemik untuk memberikan efek terapi (Ramteke *et al*, 2012).



Gambar 2.2. Struktur Kulit. Struktur kulit terdiri dari epidermis, dermis dan jaringan subkutan. Dimodifikasi dari : Ramteke *et al.*, 2012.

2.3. Rute Transdermal

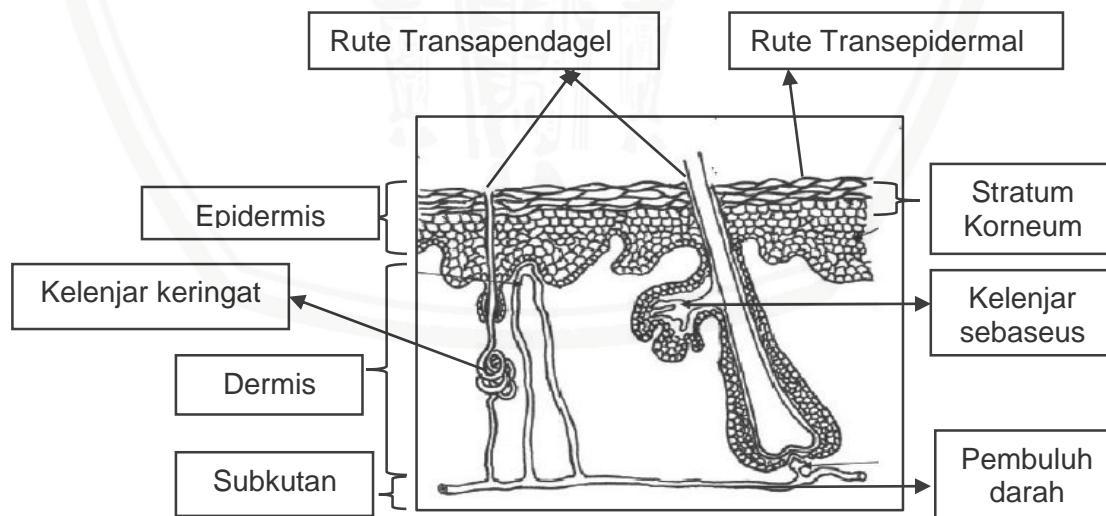
Pengantaran obat melalui kulit untuk mencapai efek sistemik dinamakan sebagai pengantaran obat rute transdermal. Pengantaran rute transdermal memiliki kelebihan diantaranya (Ramteke *et al*, 2012) :

1. Menghindari metabolisme lintas pertama
2. Menjaga konsentrasi obat dalam darah agar konstan dan berdurasi panjang
3. Meningkatkan bioavailabilitas
4. Menurunkan dosis yang dibutuhkan
5. Menghilangkan efek samping yang tidak diinginkan
6. Menghilangkan efek samping pada saluran pencernaan

7. Dapat cepat dihentikan apabila terjadi efek toksik
8. Meningkatkan kepatuhan pasien

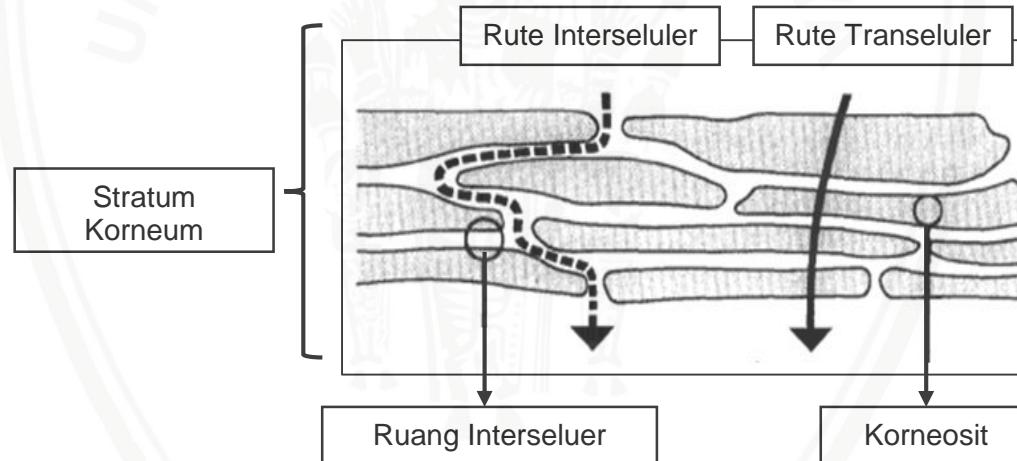
Pengantaran obat melalui kulit untuk penggunaan ke sirkulasi memberikan manfaat dapat menghantarkan obat secara terkontrol pada periode waktu tertentu serta administrasi yang mandiri dan mudah. Selain itu rute transdermal menghilangkan efek samping di saluran pencernaan seperti iritasi yang biasanya terjadi karena penggunaan rute oral. Namun terdapat keterbatasan penggunaan transdermal yaitu adanya *barrier* pada kulit yang menghambat penetrasi obat (Lovelyn *et al*, 2011).

Terdapat dua rute utama permeasi obat melalui kulit yaitu jalur transappendageal dan jalur transepidermal. Jalur transappendageal juga dikenal dengan jalur *shunt*. Jalur ini termasuk permeasi melalui kelenjar keringat dan folikel rambut dengan kelenjar sebaseus (Gambar 2.3).



Gambar 2.3. Rute Penetrasi Transdermal. Jalur penetrasi obat melalui rute transdermal antara lain jalur transappendageal melalui jalur kelenjar keringat dan jalur folikel rambut, serta jalur transepidermal. Dimodifikasi dari : Ramteke *et al*, 2012.

Jalur transepidermal dapat didefinisikan sebagai jalur dimana komponen berpenetrasi melalui stratum korneum yang utuh. Jalur ini dibagi menjadi 2 yaitu interseluler dan transeluler (Gambar 2.4). Pada rute intraseluler senyawa melewati jalur yang berliku-liku dan kontinu melalui bagian lipid interseluler. Sedangkan pada rute transeluler senyawa melewati keratrinosit kemudian melewati lipid intraseluler, pada jalur ini dibutuhkan partisi dan difusi melalui keratin dan juga lipid interseluler. Rute interseluler merupakan rute utama permeasi senyawa walaupun memiliki luas permukaan yang kecil, secara natural molekul akan berpenetrasi melalui kombinasi ketiga rute penetrasi yang telah disebutkan (El Maghraby *et al*, 2008).



Gambar 2.4. Jalur Penetrasi Obat Rute Transepidermal. Jalur penetrasi obat melalui rute transepidermal yaitu rute interseluler dan rute transeluler. Dimodifikasi dari : El Maghraby, 2008.

2.4. Strategi Peningkatan Permeabilitas

Penggunaan rute transdermal menawarkan banyak keuntungan diantaranya meningkatkan kenyamanan pasien dalam pengobatan, terhindar dari gangguan saluran cerna, dan terhindar dari metabolisme lintas pertama. Namun kelemahan

rute ini adalah adanya penghalang/*barrier* oleh kulit yang menyebabkan sulitnya obat masuk ke lokasi aksi pada jumlah dan laju yang cukup. Oleh karena itu dilakukan beberapa pendekatan untuk meningkatkan kemampuan obat berpenetrasi melalui kulit (Finnin *et al*, 2009). Pendekatan yang dapat dilakukan untuk meningkatkan penetrasi obat melalui rute transdermal antara lain interaksi obat dan pembawa, modifikasi stratum korneum, *bypass* atau penghilangan stratum korneum, metode elektrik, serta pembawa dan partikel.

Strategi pembawa dan partikel dilakukan dengan memformulasikan obat ke dalam sistem pengantaran antara lain sistem liposom, solid lipid nanopartikel, niosom, transfersom, etosom, dendrimer, dan nanoemulsi. Dibandingkan dengan sistem pengantaran lain nanoemulsi memiliki kelebihan yaitu mudah menghasilkan ukuran partikel yang kecil. Ukuran droplet nanoemulsi yang kecil menyebabkan rasio permukaan banding volume yang besar sehingga saat kontak dengan kulit terjadi gradien konsentrasi tinggi dan meningkatkan permeasi obat. Disamping itu karena adanya surfaktan dapat menyebabkan tegangan permukaannya rendah menyebabkan pelekatan pada kulit yang baik (Kong *et al*, 2011). Komponen air dari nanoemulsi dapat ke stratum korneum pada kulit dapat mengembangkan dan membuka struktur stratum korneum sehingga terjadi peningkatan penetrasi. Adanya komponen minyak dari nanoemulsi menyebabkan oklusi yang menghambat hilangnya air transepidermal serta penambahan air transepidermal (Patel, 2012).

2.5. Nanoemulsi

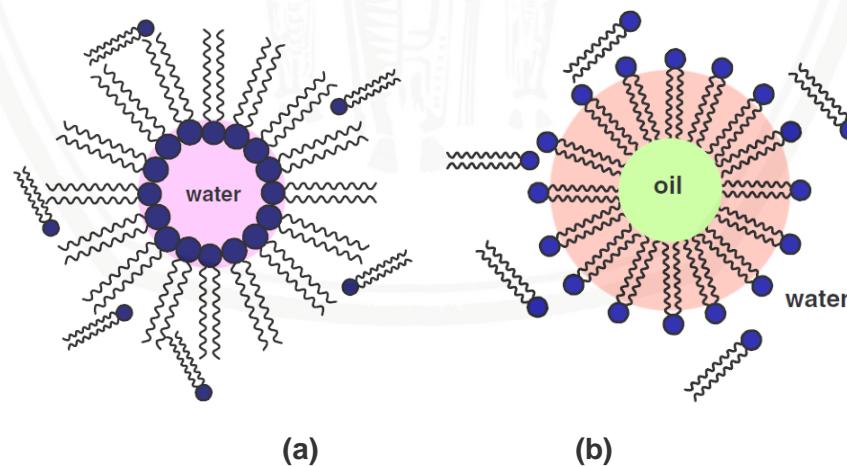
Nanoemulsi merupakan sistem pengantaran obat yang terdiri dari fase air, minyak, dan surfaktan yang membentuk hasil cairan yang bersifat isotropik, stabil

secara termodinamik, dan transparan (Priya *et al*, 2015). Nanoemulsi dapat diformulasikan menjadi jenis minyak dalam air (*oil-in-water*, O/W) atau air dalam minyak (*water-in-oil*, W/O) struktur dapat dilihat di gambar 2.5 (McClements, 2012). Sistem nanoemulsi banyak dikembangkan dalam pengembangan obat karena menghasilkan ukuran droplet yang berkisar antara 10-200 nm, stabil dalam jangka panjang, mudah dibuat, dan dengan mudah melarutkan obat yang bersifat lipofilik (Priya *et al*, 2015). Nanoemulsi dapat melarutkan dan menjerap obat yang bersifat lipofilik dalam jumlah banyak serta dapat melindungi obat dari hidrolisis dan degradasi enzimatik (Lovelyn *et al*, 2011). Penyerapan obat dalam formula merupakan hal yang kritis pada pengembangan nanoemulsi obat lipofilik, yang mana bergantung pada kelarutan obat dalam komponen formula. Oleh karena itu kelarutan obat dalam fase minyak yang baik dibutuhkan untuk memilih jenis fase minyak yang akan digunakan (Azeem *et al*, 2009).

Kelebihan nanoemulsi dalam pengantaran obat antara lain (Lovelyn *et al*, 2011):

1. Ukuran droplet yang kecil sehingga dapat menurunkan gaya grafitasi dan gerak Brown sehingga menurunkan terjadinya *creaming* atau sedimentasi saat penyimpanan.
2. Ukuran droplet yang kecil dapat menghambat terjadinya flokulasi, sehingga emulsi tetap terdispersi merata.
3. Ukuran droplet yang kecil menghambat terjadinya koalesensi karena droplet bersifat elastis.

4. Nanoemulsi cocok untuk pengantaran obat melalui kulit karena luasnya area permukaan untuk berpenetrasi.
5. Transparansi dan fluiditas nanoemulsi menghasilkan rasa nyaman pada kulit.
6. Tidak seperti mikroemulsi, nanoemulsi dibuat dengan konsentrasi surfaktan yang rendah dan telah dinyatakan aman penggunaannya pada manusia (GRAS/ *Generally Recognized as Safe*).
7. Ukuran droplet yang kecil menyebabkan persebaran yang merata. Pembasahan, persebaran, dan penetrasi dapat meningkat karena tegangan permukaan yang kecil.
8. Nanoemulsi dapat digunakan untuk pengantaran pewangi dan parfum yang banyak digunakan pada produk perawatan diri.
9. Nanoemulsi dapat digunakan sebagai pengganti liposom dan pengantaran yang lain yang kurang stabil.



Gambar 2.5. Struktur Nanoemulsi. Struktur nanoemulsi (a) air dalam minyak (W/O) (b) minyak dalam air (O/W) (Malik et al, 2012).

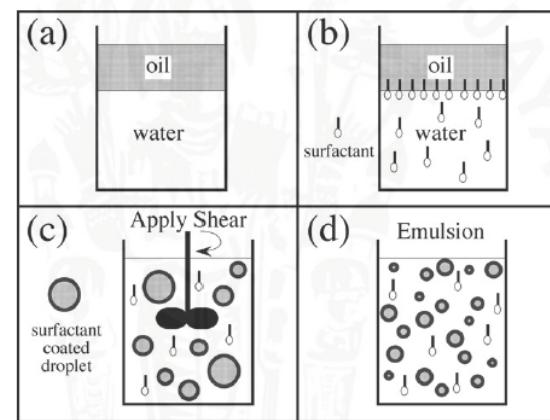
2.5.1. Pembentukan Nanoemulsi

Nanoemulsi dapat dibuat melalui dua cara yaitu metode energi tinggi dan metode energi rendah. Metode energi tinggi dilakukan menggunakan alat mekanik yang mampu menghasilkan kekuatan yang mampu memecah dan membaurkan fase air dan fase minyak, contohnya *high pressure valve homogenization*, mikrofluidasi, dan sonikasi (Shafiq-un-Nabi *et al*, 2007). Metode ini dapat mengontrol ukuran partikel dengan baik dan pembuatan skala besar, namun metode ini tidak dapat digunakan untuk obat-obatan yang bersifat termolabil seperti protein, enzim, dan asam nukleat. Selain itu ukuran partikel yang dihasilkan bergantung pada tipe alat yang digunakan dan kondisi pembuatan seperti waktu dan suhu (Lovelyn *et al*, 2011).

Sedangkan metode energi rendah mengandalkan pengaturan fenomena antarmuka antara fase organik dan fase air serta bergantung pada sifat molekul aktif seperti kelarutan dan geometri molekul (Shafiq-un-Nabi *et al*, 2007). Proses emulsifikasi energi rendah dimodifikasi dengan mengatur parameter-parameter yang dapat mempengaruhi nilai *Hydrophilic Lipophilic Balance* (HLB) seperti komposisi dan temperatur pembuatan (Lovelyn *et al*, 2011).

Metode pembuatan nanoemulsi yang dipilih adalah metode energi rendah yaitu metode emulsifikasi spontan. Penggunaan metode energi rendah memiliki beberapa kelebihan dibanding metode energi tinggi antara lain lebih efektif dalam membentuk droplet yang baik, peralatan yang dibutuhkan tidak terlalu canggih dan harga murah, serta mudah untuk dilakukan. Kerugian dari metode energi rendah antara lain penggunaan tipe minyak dan surfaktan yang terbatas serta dibutuhkan

ratio surfaktan/minyak (*surfactant/oil ratios*) yang tinggi untuk membentuk nanoemulsi (Chang *et al*, 2014). Nanoemulsi yang dibuat secara spontan dilakukan dengan mencampurkan minyak, air, surfaktan, dan kosurfaktan pada jumlah yang tepat dengan pengadukan ringan. Proses pembentukan nanoemulsi dapat dilihat pada gambar 2.6. Urutan pencampuran dianggap bukan hal yang kritis karena pada metode ini secara spontan nanoemulsi akan terbentuk sendirinya. Walaupun nanoemulsi terbentuk spontan, kekuatan yang dibutuhkan kecil dan membutuhkan waktu yang panjang untuk mencapai kesetimbangan (Shafiq-un-Nabi *et al*, 2007).



Gambar 2.6. Proses Terbentuknya Emulsi. Proses terbentuknya emulsi. (a) dua larutan yang tidak bercampur seperti minyak dan air akan membentuk dua lapisan terpisah dimana cairan yang kurang rapat berada diatas (b) penambahan surfaktan akan menurunkan tegangan antarmuka minyak dan air (c) adanya gaya agitasi menyebabkan minyak berubah menjadi droplet yang diselubungi surfaktan yang mencegah terjadinya koalesensi karena adanya tolakan antarmuka (d) terbentuk emulsi (Mason *et al*, 2006).

2.5.2. Sistem *Hydrophilic-Lipophilic Balance*

Untuk mendapatkan efek maksimum, surfaktan diklasifikasikan berdasarkan ionisasi, tipe kimia, nomenklatur, serta perilaku dan kelarutan dalam air. Klasifikasi yang paling banyak digunakan adalah klasifikasi berdasarkan perilaku dan kelarutan dalam air. Sistem klasifikasi ini disebut juga sistem HLB (*Hydrophilic-Lipophilic*

Balance). Sistem HLB bertujuan untuk menentukan surfaktan mana yang bekerja paling baik pada fase minyak. Surfaktan memiliki bagian hidrofilik yang tersusun atas gugus yang larut air dan bagian lipofilik yang tersusun atas asam lemak atau lemak alkohol. Proporsi persen berat antara bagian hidrofilik dan lipofilik inilah yang akan menunjukkan perilaku surfaktan. Surfaktan yang cenderung bersifat lipofilik diberi nilai HLB rendah, sebaliknya surfaktan yang cenderung bersifat hidrofil diberi nilai HLB tinggi dari skala 1 hingga 40. Sistem ini sangat berguna untuk menentukan penggunaan surfaktan (Gadhav & Ashis, 2014).

Tabel 2.1. Aplikasi Surfaktan Berdasarkan Nilai HLB (Gadhav & Ashis, 2014).

Rentang HLB	Aplikasi
4-6	Pengemulsi w/o
7-9	Agen pembasah
8-18	Pengemulsi o/w
13-15	Detergen
10-18	Pelarut

Required Hydrophilic-Lipophilic Balance (rHLB) adalah jumlah surfaktan yang dibutuhkan untuk menjaga minyak dalam larutan. rHLB dari minyak digunakan untuk menentukan tipe emulsi yang digunakan dan menentukan rasio optimum penggunaan 2 surfaktan pada minyak dilakukan agar didapatkan emulsifikasi paling baik. Cara menghitung HLB minyak adalah sebagai berikut (Gadhav & Ashis, 2014):

$$rHLB = \frac{B \times HLB_B + A \times HLB_A}{A+B} \quad \dots \dots \dots \quad (2.1)$$

Keterangan :

rHLB : Required Hydrophilic-Lipophilic Balance

A & B : Berat surfaktan A & B

HLB_A & HLB_B : Nilai HLB surfaktan A dan B

2.5.3. Evaluasi Nanoemuls

2.5.3.1. Organoleptis

Uji organoleptis didasarkan oleh penggunaan panca indra. Uji organoleptis sediaan nanoemulsi dilakukan dengan mengamati warna, bau, kejernihan, dan homogenitas nanoemulsi (Lawrence & Ress, 2000).

2.5.3.2. Ukuran Droplet dan Polidispersitas

Pengujian ukuran partikel dilakukan untuk mengetahui ukuran partikel yang terbentuk memenuhi kriteria ukuran partikel nanoemulsi. Hasil pengukuran droplet dinyatakan dalam satuan diameter yang terukur dari droplet yang terdapat pada medium dispersi (Volker, 2009).

Indeks polidispersitas (PDI) adalah ukuran dari distribusi massa molekul dalam sampel tertentu. Nilai PDI menunjukkan hasil perhitungan berat rata-rata berat molekul dibagi dengan jumlah rata-rata berat molekul. Semakin mendekati nol berarti distribusinya semakin merata (Haryono dkk, 2012). Apabila nilai PDI dalam rentang 0,01-0,7 sediaan termasuk kategori monodispersi, apabila nilai indeks polidispersitas >0,7 maka termasuk kategori polidispersitas (Nidhin *et al*, 2008).

Analisa ukuran partikel, polidispersitas, dan zeta potensial dapat dilakukan dengan metode *Photon Correlation Spectroscopy* (PCS). PCS digunakan untuk menganalisa fluktuasi terhadap intensitas penghamburan akibat gerak Brown droplet. Ukuran droplet, polidispersitas dan zeta potensial dapat diketahui dengan metode PCS menggunakan *particle size analyzer*. Alat ini juga dapat mengukur indeks polidispersitas sehingga dapat diketahui distribusi ukuran droplet yang menunjukkan tingkat homogenitas nanoemulsi (Lovelyn *et al*, 2011).

2.5.3.3. Persen Transmitan

Persen transmitan (%T) merupakan salah satu analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang dilakukan dengan membaca serapan radiasi elektromagnetik. Semakin jernih suatu sampel maka transmitannya semakin mendekati blanko. Ketika cahaya jatuh pada suatu senyawa, maka sebagian dari senyawa tersebut akan diserap oleh molekul-molekul yang sesuai struktur dari molekul. Frekuensi yang diserap setiap senyawa sangat spesifik karena perbedaan energi antara tingkat dasar dan tingkat tereksitasi setiap senyawa juga spesifik (Mulja dan Suharman, 1995). Hubungan antara transmitan atau serapan terhadap intensitas radiasi atau konsentrasi zat yang dianalisis tergambar pada teori Lambert dan Beer.

$$T = \frac{I_t}{I_0} = 10e^{-\varepsilon.c.b}(2.2)$$

$$A = \log \frac{1}{T} = \varepsilon.c.b(2.3)$$

Keterangan :

T = Transmitan

A = Absorbansi

I_0 = Intensitas radiasi yang datang

I_t = Intensitas radiasi yang diteruskan

ε = Absorbansi molar ($Lt.mol^{-1}.cm^{-1}$)

c = Konsentrasi ($mol.Lt^{-1}$)

b = Larutan (cm)

2.5.3.4. Studi Permeasi *In Vitro*

Profil pelepasan obat pada sediaan nanoemulsi dapat diketahui menggunakan *Franz Diffusion Cell*. Luas atau dalamnya obat yang dilepaskan dapat divisualisasi dengan *Confocal Scanning Laser Microscopy*. Pelepasan obat *in vitro* ditentukan dengan mendispersikan sejumlah sediaan pada bagian kompartemen donor *Franz cell*, kemudian dipantau sediaan yang dapat melewati membran di media penerima. Sebanyak 1 ml sampel dari media diambil dan digantikan dengan cairan medium pada jumlah yang sama. Sampel tersebut kemudian difiltrasi dengan filter 0,22-50 μm dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang yang sesuai. Membran yang digunakan adalah kulit ular, hal ini dikarenakan kulit ular memiliki karakteristik yang sama dengan stratum korneum manusia yaitu pada ketebalannya dan komposisinya yaitu tersusun atas sel

squamosa yang tipis dan pipih yang dikelilingi fosfolipid interseluler (Kumpugdee-Vollrath *et al*, 2013; Abd E *et al*, 2016). Selain itu kulit ular dapat diperoleh tanpa membunuh ular tersebut karena kulit dapat diperoleh melalui pergantian kulit. Kekurangan dari penggunaan kulit ular adalah kurangnya folikel rambut dibandingkan kulit manusia (Kumpugdee-Vollrath *et al*, 2013). Namun menurut Shakeel *et al* (2014) dalam penelitian berjudul “Skin Permeation Mechanism of Aceclofenac Using Novel Nanoemulsion Formulation”, mekanisme nanoemulsi dalam mengantarkan obat melalui rute transdermal adalah melalui mekanisme rute transepidermal dengan jalur transeluler, oleh karena itu tetap digunakan kulit ular. Aliran obat yang melewati membran dihitung menggunakan rumus (Lovelyn *et al*, 2011):

$$J = D \frac{dc}{dx}(2.4)$$

Keterangan :

J : Aliran (atom/m²s)

D : Koefisien difusi (m²/s)

$\frac{dc}{dx}$: Gradien konsentrasi (atom/m⁴)

2.6. Kinetika Pelepasan Obat

Pelepasan obat adalah proses dimana zat terlarut obat berpindah dari posisi awal dalam sistem polimer menuju ke bagian luar sistem polimer dan kemudian dilepaskan ke media. Proses ini dipengaruhi beberapa faktor diantaranya sifat fisikokimia zat terlarut, karakteristik struktur dari bahan, lingkungan pelepasan, dan interaksi yang dapat terjadi antara faktor-faktor tersebut. Dalam optimasi sebuah formulasi khususnya formulasi lepas lambat sangat penting untuk mengetahui profil

pelepasannya oleh karena itu dilakukan pendekatan matematik. Tujuan model matematis adalah untuk menyederhanakan proses pelepasan yang rumit dan mengetahui mekanisme pelepasan dari suatu bahan (Fu *et al*, 2010).

2.6.1. Persamaan Kinetika Orde Nol

Kinetika orde nol menunjukkan pelepasan obat merupakan fungsi waktu dimana pelepasan obat konstan per satuan waktu. Untuk mempelajari kinetika pelepasan, data yang didapatkan melalui uji *in vitro* diplot sebagai jumlah kumulatif obat yang dilepaskan terhadap waktu (Dash *et al*, 2010). Model ini bisa digunakan untuk menentukan disolusi obat dengan pelepasan lambat misalnya transdermal, matriks tablet obat yang memiliki kelarutan rendah, sistem osmotik dan lain-lain (Kalam *et al*, 2007).

$$M_t = M_0 + K_0 \cdot t \quad \dots \dots \dots \quad (2.5)$$

Keterangan :

M_t = jumlah HCTZ berpenetrasi pada waktu t

M_0 = jumlah HCTZ berpenetrasi pada waktu 0

K_0 = konstanta laju penetrasi menurut orde 0

2.6.2. Persamaan Kinetika Orde Satu

Model ini digunakan untuk menjelaskan adsorpsi atau eleminasi beberapa obat. Model ini menunjukkan perubahan konsentrasi per waktu dipengaruhi oleh konsentrasi, dimana jumlah obat uang dikeluarkan sebanding dengan unit waktu yang berkurang. Data yang didapatkan diplot menjadi log kumulatif persen obat yang tersisa terhadap waktu, dimana akan dihasilkan garis linier dengan slop $-K/2,303$

(Dash *et al*, 2010). Bentuk sediaan dengan kinetika orde satu obat larut dalam air dalam matriks berpori (Kalam *et al*, 2007),

$$\log M_t = \log M_0 + \frac{\log K_1}{2.303} \cdot t \quad \dots\dots\dots(2.6)$$

Keterangan :

M = konsentasi obat

M_t = jumlah HCTZ berpenetrasi pada waktu t

M_0 = jumlah HCTZ berpenetrasi pada waktu 0

K_1 = konstanta laju penetrasi menurut orde 1

2.6.3. Persamaan Kinetika Higuchi

Higuchi mendeskripsikan pelepasan obat merupakan proses difusi berdasarkan hukum Fick, tergantung akar waktu. Model ini didasarkan pada hipotesis bahwa (1) Konsentrasi awal obat dalam matriks jauh lebih tinggi dari pada kelarutan obat; (2) Difusi obat hanya terjadi dalam satu dimensi; (3) Partikel obat jauh lebih kecil dari pada ketebalan sistem; (4) Pembengkakan matriks dan disolusi diabaikan; (5) Difusi obat adalah konstan; dan (6) Kondisi yang sempurna selalu dicapai dilingkungan pelepasan (Dash *et al*, 2010).

Pelepasan obat yang mengikuti mekanisme difusi terdapat hubungan linear antara jumlah obat yang dilepaskan terhadap akar waktu. Data yang diperoleh diplot sebagai kumulatif persentase obat yang dilepaskan terhadap akar waktu (Dash *et al*, 2010). Sediaan yang mengikuti persamaan Higuchi adalah sediaan pelepasan termodifikasi seperti sistem transdermal dan matriks tablet (Kalam *et al*, 2007).

Keterangan :

M_t = jumlah HCTZ yang berpenetrasi pada waktu

K_H = konstanta laju penetrasi menurut *Higuchi*

2.6.4. Persamaan Kinetika Korsmeyer Peppas

Persamaan Korsmeyer-Peppas diperoleh dari plot log persen obat terdisolusi sebagai fungsi log waktu.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{KP} \cdot t^n \dots \quad (2.8)$$

Keterangan :

$\frac{M_t}{M_\infty}$ = jumlah HCTZ yang berpenetrasi pada waktu t

k_{KP} = konstana pelepasan

n = eksponensial difus

Pada model ini nilai n digunakan untuk menunjukkan mekanisme pelepasan yang berbeda. Nilai $n \leq 0,45$ menunjukkan mekanisme pelepasan dikontrol oleh difusi Fick, nilai n yang dengan rentang $0,45 < n$ menunjukkan transport non-Fick, nilai $n=0,89$ menunjukkan pelepasan melalui *case II transport*, dan nilai $n>0,89$ menunjukkan bahwa pelepasan melalui *super case II transport*. Data yang didapat diplot menjadi log kumulatif persen pelepasan obat terhadap waktu (Dash *et al.*, 2010).

2.7. Monografi Bahan

2.7.1. Castor Oil

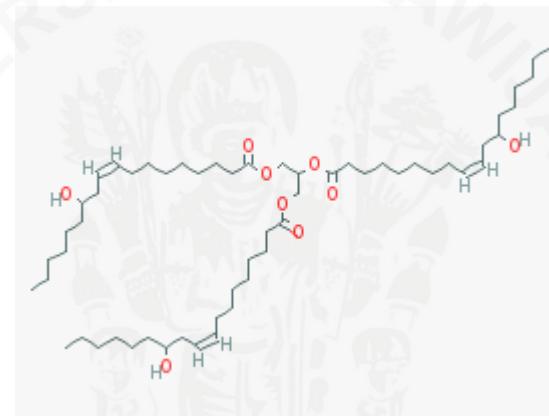
Berikut deskripsi bahan asam oleat (Rowe *et al*, 2009; PubChem, 2017) :

Pemerian : minyak kental jernih tak berwarna hingga kuning pucat

Nama Lain : Oleum Ricini, Lipovol CO

Nama Kimia : *Castor oil*

Struktur Kimia :



Gambar 2.7. Struktur *Castor Oil* (Pubchem, 2017).

Komponen penyusun : Minyak jarak merupakan trigliserida dari asam lemak.

Komposisi asam lemak kira kira asam ricinoleic (87%); asam oleat (7%); asam linoleat (3%); asam palmitat (2%); asam stearat (1%) dan sedikit asam dihidroksi sterarat.

Kelarutan : tercampur dengan kloroform, dietil eter, etanol, asam asetat glasial, dan metanol. Mudah larut dalam etanol (95%) dan petroleum eter, secara praktis tidak larut dalam air. Secara praktis tidak larut dalam minyak mineral kecuali jika dicampur dengan minyak sayur lainnya

Titik didih/titik leleh : 313 °C/ -12 °C

Stabilitas : *Castor oil* bersifat stabil dan tidak berubah tengik kecuali jika terkena panas berlebihan. *Castor oil* disimpan pada suhu tidak lebih dari 25 °C di dalam wadah kedap udara dan terhindar dari cahaya.

Inkompatibilitas : inkompatibel dengan agen pengoksidasi kuat

2.7.2. Croduret 50ss

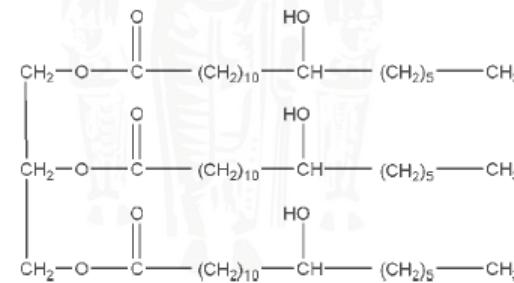
Berikut deskripsi bahan Croduret 50ss (Rowe *et al*, 2009; MSDS, 2017) :

Pemerian : cairan kental putih hingga putih kekuningan, hampir tidak berbau

Nama Lain : Croduret 50 spesial, Croduret 50SPG

Nama Kimia : Polyoxy 50 Hydrogenated Castor Oil

Struktur Kimia :



Gambar 2.8. Struktur Croduret 50ss (Rowe *et al*, 2009).

Rumus Molekul : $\text{C}_{59}\text{H}_{9}\text{O}_{110}$

Bobot molekul : 939,50

Kelarutan : Larut dalam air

Titik didih/titik leleh : -/20-26°C

Stabilitas : Stabil

Inkompatibilitas : -

2.8.3. Span 80

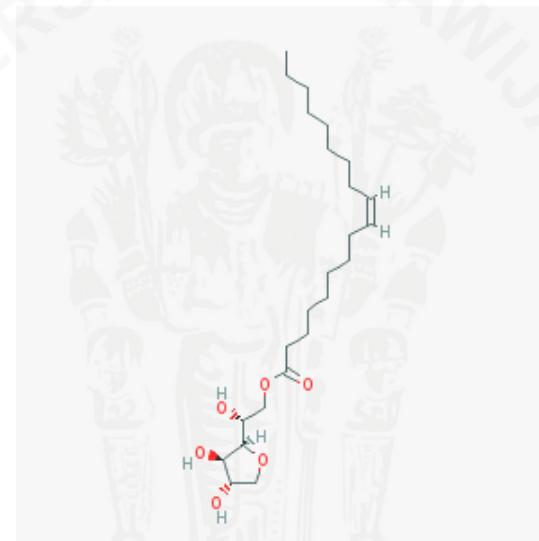
Berikut deskripsi bahan Span 80 (Rowe *et al*, 2009; PubChem, 2018) :

Pemerian : cairan berminyak kental berwarna kecoklatan,

Nama Lain : Arlacel 80, Span 80, Sorbitan, mono-(9Z)-9-octadecenoate

Nama Kimia : Sorbitan monooleate

Struktur Kimia :



Gambar 2.9. Struktur Span 80 (Pubchem, 2018).

Rumus Molekul : $C_{24}H_{44}O_6$

Bobot molekul : 428,61

Kelarutan : Larut pada suhu diatas suhu lelehnya dalam etanol, eter, etil asetat, anilin, toluen, dioxane, petroleum eter, dan karbo-tetraklorid. Tidak larut dalam air panas maupun dingin

Titik didih/titik leleh : -

Stabilitas : Terbentuk sabun apabila bertemu dengan asam atau basa kuat.

Harus disimpan dalam wadah tertutup rapat, tempat yang sejuk dan kering

Inkompatibilitas :-

2.7.4. Propilen Glikol

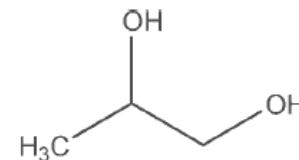
Propilen glikol telah banyak digunakan sebagai pelarut, pengekstrak, dan pengawet pada formulasi farmasi baik sediaan parenteral maupun non parenteral, selain itu propilen glikol cenderung tidak toksik. Dibandingkan dengan glicerin, propilen glikol lebih mampu melarutkan berbagai macam bahan seperti kortikosteroit, fenol, obat-obatan sulfa, barbiturat, vitamin A dan D, alkaloid, dan anestesi lokal. Pada penggunaan topikal, dianggap memberikan efek iritasi yang minimal. Propilen glikol dapat diabsorpsi secara baik saat diaplikasikan pada kulit yang rusak (Rowe *et al*, 2009). Kelarutan hidroklorthiazid dalam propilen glikol sebesar 53.60 ± 1.05 mg/dl (Yadav *et al*, 2014). Berikut deskripsi bahan Propilen Glikol (Rowe *et al*, 2009) :

Pemerian : cairan bening, tidak berwarna, kental, praktis tidak berbau dengan rasa manis dan sedikit tajam menyerupai gliserin.

Nama Lain : methylglycol, propylenglycolum

Nama Kimia : 1,2 – Propenediol

Struktur Kimia :



Gambar 2.10. Struktur Propilen Glikol (Rowe *et al*, 2009).

Rumus Kimia : $C_3H_8O_2$

Bobot molekul : 76,09

Kelarutan : Tercampur dengan aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin, dan air.

Larut dalam 1 banding 6 nagian eter. Tidak bercampur dengan mineral ringan atau minyak non volatil, tapi dapat larut dengan beberapa minyak esensial

Titik didih dan titik leleh : 188 °C/ -59 °C

Stabilitas : stabil bila dicampur dengan etanol (95%), gliserin atau air.

Sebaiknya disimpan pada wadah tertutup rapat dan sejuk

Inkompatibilitas : inkompatibel dengan agen pengoksidasi seperti potassium permanganat.

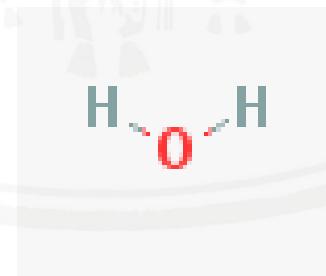
2.7.5. Akuades (PubChem, 2017; FI III, 1979).

Pemerian : Cairan jernih ,tidak berbau, tidak berwarna

Nama Lain : dihydrogen oxide

Nama Kimia : air

Struktur Kimia :



Gambar 2.11. Struktur Akuades (PubChem, 2017).

Rumus kimia : H_2O

Bobot molekul : 18,015

Titik didih dan titik leleh : $100^{\circ}\text{C}/0^{\circ}\text{C}$

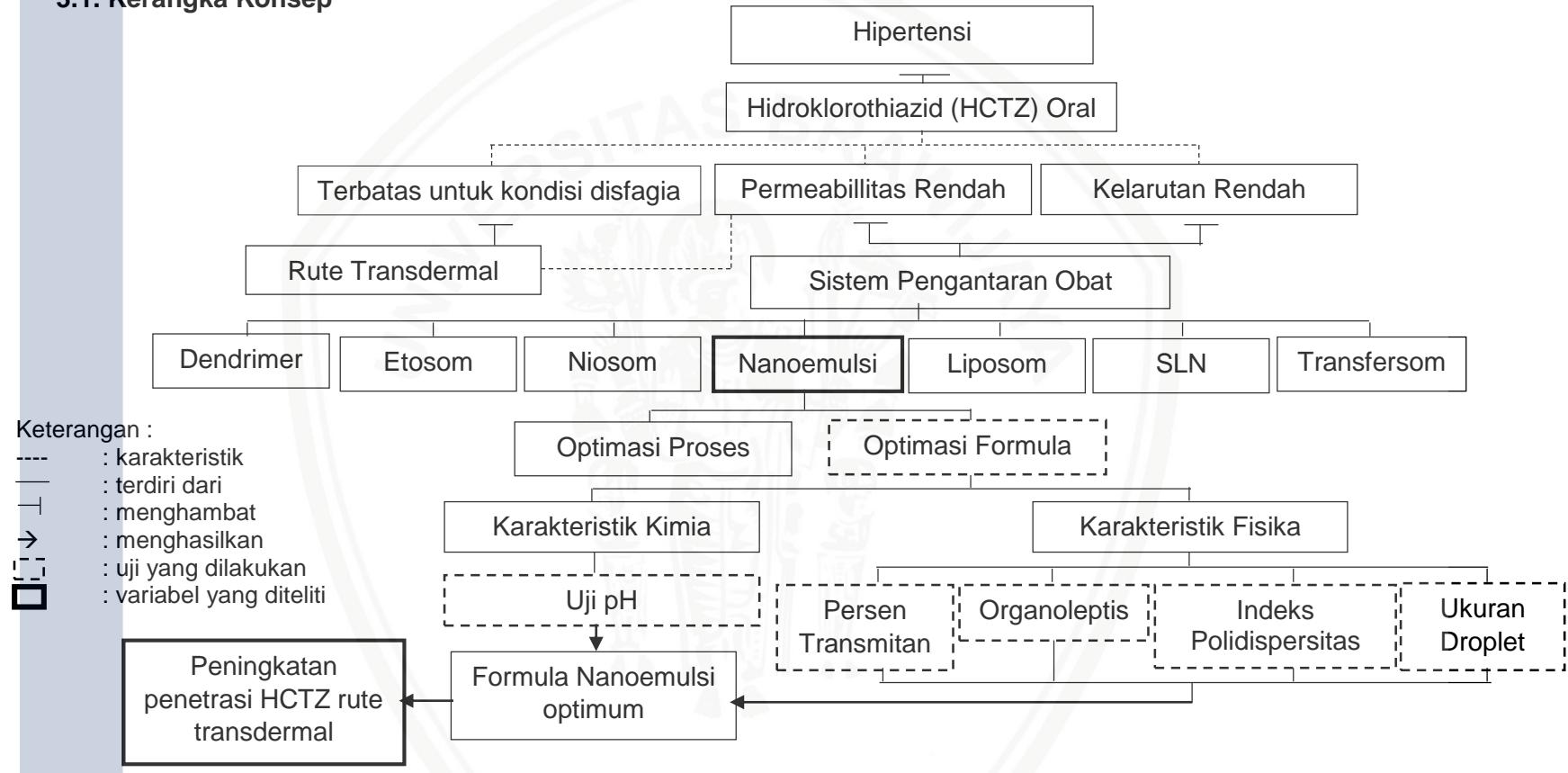
Stabilitas : Stabil disemua kedaan fisik

Inkompatibilitas : Terjadi dekomposisi jika terdapat air dan kelembaban pada peningkatan temperatur. Air bereaksi secara kuat dengan logam alkali dan beraksi cepat dengan logam alkali tanah dengan garam anhidrat menjadi bentuk hidrat.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Kerangka Konsep Penelitian

Hidroklorothiazid merupakan obat golongan diuretik thiazid yang banyak digunakan karena dapat mengontrol tekanan darah, meningkatkan efek antihipertensi obat lainnya, dan memiliki harga murah. Hidroklorothiazid digunakan pada terapi hipertensi stage 1. Permasalahan yang terjadi adalah hidroklorothiazid diklasifikasikan kedalam BCS Class IV (*Biopharmaceutical Classification System*) yang berarti memiliki kelarutan dan permeabilitas rendah sehingga memiliki absorpsi oral yang rendah. Salah satu alternatif penggunaan obat adalah dengan rute transdermal. Rute transdermal dapat digunakan pada pasien dengan kondisi disfagia atau sulit menelan. Namun rute transdermal memiliki keterbatasan karena adanya *rate limiting barrier* berupa stratum korneum sehingga dapat menurunkan laju dan jumlah obat yang berpenetrasi melalui rute transdermal. Oleh karena itu dilakukan peningkatan kelarutan sekaligus penetrasi obat melalui sistem pengantaran nanoemulsi.

Sistem pengantaran nanoemulsi terdiri dari fase air, minyak, surfaktan, dan kosurfaktan yang dapat mengecilkan ukuran droplet sehingga dapat meningkatkan jumlah yang tertransport melalui membran. Nanoemulsi dapat diaplikasikan melalui banyak rute salah satunya rute topikal. Pada penelitian ini dilakukan variasi perbandingan konsentrasi fase minyak, surfaktan, dan kosurfaktan untuk mendapatkan nanoemulsi dengan efektifitas yang baik untuk meningkatkan penetrasi HCTZ yang baik melalui kulit. Selain melakukan uji permeasi *in vitro* dilakukan juga analisa ukuran partikel, indeks polidispersitas, pH, uji organoleptis, dan uji persen transmitan.

Penggunaan surfaktan diketahui dapat meningkatkan kelarutan obat yang bersifat lipofilik dalam air dengan menurunkan tegangan antarmuka fase minyak dan

fase air. Pada penelitian sebelumnya diketahui peningkatan konsentrasi propilen glikol dapat meningkatkan kelarutan obat dan juga berkaitan dengan peningkatan penetrasi obat melalui rute transdermal (Acharya *et al*, 2013; Kouchak *et al*, 2014). Propilen glikol dapat melarutkan α -keratin pada stratum korneum dan mengurangi terjadinya ikatan obat dengan jaringan sehingga mendorong terjadinya penetrasi (Patel *et al*, 2012).

3.2. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah jumlah hidroklorothiazid dari formula nanoemulsi yang berpermeasi melalui membran uji lebih tinggi dibandingkan sediaan makroemulsi.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Desain penelitian ini menggunakan metode eksperimental untuk menjelaskan adanya hubungan sebab akibat antar variabel melalui pengujian hipotesis. Analisa yang dilakukan dengan metode *Post Test Only*. Dalam penelitian dilakukan manipulasi formula untuk mendapatkan formula yang optimal dilihat dari karakteristik akhir sediaan jadi.

4.2. Variabel Penelitian

Variabel penelitian meliputi,

1. Variabel belas

Jenis sistem pengantaran Hidroklorothiazid antara lain nanoemulsi dan makroemulsi.

2. Variabel terikat

Jumlah Hidroklorothiazid yang berpermeasi dari sediaan nanoemulsi menembus membran difusi, serta karakter fisik dan kimia sediaan.

4.3. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga Juni tahun 2018 di Laboratorium Farmasetika Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya dan Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.

4.4. Bahan dan Alat

4.4.1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Hidroklorothiazid (PT. Kimia Farma plant Bandung), *Castor oil* (PT. Kimia Farma plant Semarang), Propilen Glikol (CV. Makmur Sejati), Crosuret 50 (Croda Singapore Pte Ltd), Span 80 (Croda Singapore Pte Ltd), dan Akuades (CV. Makmur Sejati), serta kulit ular *Phyton morulus* (Reptil Lovers Malang).

4.4.2. Alat

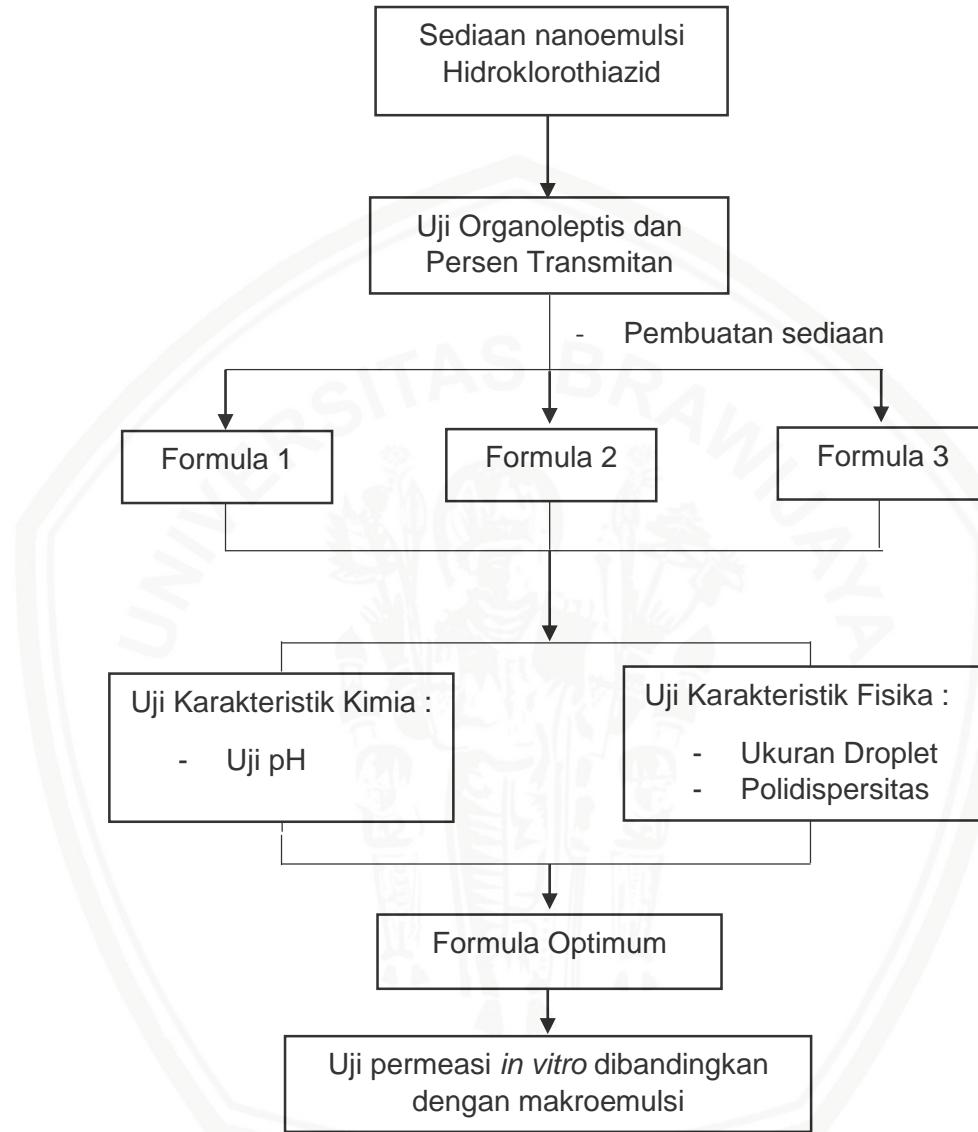
Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan digital (OHAUS Pioneer), *magnetic stirrer* Arec Velp Scientific, pH meter (HM-30R, TOA), Spektrofotometer UV (Shimadzu 1800, Uvmini-1240), Particle Size Analyzer (Malvern Zetasizer, CILAS 1090 Liquid), *Franz Diffusion Cell*, dan peralatan gelas.

4.5. Definisi Operasional

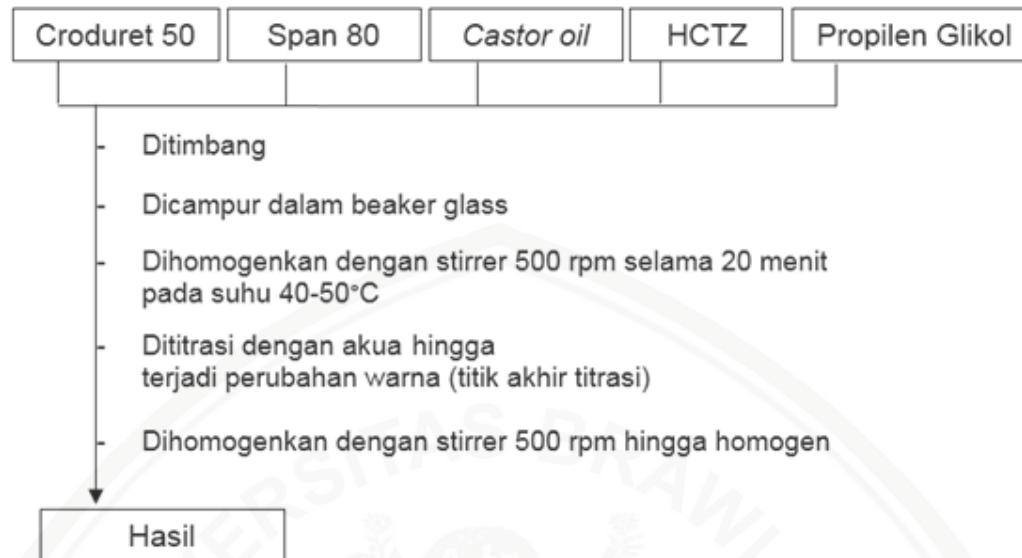
1. Nanoemulsi adalah istilah formulasi minyak dalam air atau sebaliknya yang distabilkan oleh surfaktan dan kosurfaktan yang membentuk droplet berukuran 10-200 nm yang mengandung sediaan aktif.
2. Makroemulsi adalah istilah formulasi minyak dalam air atau sebaliknya yang distabilkan oleh surfaktan membentuk droplet berukuran diatas 1000 nm yang mengandung sediaan aktif.

3. Uji permeasi *in-vitro* adalah uji untuk menentukan kemampuan sediaan nanoemulsi hidroklorothiazid berpenetrasi melalui membran kulit.
4. Minyak adalah bahan yang digunakan untuk melarutkan hidroklorothiazid
5. Surfaktan adalah bahan yang digunakan untuk dapat menyatukan fase minyak dan fase air untuk membentuk nanoemulsi.
6. Kosurfaktan adalah bahan yang digunakan untuk meningkatkan efek surfaktan dalam menurunkan tegangan antarmuka fase minyak dan fase air
7. Formula optimum adalah formula nanoemulsi hidroklorothiazid yang memiliki karakteristik fisika dan kimia paling baik.
8. Uji organoleptis, persen transmitan, efisiensi penyerapan, ukuran partikel, polidispersitas, dan pH merupakan karakteristik yang ikut diuji dalam penelitian ini.

4.6. Skema Kerja



Gambar 4.1. Kerangka Alur Kerja Pembuatan Nanoemulsi Hidroklorothiazid



Gambar 4.2. Alur Kerja Pembuatan Nanoemulsi dan Makroemulsi

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Pembuatan Nanoemulsi dan Makroemulsi Hidroklorothiazid

Pembuatan nanoemulsi dan makroemulsi HCTZ dilakukan dengan beberapa tahap. Ditimbang croduret 50, span 80, HCTZ, castor oil dan propilen glikol, kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 500 rpm selama 20 menit pada suhu 40-50°C. Dilakukan titrasi dengan akuades hingga berubah warna menjadi keruh (titik akhir titrasi), kemudian dilakukan evaluasi.

4.7.2. Uji *In Vitro* Sediaan

Uji *in vitro* dilakukan dengan menggunakan *Franz Diffusion Cell*, dijelaskan dalam beberapa tahap. Sel aseptor diisi dengan PBS pH 7,4 sebanyak 14 ml, kemudian sel donor diisi dengan sediaan sebanyak 1 gram. Dikondisikan alat pada suhu 32 ± 2 °C serta kecepatan 600 rpm. Dilakukan sampling sebanyak 1,5 ml pada

menit ke 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300, dan 360. Ditambahkan PBS ke dalam sel aseptor setelah sampling, sebanyak 1,5 ml. Dilakukan pengenceran sampel dengan methanol hingga 5 ml, kemudian diukur absorbansi sampel pada panjang gelombang 270 nm.

4.8. Formula Optimum

Nanoemulsi dan emulsi dibuat menggunakan fase minyak castor oil, fase air aquades, surfaktan Croduret 50 dan Span 20, serta kosurfaktan Propilen Glikol dengan perbandingan penggunaan *Smix* (surfaktan dan kosurfaktan) 3:1 dan perbandingan fase minyak dengan *Smix* antara lain 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, dan 9:1. Melalui penelitian sebelumnya didapatkan 2 formula nanoemulsi yaitu formula dengan perbandingan minyak dan *Smix* 1:9 dan 2:8 (Islamiyah, 2018).

Kedua formula nanoemulsi kemudian dibandingkan dengan formula makroemulsi yang memiliki perbandingan *Smix* (surfaktan dan kosurfaktan) 1:1 dan perbandingan fase minyak : *Smix* sebesar 3:7.

Tabel 4.1. Komposisi Formula Nanoemulsi dan Makroemulsi Hidroklorothiazid (Islamiyah, 2018).

Fase Minyak : <i>Smix</i>	Smix (Surfaktan : Kosurfaktan → 3 :1)					
	HCTZ (g)	Castor oil (g)	Surfaktan		Kosurfaktan PG	
			Croduret 50	Span 80		
1:9	0,0125	2	13,362	0,138	4,5	
2:8	0,0125	2	5,939	0,061	2	
3:7	0,0125	2	3,467	0,036	1,168	

Jumlah surfaktan yang digunakan ditentukan melalui perhitungan rHLB (Gadhav & Ashis, 2014). Dimana rHLB *castor oil* sebesar 14; HLB Croduret 50 sebesar 14,1; dan HLB Span 80 sebesar 4,3.

$$\begin{aligned}\text{Fraksi Croduret 50} &= \frac{r\text{HLB Castor Oil} - \text{HLB Span 80}}{\text{HLB Croduret} - \text{HLB Span 80}} \times 100 \% \\ &= \frac{14 - 4,3}{14,1 - 4,3} \times 100 \% = \frac{5,4}{6,4} \times 100 \% = 98,98 \%\end{aligned}$$

$$\text{Fraksi Span 80} \rightarrow 100 \% - 98,98 \% = 1,02 \%$$

4.9. Evaluasi Nanoemulsi dan Makroemulsi Hidroklorothiazid

4.9.1. Uji Organoleptis

Tujuan

Mengetahui karakteristik nanoemulsi dan makroemulsi hidroklorothiazid meliputi warna, bau, dan homogenitas nanoemulsi.

Metode

Uji dilakukan menggunakan panca indera secara langsung (Lawrence, 2000).

Interpretasi Hasil

Nanoemulsi yang dibentuk jernih, tidak berbau tengik, dan tidak terjadi pemisahan fase.

4.9.2. Analisa Ukuran Droplet dan Polidispersitas

Tujuan

Untuk mengetahui ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, dan zeta potensial sediaan nanoemulsi hidroklorothiazid

Metode

Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel ditentukan melalui *Photon Correlation Spectroscopy* dengan menggunakan Zetasizer.

Interpretasi Hasil

Kriteria ukuran nanoemulsi yaitu 10-200 nm (Priya *et al*, 2015). Indeks polidispersitas (PDI) sebesar 0,01-0,7.

4.9.3. Uji Persen Transmitam

Tujuan

Mengetahui kejernihan

Metode

Sediaan nanoemulsi diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang visible 650 nm (Jain, 2013). Kemudian dihitung persen transmitan dengan rumus (Jain, 2013):

$$\%T = \frac{I_t}{I_0} \times 100\% \dots \quad (2.2)$$

Keterangan:

T = Transmitar

A = Absorbans

I_0 = Intensitas radisai yang datang

It = Intensitas radiasi yang diteruskan

Interpretasi Hasil

Semakin mendekati 100% nilai % transmitan semakin baik kejernihannya (Mulia dan Suharman, 1995).

4.9.4. Uji Permeasi *in vitro*

Tujuan

Untuk mengetahui profil pelepasan sediaan nanoemulsi melalui membran

Metode

Uji penetrasi dilakukan menggunakan *Franz diffusion cell* dengan membran kulit ular bagian dorsal atau ventral. Kulit ular yang digunakan adalah kulit yang mengalami pergantian, sehingga tidak perlu membunuh ular tersebut. Jenis ular yang digunakan kulitnya adalah ular yang mudah ditemukan atau didapatkan di wilayah sekitar (Kumpugdee-Vollrath, 2013). Kulit ular yang didapatkan disimpan di suhu -20°C untuk menjaga aktivitas enzim di kulit agar tidak rusak (Ngawhirunpat *et al*, 2006). Jumlah obat yang berpermeasi melalui kulit (mg/cm^2) diplot dengan fungsi waktu tiap formulasinya. Aliran obat (laju permeasi) pada keadaan tunak (Jss) dihitung dengan membagi slop dengan luas sel difusi. Koefisien permeabilitas (Kp) dihitung dengan membagi Jss dengan jumlah obat yang ada di kompartemen donor (Co) (Shakeel *et al*, 2007).

$$J = D \frac{dc}{dx}(2.4)$$

Keterangan :

J : Aliran ($\text{atom}/\text{m}^2\text{s}$)

D : Koefisien difusi (m^2/s)

dc/dx : Gradien konsentrasi (atom/m^4)

Interpretasi Hasil

Tidak kurang dari 90% sediaan melewati membran

4.10. Spesifikasi Hasil Nanoemulsi dan Makroemulsi Hidroklororthiazid

Spesifikasi nanoemulsi dan makroemulsi hidroklororthiazid ditentukan untuk mengetahui apakah nanoemulsi yang dibuat telah mencapai parameter yang telah ditentukan seperti yang tercantum pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Spesifikasi Nanoemulsi dan Makroemulsi Hidroklororthiazid

Spesifikasi	Sistem	
	Nanoemulsi	Makroemulsi
Organoleptis	Jernih, tidak tengik, tidak memisah	Bluish hingga keruh, tidak tengik, tidak memisah
Ukuran droplet	10-200 nm	>999 nm
Indeks polidispersitas	0,01-0,7	0,01-0,7
Persen trasmittan	≥ 90%	<90%
Permeasi <i>in vitro</i>	Tidak kurang dari 90%	-

4.11. Analisa Hasil

Data yang diperoleh dari uji permeasi *in vitro* diolah melalui persamaan matematis kinetika pelepasan obat. Selain itu data yang diperoleh akan dianalisis dengan uji statistik data menggunakan *Independent T-test* untuk mengetahui pengaruh sistem pengantaran nanoemulsi hidroklororthiazid terhadap permeasi dan dibandingkan dengan sediaan makroemulsi. Sebelumnya dilakukan uji distribusi data diuji menggunakan *Shapiro Wilk Test* dan uji homogenitas varians dengan *Levene's Test*. Apabila persebaran data dan homogenitas varians tidak normal,

maka dilakukan transformasi data kemudian dilakukan analisa statistik nonparametrik dengan uji *Mann Whitney* atau uji *Chi Square*.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1. Hasil Optimasi Nanoemulsi dan Makroemulsi Hidroklorothiazid

Mengacu pada penelitian sebelumnya (Islamiyah, 2018) 2 formula yang membentuk nanoemulsi yaitu formula dengan perbandingan minyak dan *Smix* 1:9 (F1) dan 2:9 (F2). Sediaan makroemulsi yang digunakan sebagai pembanding dipilih salah satu dari sediaan dengan penampakan visual keruh yaitu formula dengan perbandingan minyak dan *Smix* 3:7 (F3). Volume titrasi akuades tiap formula ditampilkan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Hasil Titrasi Formula Nanoemulsi dan Makroemulsi (Islamiyah, 2018).

Perbandingan Minyak : Smix	Volume titrasi (mL)
1:9 (F1)	46,7
2:8 (F2)	16,0
3:7 (F3)	10,0

5.2. Hasil Evaluasi Sistem Nanoemulsi

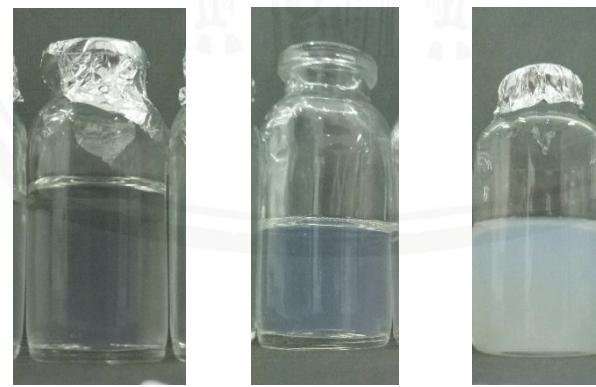
Karakteristik nanoemulsi meliputi uji organoleptik, uji persen transmittan, uji pH, uji ukuran partikel, uji polidispersitas, dan uji difusi.

5.2.1. Hasil Uji Organoleptik

Hasil uji organoleptik nanoemulsi menunjukkan bahwa sediaan nanoemulsi F1 dan F2 memiliki karakteristik nanoemulsi yaitu cairan berwarna jernih, agak kental, sedikit berbau, sedangkan makroemulsi F3 memiliki karakteristik cairan berwarna keruh, kental, dan sedikit berbau (gambar 5.1 dan tabel 5.2). Hasil tersebut sesuai dengan karakter nanoemulsi yang digambarkan sebagai cairan transparan hingga bluish dan kental (Mason *et al.* 2006).

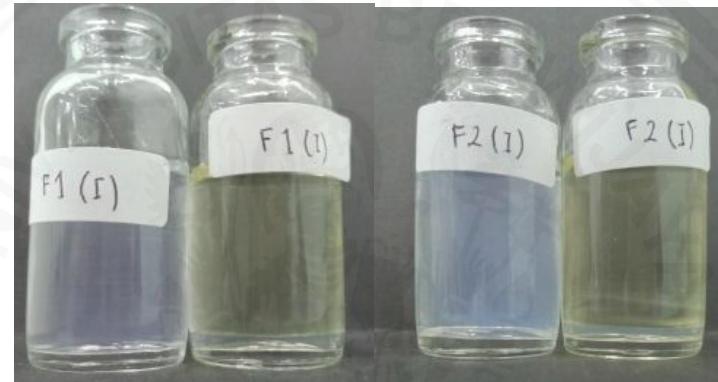
Tabel 5.2. Hasil Uji Organoleptik Nanoemulsi dan Makroemulsi

Spesifikasi	Nanoemulsi	Makroemulsi	
	F1	F2	F3
Bentuk fisik	Cairan	Cairan	
Konsistensi	Agak kental	Kental	
Warna	Jernih	Keruh	
Bau	Sedikit berbau	Sedikit berbau	

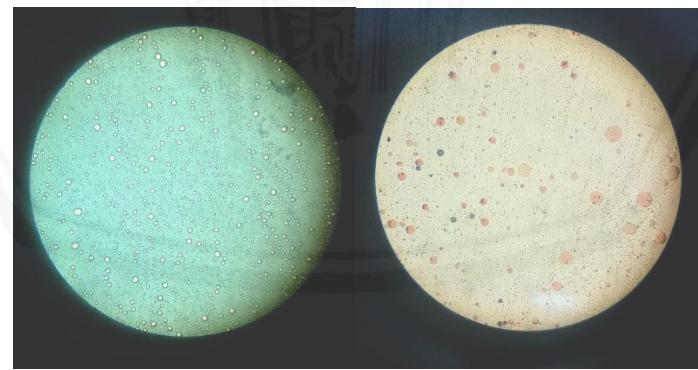


Gambar 5.1. Hasil Pengamatan Organoleptik. Gambar (a) Sediaan F1, (b) Sediaan F2, dan (c) Sediaan F3

Hasil pemeriksaan formula menunjukkan bahwa ketiga formula termasuk dalam tipe O/W. Uji dilakukan menggunakan uji pewarnaan dan pengenceran. Pada uji pengenceran dengan aquades tidak terdapat pemisahan nanoemulsi maupun emulsi (gambar 5.2). Pada uji pewarnaan dengan metilen blue dan sudan III dapat terlihat warna biru metilen blue menyebar di bagian luar (sedangkan warna merah berada dalam droplet-droplet emulsi (gambar 5.3).



Gambar 5.2. Hasil Uji Tipe Sediaan Menggunakan Metode Pengenceran. Gambar (a) Sediaan F1, Gambar (b) Sediaan F2 (Islamiyah, 2018).



(a) (b)

Gambar 5.3. Hasil Uji Tipe Emulsi Menggunakan Metode Pewarnaan. Gambar (a) Tampak emulsi setelah pewarnaan menggunakan Metilen Blue dibawah mikroskop perbesaran 100X. Gambar (b) Tampak emulsi setelah pewarnaan menggunakan Sudan III dibawah mikroskop perbesaran 100X.

5.2.2. Hasil Uji Persen Transmision

Persen transmittan diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis "SHIMADZU 1800" dengan blanko akuades pada panjang gelombang tampak 650 nm (Jain, 2013). Pengukuran dilakukan pada tiap formula sebanyak tiga kali. Pada spektrum cahaya tampak persen transmittan nanoemulsi dapat mencapai 100% yang menunjukkan tingginya derajat transparansi (Mason *et al*, 2006). Hasil pengukuran menunjukkan sistem nanoemulsi memiliki transparansi yang tinggi dibandingkan sistem makroemulsi. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel 5.3 dan lampiran 6.

Pada uji Normalitas *Shapiro-Wilk* didapatkan F1 memiliki nilai $p = 0,537$, F2 memiliki nilai $p = 0,439$, dan F3 memiliki nilai $p = 0,083$ ($p > 0,05$), sehingga data dikatakan normal. Pada uji homogenitas *Levene's Test* nilai p menunjukkan hasil 0,013, sehingga data dikatakan tidak homogen ($p < 0,05$) dan perlu dilakukan transformasi. Data tidak dapat ditransformasi, sehingga pengujian statistik dilakukan secara non parameterik dengan uji *Kruskall Wallis*. Hasil uji *Kruskall Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,039$ ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan bermakna terhadap nilai % transmision tiap sediaan dimana sediaan F1 memiliki persen transmision yang paling tinggi dan F3 memiliki persen transmision paling kecil (Lampiran 22).

Tabel 5.3. Hasil Uji % Transmision Nanoemulsi (Islamiyah, 2018) & Makroemulsi

% Transmision	Nanoemulsi		Makroemulsi
	F1	F2	F3
Rerata \pm SEM	97,6 \pm 0,416 %	95,7 \pm 1,017 %	66,8 \pm 4,003 %

5.2.3. Hasil Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan menggunakan *pH meter* TOA OK pada suhu 27,2 ± 2° C. Pengukuran dilakukan pada tiap formula sebanyak tiga kali. Hasil uji pH dapat dilihat pada tabel 5.4. dan lampiran 6. Keseluruhan hasil menunjukkan bahwa pH formula nanoemulsi dan emulsi Hidroklorothiazid sesuai dengan pH kulit yaitu 5-7 (Benson, 2012). Pada uji Normalitas *Shapiro-Wilk* didapatkan F1 memiliki nilai $p = 0,000$, F2 memiliki nilai $p = 0,000$, dan F3 memiliki nilai $p = 0,637$ ($p > 0,05$), sehingga diperlukan transformasi data karena tidak normal. Data tidak dapat ditransformasi, sehingga pengujian statistik dilakukan secara non parameterik dengan uji *Kruskall Wallis*. Hasil uji *Kruskall Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,045$ ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna terhadap nilai pH tiap sediaan, dimana sediaan F1 memiliki nilai pH paling tinggi dibandingkan dengan sediaan F2 dan F3 (Lampiran 23).

Tabel 5.4. Hasil Uji Pengukuran pH Nanoemulsi (Islamiyah, 2018) dan Makroemulsi

pH Rerata ± SEM	Nanoemulsi		Makroemulsi
	F1	F2	F3
	6,637 ± 0,003	6,620 ± 0,01	6,390 ± 0,018

5.2.4. Hasil Uji Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas

Uji pengukuran partikel dilakukan menggunakan alat “Malvern” zetasizer untuk sediaan nanoemulsi dan alat “CILAS 1090 Liquid” untuk sediaan emulsi. Tiap

sediaan diukur sebanyak 3 kali replikasi. Hasil pengukuran menunjukkan ukuran partikel sediaan F1 dan F2 termasuk dalam rentang nanomulsi sedangkan sediaan F3 termasuk dalam rentang makroemulsi. Hasil uji ukuran partikel disajikan pada tabel 5.5 dan lampiran 6.

Tabel 5.5. Hasil Uji Ukuran Partikel Nanoemulsi (Islamiyah, 2018) dan Makroemulsi

Rerata Ukuran Partikel ± SEM (nm)	Nanoemulsi		Makroemulsi
	F1	F2	F3
53,997 ± 0,137	503,567 ± 26,509	5066,667 ± 92,075	

Pada uji Normalitas *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai p untuk F1 adalah 0,698, F2 adalah 0,082, dan F3 adalah 0,180 hal ini menunjukkan bahwa data ketiga formula normal ($p > 0,05$). Pada uji homogenitas *Levene's* nilai p adalah 0,01 yang berarti data tidak homogen ($p < 0,05$), sehingga dilakukan uji non parametrik *Kruskall Wallis*. Hasil uji *Kruskall Wallis* menunjukkan nilai p = 0,027 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna terhadap ukuran partikel tiap sediaan, dimana sediaan F1 memiliki ukuran partikel paling kecil dibandingkan sediaan F2 dan F3 (Lampiran 24).

Nilai indeks polidispersitas (PDI) F1 sebesar $0,608 \pm 0,004$ dan F2 sebesar $0,829 \pm 0,148$ (Islamiyah, 2018). Sedangkan nilai PDI F3 tidak dapat ditentukan karena perbedaan instrumen yang digunakan.

5.3. Hasil Uji Difusi Hidroklorothiazid

Uji difusi dilakukan menggunakan *Franz Diffusion Cell*. Determinasi kadar ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis “SHIMADZU 1800”. Sampling dilakukan pada menit ke 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300, dan 360. Pada menit ke 5 dan 10 konsentrasi ketiga formula belum terdeteksi, pada menit ke 15 konsentrasi F1 mulai terdeteksi, pada menit ke 30 konsentrasi F2 mulai terdeteksi, dan pada menit ke 60 konsentrasi F3 mulai terdeteksi (Lampiran 8).

5.3.1. Hasil Perhitungan % Terdifusi

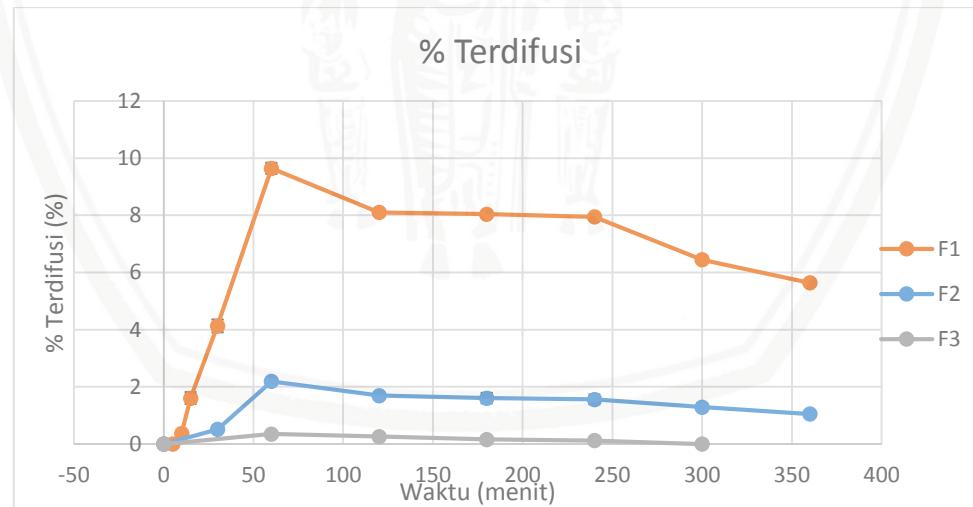
Hasil uji difusi nanoemulsi dan emulsi Hidroklorothiazid melalui kulit ular *Phyton morulus* selama 6 jam ditunjukkan pada Grafik 5.1. Dalam waktu 6 jam obat yang berdifusi melalui membran pada sediaan F1 sebesar $51,919 \pm 0,935\%$, sediaan F2 sebesar $9,908 \pm 0,688\%$ dan F3 sebesar $0,890 \pm 0,067\%$, dengan fluks F1 sebesar $0,0110 \text{ mg/cm}^2/\text{jam}$, F2 sebesar $0,0055 \text{ mg/cm}^2/\text{jam}$, dan F3 sebesar $0,0012 \text{ mg/cm}^2/\text{jam}$. Puncak konsentrasi difusi ketiga sediaan adalah pada menit ke-60 dimana sediaan F1 konsentrasi terdifusi rerata mencapai $9,641 \pm 0,198\%$, rerata konsentrasi terdifusi sediaan F2 mencapai $2,192 \pm 0,013\%$, dan rerata konsentrasi terdifusi sediaan F3 mencapai $0,349 \pm 0,033\%$ (Lampiran 8). Dari hasil tersebut diketahui bahwa semakin kecil ukuran droplet sediaan maka semakin besar persentasi Hidroklorothiazid yang berdifusi melalui membran.

Hasil perhitungan persen kumulatif HCTZ yang berdifusi setiap waktu ditunjukkan pada tabel 5.6 dan lampiran 9. Uji statistik non parametrik *Kruskall-Wallis* kumulatif jumlah HCTZ yang berdifusi pada menit ke 360 menunjukkan nilai $p = 0,027$ ($p < 0,05$), maka terdapat perbedaan bermakna kumulatif obat yang

berdifusi diantara ketiga sediaan, dimana kumulatif jumlah obat yang berdifusi sediaan F1 paling tinggi diantara sediaan F2 dan F3 (Tabel 5.6 dan lampiran 32).

Tabel 5.6. Hasil Perhitungan Persen Kumulatif HCTZ yang Berdifusi setiap Waktu

Waktu (menit)	FORMULA					
	F1		F2		F3	
	Rerata	SEM	Rerata	SEM	Rerata	SEM
5	0	0	0	0	0	0
10	0,278	0,150	0	0	0	0
15	1,977	0,227	0	0	0	0
30	6,109	0,449	0,513	0,073	0	0
60	15,750	0,611	2,705	0,084	0,349	0,033
120	23,849	0,726	4,401	0,136	0,612	0,045
180	31,889	0,804	6,006	0,322	0,772	0,049
240	39,832	0,825	7,568	0,482	0,890	0,067
300	46,279	0,913	8,858	0,619	0	0
360	51,920	0,935	9,908	0,688	0	0



Gambar 5.4. Persentase Konsentrasi Hidroklorothiazid yang Berdifusi Melalui Membran. Persentase terdifusi Hidroklorothiazid setiap waktu ditentukan secara *in vitro* menggunakan membran kulit ular *Phyton Morulus* dengan alat *Franz Diffusion Cell* dan Spektrofotometer UV-Vis 1800. Data dalam grafik menunjukkan rerata \pm standar eror dengan replikasi sebanyak tiga kali. Terdapat perbedaan signifikan pada setiap formula per waktu ($p < 0,05$). F1 = Formula 1; F2 = Formula 2; dan F3 = Formula 3.

Hasil analisa dilakukan menggunakan data pelepasan obat yang diplot menggunakan model orde nol, orde satu, Higuchi, dan Korsmeyers-Peppas. Analisa kinetika pelepasan obat ditentukan melalui hasil R^2 yang paling mendekati nilai 1. Nanoemulsi F1 kinetika pelepasan mengikuti orde nol dengan hasil $R^2 = 1$, pada sediaan nanoemulsi F2 kinetika pelepasan mengikuti orde satu dengan hasil $R^2 = 0,9999$, dan pada sediaan emulsi F3 kinetika pelepasan mengikuti model Higuchi dengan hasil $R^2 = 0,9932$. Hasil analisa kinetika pelepasan obat dapat dilihat pada tabel 5.7 dan lampiran 11.

Tabel 5.7. Hasil Analisa Kinetika Pelepasan Obat

Formula	Orde Nol		Orde Satu		Higuchi		Korsmeyer-Peppas	
	R^2	K_0	R^2	K_0	R^2	K_0	R^2	K_0
F1	1	0,0003	0,9979	-0,0008	0,991	3,0946	0,9964	0,6655
F2	0,9996	0,0001	0,9999	-0,0001	0,9935	0,6251	0,9991	0,7398
F3	0,9674	$2 \cdot 10^{-5}$	0,948	-1.10-5	0,9932	0,0699	0,9982	0,6803

5.3.2. Hasil Uji Difusi Hidroklorothiazid Menit ke-30

Hasil uji statistik pada sediaan nanoemulsi dan emulsi Hidroklorothiazid disajikan pada lampiran. Pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* sediaan F1 menunjukkan nilai $p = 0,996$ dan sediaan F2 menunjukkan nilai $p = 0,073$, maka data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Pada uji homogenitas *Levene's Test* nilai $p = 0,285$ yang berarti data homogen ($p > 0,05$). Hasil uji *Independent t-test* menunjukkan nilai $p = 0,00$, yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara jumlah HCTZ yang berdifusi

antara sediaan F1 dan F2 pada menit ke-30, dimana sediaan jumlah HCTZ sediaan F1 yang berdifusi lebih besar dari sediaan F2 (Lampiran 25).

5.3.3. Hasil Uji Difusi Hidroklorothiazid Menit ke-60

Hasil uji statistik pada sediaan nanoemulsi dan emulsi Hidroklorothiazid disajikan pada lampiran. Pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* sediaan F1 menunjukkan nilai $p = 0,212$, sediaan F2 menunjukkan nilai $p = 0,938$, dan sediaan F3 menunjukkan nilai $p = 0,206$ maka data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Pada uji homogenitasi *Levene's Test* nilai $p = 0,01$ yang berarti data tidak homogen ($p < 0,05$) sehingga perlu ditransformasi. Setelah dilakukan transformasi data didapatkan data yang normal ($p < 0,05$) dan tidak homogen ($p > 0,05$), sehingga dilakukan uji non parametrik *Kruskall-Wallis*. Hasil uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,027$, yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara jumlah HCTZ yang berdifusi tiap sediaan F1, F2, dan F3 pada menit ke-60, dimana sediaan jumlah HCTZ sediaan F1 yang berdifusi lebih besar dari sediaan F2 dan F3 (Lampiran 26).

5.3.4. Hasil Uji Difusi Hidroklorothiazid Menit ke-120

Hasil uji statistik pada sediaan nanoemulsi dan emulsi Hidroklorothiazid disajikan pada lampiran. Pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* sediaan F1 menunjukkan nilai $p = 0,022$, sediaan F2 menunjukkan nilai $p = 0,675$, dan sediaan F3 menunjukkan nilai $p = 0,437$, maka data dikatakan tidak normal ($p < 0,05$) sehingga perlu ditrasnformasi. Hasil transformasi menunjukkan data tidak normal, maka dilakukan uji non parametrik *Kruskall Wallis*. Hasil uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,027$, yang berarti terdapat perbedaan bermakna

antara jumlah HCTZ yang berdifusi tiap sediaan F1, F2, dan F3 pada menit ke-120, dimana sediaan jumlah HCTZ sediaan F1 yang berdifusi lebih besar dari sediaan F2 dan F3 (Lampiran 27).

5.3.5. Hasil Uji Difusi Hidroklorothiazid Menit ke-180

Hasil uji statistik pada sediaan nanoemulsi dan emulsi Hidroklorothiazid disajikan pada lampiran. Pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* sediaan F1 menunjukkan nilai $p = 0,699$, sediaan F2 menunjukkan nilai $p = 0,434$, dan sediaan F3 menunjukkan nilai $p = 0,383$ maka data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Nilai signifikansi *Levene's test* pada menit ke-180 $p = 0,061$, maka data dikatakan homogen ($p > 0,05$). Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan nilai signifikansi 0,00 ($p < 0,05$), maka terdapat perbedaan bermakna antara jumlah HCTZ yang berdifusi tiap sediaan F1, F2, dan F3 pada menit ke-180, dimana sediaan jumlah HCTZ sediaan F1 yang berdifusi lebih besar dari sediaan F2 dan F3.

5.3.6. Hasil Uji Difusi Hidroklorothiazid Menit ke-240

Hasil uji statistik pada sediaan nanoemulsi dan emulsi Hidroklorothiazid disajikan pada lampiran. Pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* sediaan F1 menunjukkan nilai $p = 0,647$, sediaan F2 menunjukkan nilai $p = 0,453$, dan sediaan F3 menunjukkan nilai $p = 0,122$ maka data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Nilai signifikansi uji homogenitas *Levene's test* pada menit ke-240 $p = 0,021$, maka data dikatakan tidak homogen, sehingga perlu dilakukan transformasi data. Hasil transformasi data menunjukkan data terdistribusi normal namun tidak homogen, sehingga dilakukan uji non parametrik *Kruskall-Wallis*. Hasil uji *Kruskall Wallis* nilai p

= 0,027 ($p < 0,05$), maka terdapat perbedaan bermakna antara jumlah HCTZ yang berdifusi tiap sediaan F1, F2, dan F3 pada menit ke-240, dimana sediaan jumlah HCTZ sediaan F1 yang berdifusi lebih besar dari sediaan F2 dan F3 (Lampiran 28).

5.3.7. Hasil Uji Difusi Hidroklorothiazid Menit ke-300

Hasil uji statistik pada sediaan nanoemulsi dan emulsi Hidroklorothiazid disajikan pada lampiran. Pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* sediaan F1 menunjukkan nilai $p = 0,196$ dan sediaan F2 menunjukkan nilai $p = 0,378$, maka data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Pada uji homogenitasi *Levene's Test* nilai $p = 0,553$ yang berarti data homogen ($p > 0,05$). Hasil uji *Independent t-test* menunjukkan nilai $p = 0,000$, yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara jumlah HCTZ yang berdifusi sediaan F1 dan F2 pada menit ke-300, dimana sediaan jumlah HCTZ sediaan F1 yang berdifusi lebih besar dari sediaan F2 (Lampiran 29).

5.3.8. Hasil Uji Difusi Hidroklorothiazid Menit ke-360

Hasil uji statistik pada sediaan nanoemulsi dan emulsi Hidroklorothiazid disajikan pada lampiran. Pada uji normalitas *Shapiro-Wilk* sediaan F1 menunjukkan nilai $p = 0,757$ dan sediaan F2 menunjukkan nilai $p = 0,604$, maka data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Pada uji homogenitasi *Levene's Test* nilai $p = 0,536$ yang berarti data homogen ($p > 0,05$). Hasil uji *Independent t-test* menunjukkan nilai $p = 0,000$, yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara jumlah HCTZ yang berdifusi sediaan F1 dan F2 pada menit ke-360, dimana sediaan jumlah HCTZ sediaan F1 yang berdifusi lebih besar dari sediaan F2 (Lampiran 30).

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh sistem pengantaran nanoemulsi terhadap kemampuan difusi Hidroklorothiazid melalui membran transdermal. Pada penelitian ini didapatkan dua formula nanoemulsi F1 dan F2 serta satu formula emulsi F3 yang berfungsi sebagai pembanding. Formula tersebut didapatkan melalui hasil optimasi perbandingan konsentrasi fase minyak : Smix serta perbandingan Smix yang terdiri atas surfaktan : kosurfaktan. Hasil optimasi menunjukkan bahwa perbandingan fase minyak dan Smix yang menghasilkan nanoemulsi adalah perbandingan 1:9 yakni F1 dan 2:8 yakni F2 (Islamiyah, 2018), serta diambil formula yang menghasilkan emulsi sebagai pembanding yaitu formula dengan perbandingan 3:7 yakni F3 untuk mengetahui pengaruh pelepasan obat secara *in-vitro* antara sistem pengantaran nanoemulsi dan makroemulsi.

Pembentukan sediaan dilakukan menggunakan metode energi rendah yakni emulsifikasi spontan. Pada metode energi rendah droplet yang kecil terbentuk saat sistem mengalami perubahan pada komposisi penyusun atau suhu dan melewati titik tegangan permukaan yang rendah. Mekanisme yang terjadi pada metode energi rendah melibatkan kondisi *Phase Inversion Temperature* (PIC) atau *Phase Inversion Composition* (PIC). Pada metode energi rendah sistem diawali dengan makroemulsi air dalam minyak (W/O) yang kemudian berubah menjadi minyak dalam air (O/W)

karena perubahan komposisi atau temperatur (Gupta *et al*, 2016 dan Cinar, 2017). Pada penelitian ini nanoemulsi dibuat melalui titrasi lambat akuades ke dalam sistem emulsi pada suhu ruang $25 \pm 2^\circ\text{C}$. *Phase Inversion Composition* terjadi saat titrasi akuades berlangsung sehingga mengubah sistem W/O menjadi O/W.

Pemilihan fase minyak sangat penting karena berhubungan langsung dengan kelarutan obat dan kemampuan untuk membentuk nanoemulsi. Castor Oil memiliki kemampuan melarutkan Hidroklorothiazid sebesar $1,68 \pm 0,54\text{ mg/mL}$ (Yadav *et al*, 2014). Sedangkan pada pengujian kelarutan yang dilakukan Castor Oil dapat melarutkan sekitar $6,45 \pm 0,5\text{ mg/mL}$. Asam lemak bebas yang terkandung pada Castor Oil dapat bekerja sebagai kosurfaktan dan berfungsi mencegah koalesensi dan flokulasi sistem (Jumaa *et al*, 1998). Castor Oil dapat membantu menurunkan derajat ketidakjenuhan dan penting dalam menghambat degradasi oksidatif. Castor Oil termasuk dalam kelompok *Long Chain Triglycerides* (LCT) yang mana memiliki kemampuan nanoemulsifikasi yang lebih sulit dibandingkan kelompok lainnya yaitu *Short Chain Triglycerides* dan *Medium Chain Triglycerides* karena memiliki kemampuan melarutkan dan resistensi oksidasi yang lebih rendah (Kuruvila, *et al*, 2017). LCT juga diketahui sulit bercampur dengan surfaktan dan kosolven yang bersifat hidrofilik (Shah, 2011). Selain itu Castor Oil memiliki viskositas yang tinggi, sehingga diperlukan gaya yang lebih kuat untuk membentuk nanoemulsi (Jumaa *et al*, 1998 dan Silva *et al*, 2015). Hal ini dapat menjelaskan waktu emulsifikasi yang cukup lama untuk membentuk sistem nanoemulsi.

Sesuai dengan data uji ukuran partikel yang dihasilkan studi diketahui campuran minyak dengan rasio *Smix* dan fase minyak yang tinggi menunjukkan

pembentukan sistem nanoemulsi yang baik. Secara berturut-turut partikel yang paling kecil dihasilkan oleh F1 dengan ukuran $53,997 \pm 0,137$ nm, F2 dengan ukuran $503,567 \pm 25,509$ nm (Islamiyah, 2018), dan F3 dengan ukuran $5066,667 \pm 92,075$ nm. Telah diketahui hubungan antara surfaktan dan ukuran droplet, dimana semakin besar konsentrasi surfaktan yang digunakan, maka semakin kecil ukuran droplet yang dihasilkan. Namun dalam beberapa kasus, ukuran droplet dapat meningkat setelah surfaktan mencapai konsentrasi tertentu, hal ini diakibatkan oleh distrupsi antarfase karena meningkatnya penetrasi air ke droplet minyak akibat peningkatan surfaktan, sehingga menyebabkan keluarnya droplet minyak ke fase air (Kuruvila *et al*, 2017). Sebaliknya tingginya konsentrasi fase minyak dapat meningkatkan ukuran partikel dan viskositas sediaan akibat kurangnya surfaktan yang dapat melingkupi permukaan fase minyak (Jumaa *et al*, 1998). Fenomena ini dapat dikaitkan dengan stabilisasi droplet minyak karena terjadinya lokalisasi molekul surfaktan pada bagian antar muka minyak dan air (Kuruvila *et al*, 2017).

Kombinasi Croduret 50ss dan Span 80 menunjukkan peningkatan efisiensi emulsifikasi pada sistem emulsi pada penelitian yang dilakukan Ishah dkk. Croduret 50ss memiliki fungsi untuk meningkatkan penetrasi obat hal ini ditunjukkan oleh meningkatnya persentase Croduret dalam sediaan sebanding dengan peningkatan jumlah pelepasan obat secara topikal (Waghmare *et al*, 2011). Penambahan Span 80 berfungsi untuk memadatkan struktur droplet dan membantu melengkungkan struktur droplet sehingga menghasilkan penurunan tegangan antarmuka, namun penambahan span 80 yang terlalu banyak dapat membuat sistem terlalu hidrofobik sehingga tidak dapat menstabilkan minyak dalam air (Leong *et al*, 2009).

Konsentrasi surfaktan yang digunakan juga mempengaruhi waktu emulsifikasi, semakin banyak surfaktan yang digunakan maka semakin banyak surfaktan dalam sistem yang tersedia untuk membentuk droplet dengan minyak saat pencampuran, sehingga waktu emulsifikasi akan semakin cepat (Silva *et al*, 2015). Selain surfaktan penggunaan kosurfaktan juga memodulasi waktu nanoemulsifikasi dan ukuran droplet (Kuruvila *et al*, 2017). Studi menunjukkan penurunan tekanan antarmuka terjadi seiring dengan peningkatan konsentrasi Propilen Glikol sebagai kosurfaktan (Benichou *et al*, 2001). Kosurfaktan dapat memediasi penurunan tegangan antar muka minyak dengan air dan menyediakan permukaan yang lebih luas sehingga membantu pembentukan nanoemulsi secara spontan (Kuruvila, *et al*, 2017). Kosurfaktan menstabilisasi antarmuka air dan minyak dengan berpenetrasi pada ruang-ruang kosong antara molekul surfaktan yang mengelilingi droplet minyak, sehingga menurunkan tegangan antarmuka hingga mencapai stabilitas termodinamik dan meningkatkan fluiditas (Hasan *et al*, 2015 dan Kunasekaran *et al*, 2015). Propilen glikol dipilih karena dapat diabsorpsi secara baik saat diaplikasikan pada kulit yang rusak (Rowe *et al*, 2009) selain itu Propilen Glikol dapat melarutkan α -keratin pada stratum korneum dan mengurangi terjadinya ikatan obat dengan jaringan sehingga mendorong terjadinya permeasi (Patel *et al*, 2012).

Nilai PDI menunjukkan hasil perhitungan berat rata-rata berat molekul dibagi dengan jumlah rata-rata berat molekul. Semakin mendekati nol berarti distribusinya semakin merata (Haryono dkk, 2012). Apabila nilai PDI dalam rentang 0,01-0,7 sediaan termasuk kategori monodispers, apabila nilai indeks polidispersitas $>0,7$ maka termasuk kategori polidispers (Nidhin *et al*, 2008). Hasil pengukuran indeks

polidispersitas menunjukkan sediaan F1 termasuk dalam kategori monodispers dan F2 termasuk dalam kategori polidispers, sedangkan F3 tidak dapat disimpulkan karena perbedaan instrumen yang digunakan. Perbedaan hasil ini dapat dikaitkan dengan konsentrasi surfaktan yang lebih banyak pada F1. Tingginya nilai PDI juga dapat dipengaruhi oleh suhu lingkungan yang tidak terjaga saat proses handling. Ketika suhu lingkungan pergerakan droplet minyak juga meningkat, sehingga droplet dapat saling bertemu dan berflokulasi atau berkoalesensi (Eid *et al*, 2013).

Hasil uji organoleptis menunjukkan F1 dan F2 menghasilkan penampakan transparan dan F3 menghasilkan penampakan agak keruh. Hal ini didukung dengan data hasil uji transmittan, dimana F1 memiliki persen transmitan paling tinggi dan ukuran partikel paling kecil, F2 memiliki persen transmitan sedikit lebih rendah dan ukuran partikel lebih besar dibandingkan F1, dan F3 memiliki persen transmitan paling rendah dan ukuran partikel paling besar. Hasil ini dikaitkan dengan kemampuan ukuran droplet yang kecil lebih sedikit menghamburkan cahaya dibandingkan ukuran droplet yang lebih besar (Saberi *et al*, 2013).

Hasil pengujian pH menunjukkan bahwa pH masih dalam nilai spesifikasi yang diinginkan sesuai dengan pH kulit yaitu 5-7 (Benson, 2012). Terdapat perbedaan bermakna antar ketiga formula. Hal ini dapat disebabkan akibat variansi pH tiap komponen penyusun. Nilai pH Hidroklorothiazid, *castor oil* sekitar 6-7, Croduret 50ss 6-7 ,Propilen Glikol 6,5 dan Akuades 7 (MSDS, 2018). Selain itu perubahan nilai pH dapat berasal dari aktivitas mikroba yang dapat membentuk asam-asam lemah dikaitkan dengan tidak digunakannya antimikroba atau pengawet pada formulasi sediaan. Mikroba dapat berasal dari bahan baku atau kontaminasi

saat pembuatan atau penyimpanan (Aulia, 2017). Kondisi penyimpanan yang tidak optimal juga menjadi faktor yang dapat mengubah pH sediaan. Adanya CO₂ yang berinteraksi dengan akuades pada sediaan dapat menurunkan pH sediaan melalui reaksi CO₂ + H₂O → HCO₃⁻ + H⁺ (Boyd, 2000).

Uji difusi *in-vitro* sediaan nanoemulsi dilakukan menggunakan *Franz Diffusion Cell* dengan membran kulit ular *Phyton morulus*. Membran dikondisikan dengan dapar fosfat pH 5,19 untuk menyerupai kondisi pH kulit yaitu 5-7 (Benson, 2012) sedangkan media aseptor diisi dengan PBS pH 7,3. Absorbsi puncak sediaan nanoemulsi dan makroemulsi hidroklorothiazid berada pada menit ke 60. Persentase Hidroklorothiazid yang berdifusi melalui membran mencapai sediaan F1 sebesar 51,919 ± 0,935 %, sediaan F2 sebesar 9,908 ± 0,688 % dan F3 sebesar 0,890 ± 0,067 %, dengan fluks F1 sebesar 0,011 mg/cm²/jam, F2 sebesar 0,0055 mg/cm²/jam, dan F3 sebesar 0,0012 µg/cm²/jam. Hasil ini menunjukkan semakin kecil ukuran partikel maka semakin baik kemampuan sistem untuk menghantarkan obat melalui membran. Terdapat hubungan yang jelas bahwa semakin kecil ukuran partikel maka akan semakin baik kemampuannya untuk berdifusi (Griesser *et al.*, 2018).

Selain ukuran droplet, komposisi penyusun formula juga menjadi salah satu faktor yang meningkatkan kemampuan difusi. Secara bertutut-turut F1, F2, dan F3 memiliki konsentrasi surfaktan yang tinggi hingga rendah. Semakin banyak surfaktan yang digunakan maka kemampuan obat untuk berdifusi semakin baik, hal ini dikaitkan dengan kemampuan surfaktan non ionik untuk berdispersi ke daerah interseluler fase lipid stratum korneum, hal ini menyebabkan peningkatan fluiditas

pada stratum korneum yang memungkinkan penurunan resistensi difusi (Ibrahim, *et al.*, 2007). Surfaktan dapat meningkatkan permeabilitas membran dengan merusak lapisan *lipid bilayer* dari sel epitel. Monomer surfaktan dapat melekatkan molekulnya pada membran sel epitel sehingga memberikan efek lebih polar pada membran lipid. Surfaktan juga dapat berperan dalam membuka *tight junction* secara reversibel antar sel epitel dengan cara interaksi dengan bagian polar dari *lipid bilayer*, memodifikasi ikatan hidrogen dan ionik antar grup, sekaligus dapat memasukkan molekul lipofilnya pada *bilayer* sehingga membran sel terbuka (Wu *et al*, 2006). Stratum korneum sebagai *rate limiting barrier* pada rute transdermal memiliki *lipid bilayer* bernama *ceramides* yang tersusun rapat karena adanya ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen tersebut memberikan kekuatan dan stabilitas pada *lipid bilayer* sehingga stratum korneum menjadi kokoh. Ketika nanoemulsi mengenai kulit, *ceramides* menjadi lebih renggang akibat ikatan hidrogen kompetitif yang kemudian dapat menyebabkan lepasnya ikatan hidrogen pada permukaan *ceramides* karena adanya permeasi nanoemulsi. Nanoemulsi diketahui dapat meningkatkan permeasi melalui kulit dengan ekstraksi lipid pada stratum korneum serta dapat menyebabkan denaturasi keratin yang memungkinkan permeasi intraseluler (Shakeel *et al*, 2008).

Sedikitnya jumlah obat yang berdifusi melalui membran kulit ular dapat dikaitkan dengan perbedaan karakteristik kulit ular dan stratum korneum manusia. Ketebalan dan total komponen lipid antara kulit ular dan stratum korneum tidak berbeda signifikan, namun komposisi *ceramides*, fosfolipid, dan kandungan air diantara keduanya memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini merupakan faktor signifikan perbedaan permeabilitas antara kulit ular dan stratum korneum manusia.

Kandungan air pada kulit ular lebih sedikit dibandingkan pada kulit manusia. Kondisi stratum korneum lebih terhidrasi sehingga memudahkan obat berpenetrasi melalui kulit karena tingginya fluiditas pada lipid bilayer dibandingkan dengan kulit ular (Ngawhirunpat *et al*, 2006). Apabila dibandingkan dengan tablet hidroklorothiazid maka nilai bioavailabilitas relatif sediaan F1 adalah sebesar 20,638 % (Lampiran 12). Hal ini menunjukkan hanya 20,638 % jumlah HCTZ dari sediaan F1 yang tersedia di plasma dibandingkan dengan jumlah HCTZ yang diabsorpsi secara oral. Untuk mempertahankan obat dalam plasma maka penggunaan sediaan F1 secara transdermal sebaiknya dilakukan tiap 6-7 jam karena pada jam ke 6 konsentrasi obat hampir mencapai 0. Hal ini menunjukkan sediaan nanoemulsi F1 belum mampu memperbaiki bioavailabilitas HCTZ dan menurunkan frekuensi penggunaan obat dibandingkan dengan penggunaan oral. Berdasarkan Islamiyah (2018), *drug loading capacity* F1 mencapai 500 mg, sehingga memungkinkan sediaan F1 untuk diformulasikan dengan dosis lebih besar dan mengantarkan jumlah HCTZ yang lebih besar pula.

Pemodelan kinetika menunjukkan bahwa nanoemulsi F1 mengikuti kinetika pelepasan orde nol dengan hasil $R^2 = 1$ menunjukkan bahwa laju pelepasan obat tidak bergantung pada konsentrasi. Pada sediaan nanoemulsi F2 mengikuti kinetika pelepasan orde satu dengan hasil $R^2 = 0,9999$ menunjukkan pelepasan obat proporsional dengan berjalan waktu. Pada sediaan emulsi F3 mengikuti kinetika pelepasan model Higuchi dengan hasil $R^2 = 0,9932$ menunjukkan pelepasan obat bergantung pada akar waktu (Dash, *et.al.*, 2010). Pada pemodelan Koremsyers-peppas nilai n untuk F1 = 0,6655 dan F2 = 0,7938, dan F3 = 0,6803. Hal ini

menunjukkan nilai n berada pada rentang $0,45 < n < 0,89$ yang berarti mekanisme pelepasan obat termasuk dalam *non Fickian* model yang mana laju difusi seimbang dengan erosi polimer (Chime, 2013).

6.2. Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian lingkungan pembuatan dan penyimpanan tidak dijaga sehingga dapat berpengaruh terhadap karakteristik sediaan akhir, beberapa uji sejenis menggunakan instrumen yang berbeda sehingga mempengaruhi hasil pengukur, serta tidak dilakukannya validasi metode uji *in vitro* sehingga dapat terjadi bias hasil pengukuran karena matriks nanoemulsi ikut terabsorbsi saat pengukuran absorbansi.



BAB 7

PENUTUP

1.1. Kesimpulan

Konsentrasi Hidroklorothiazid yang berdifusi melalui model membran transdermal hingga menit ke-360 dari paling tinggi hingga paling rendah ditunjukkan secara berturut-turut F1 sebesar $51,919 \pm 0,935\%$, sediaan F2 sebesar $9,908 \pm 0,688\%$, dan F3 sebesar $0,890 \pm 0,067\%$. Hasil ini sebanding dengan ukuran droplet yang dihasilkan dimana ukuran droplet sediaan F1 sebesar $53,997 \pm 0,137$ nm, F2 sebesar $503,567 \pm 26,503$ nm dan F3 sebesar $5066,667 \pm 92,075$ nm. Kesimpulan penelitian ini adalah sistem pengantaran nanoemulsi dapat menghasilkan ukuran droplet yang lebih kecil sehingga mampu meningkatkan kemampuan permeasi HCTZ melalui membran transdermal dibandingkan dengan makroemulsi.

1.2. Saran

Berkaitan dengan keterbatasan pada saat ini, maka sebaiknya dilakukan kontrol terhadap lingkungan pembuatan dan penyimpanan, penggunaan alat yang sama setiap sediaannya, dan validasi metode uji *in vitro* menggunakan *Franz Diffusion Cell*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd E, Yousef SA, Pastore MN, et al. Skin models for the testing of transdermal drugs. *Clinical Pharmacology: Advances and Applications*, 2016; 8:163-176. doi:10.2147/CPAA.S64788.
- Acharya, Sheetal Porecha, et al. "Preparation and evaluation of transnasal microemulsion of carbamazepine." *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2013: 64-70.
- Ahmed, M., et al. "Potential of nanoemulsions for intravenous delivery of rifampicin." *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2008, 63.11: 806-811.
- Ali, Halah Hussein, and Ahmed Abbas Hussein. "Oral nanoemulsions of candesartan cilexetil: formulation, characterization and in vitro drug release studies." *AAPS Open*, 2017 : 4.
- Apu., A. S., et al. "Design, Development And In Vitro Evaluation Of Diclofenac Sodium Matrix Tablet Prepared By Direct Compression Using Methocel K100lv Cr Polymer" *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2012; 3 (2)
- Aulia, Annisa. 2017. *Pengaruh Waktu Penyimpanan Terhadap pH Sediaan Obat Kumur Ekstrak Bunga Delima Merah (Punica granatum L.)*. Diss. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Azeem, Adnan, et al. "Nanoemulsion components screening and selection: a technical note." *Aaps Pharmscitech*, 2009: 69-76.
- Baboota, Sanjula, et al. "Design, development and evaluation of novel nanoemulsion formulations for transdermal potential of celecoxib." *Acta pharmaceutical*, 2007: 315-332.
- Beermann, B., and Margaretha Groschinsky-Grind. "Pharmacokinetics of hidroklorothiazide in patients with congestive heart failure." *British journal of clinical pharmacology*, 1979: 579-583.
- Benson, Heather AE. "Skin structure, function, and permeation." *Topical and Transdermal Drug Delivery: Principles and Practice*, 2012: 1-22.
- Benson, Heather AE. "Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques." *Current drug delivery*, 2005: 23-33.

- Benichou, A., Aserin, A., & Garti, N. "Polyols, high pressure, and refractive indices equalization for improved stability of W/O emulsions for food applications." *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2001, 22 (2-3), 269-280
- Bhowmik, D., Chiranjib, B., Krishnakanth, Pankaj, & Chandira, R.M. "Fast Dissolving Tablet: An Overview", *JoCPR*, 2009, 1(1), 163-177.
- Boyd C.E. 2000. *pH, Carbon Dioxide, and Alkalinity. In: Water Quality*. Springer, Boston, MA
- Carter, Barry L., Michael E. Ernst, and Jerome D. Cohen. "Hydrochlorothiazid versus chlorthalidone." *Hypertension*, 2004: 4-9.
- Chang, Yuhua, and David Julian McClements. "Optimization of orange oil nanoemulsion formation by isothermal low-energy methods: influence of the oil phase, surfactant, and temperature." *Journal of agricultural and food chemistry* 2014: 2306-2312.
- Chauhan, Abhay S., et al. "Dendrimer-mediated transdermal delivery: enhanced bioavailability of indomethacin." *Journal of controlled release*, 2003: 335-343.
- Chiang, Chen-Li. "Controlled growth of gold nanoparticles in aerosol-OT/sorbitan monooleate/isooctane mixed reverse micelles." *Journal of colloid and interface science*, 2000: 60-66.
- Chime, S. A., G. C. Onunkwo, and I. I. Onyishi. "Kinetics and mechanisms of drug release from swellable and non swellable matrices: a review." *Res J Pharm Biol Chem Sci*, 2013: 97-103.
- Chobanian, Aram V., et al. "The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure: the JNC 7 report." *Jama*, 2003: 2560-2571.
- Choy, Young Bin, and Mark R. Prausnitz. "The rule of five for non-oral routes of drug delivery: ophthalmic, inhalation and transdermal." *Pharmaceutical research*, 2011: 943-948.
- Çınar, Kadir. "Nanoemülsiyonlar Üzerine Bir Derleme: Hazırlama Metotları Ve Stabiliterleri." *Trakya Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 2017 18.1: 73-83.
- de Almeida Borges, Vinécius Raphael, et al. "Nanoemulsion containing dapsone for topical administration: a study of in vitro release and epidermal permeation." *International journal of nanomedicine*, 2013: 535.

- Dai, Ya-Ni, et al. "Swelling characteristics and drug delivery properties of nifedipine-loaded pH sensitive alginate–chitosan hydrogel beads." *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2008: 493-500.
- Dash, Suvakanta, et al. "Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems." *Acta Pol Pharm*, 2010: 217-23.
- Date, Abhijit A., and M. S. Nagarsenker. "Design and evaluation of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for cefpodoxime proxetil." *International journal of pharmaceutics*, 2007: 166-172
- Davidov-Pardo, Gabriel, and David Julian McClements. "Nutraceutical delivery systems: resveratrol encapsulation in grape seed oil nanoemulsions formed by spontaneous emulsification." *Food chemistry*, 2015: 205-212.
- Ditjen POM. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal. 15, 746, 748.
- Eid, Ahmad Mustafa Masoud, N. A. Elmarzugi, and Hesham Ali El-Enshasy. "Preparation and evaluation of olive oil nanoemulsion using sucrose monoester." *Int J Pharm Pharm Sci*, 2013: 434-440.
- El Maghraby, Gamal M., Brian W. Barry, and Adrian C. Williams. "Liposomes and skin: from drug delivery to model membranes." *european journal of pharmaceutical sciences*, 2008: 203-222.
- Elsheikh, Manal A., et al. "Nanoemulsion liquid preconcentrates for raloxifene hydrochloride: optimization and in vivo appraisal." *Int J Nanomedicine* 7, 2012): 3787-3802.
- Finnin, Barrie C., and Timothy M. Morgan. "Transdermal penetration enhancers: applications, limitations, and potential." *Journal of pharmaceutical sciences*, 1999: 955-958.
- Fu, Yao, and Weiyuan John Kao. "Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems." *Expert opinion on drug delivery*, 2010: 429-444.
- Gadhav, Ashish. "Determination of hydrophilic-lipophilic balance value." *Int. J. Sci. Res.* 2014: 573-575.
- Ganiswara, S. G. 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Jakarta : UI Press
- Griesser, Janine, et al. "Self-emulsifying peptide drug delivery systems: How to make them highly mucus permeating." *International journal of pharmaceutics*, 2018.

- Gupta, Ankur, et al. "Nanoemulsions: formation, properties and applications." *Soft matter*, 2016: 2826-2841
- Gutiérrez, J. M., et al. "Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation." *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2008: 245-251.
- Gottachalk TE and Bailey JE eds. 2010. *International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook 13th Edition*. Washington D.C. : Personal Care Products Council.
- Haryono, Agus, Witta Kartika Restu, and Sri Budi Harmami. "PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF ALUMUNIUM PHOSPHATE NANOPARTICLES." *Jurnal Sains Materi Indonesia*, 2012.
- Hasan, Naser MY, et al. "Development of potential Self-microemulsifying lipid formulation for the oral administration of Curcumin." *Int J Adv Pharm Biol Chem* 2015: 590-602.
- Ibrahim, E.-S.A., Hassan, M.A., El-Mahdy, M.M., and Mohamed, A.S. "Formulation and evaluation of quercetin in certain dermatological preparations." *J. DRUG DEL. SCI. TECH*, 2017: 431–436.
- Islamiyah, Lia Faridatul. *Optimasi Formula Nanoemulsi Hidroklorothiazid Menggunakan Metode Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)*. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Universitas Brawijaya. Malang. 2018.
- Jain, Kunal, et al. "Enhanced oral bioavailability of atorvastatin via oil-in-water nanoemulsion using aqueous titration method." *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2013: 18-25.
- Jumaa, Muhamad, and Bernd W. Müller. "The effect of oil components and homogenization conditions on the physicochemical properties and stability of parenteral fat emulsions." *International Journal of Pharmaceutics*, 1998: 81-89.
- Kalam, Mohd Abul, et al. "Release kinetics of modified pharmaceutical dosage forms: a review." *Cont J Pharm Sci*, 2007: 30-5.
- Kearney, Patricia M., et al. "Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review." *Journal of hypertension*, 2004: 11-19.
- Kim, Young Il, et al. "The antihypertensive effect of orally administered nifedipine-loaded nanoparticles in spontaneously hypertensive rats." *British journal of pharmacology*, 1997: 399-404.

- Khan, Irfan Newaz, et al. "Characterization and ex-vivo skin permeation study of domperidone maleate transdermal patch." *Bull. Pharm. Res*, 2012: 15-21.
- Kohli, Kanchan, et al. "Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bioavailability." *Drug discovery today*, 2010: 958-965.
- Kong, Ming, et al. "Investigations on skin permeation of hyaluronic acid based nanoemulsion as transdermal carrier." *Carbohydrate Polymers*, 2011: 837-843.
- Kouchak, Maryam, and Somayeh Handali. "Effects of various penetration enhancers on penetration of aminophylline through shed snake skin." *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*, 2014: 24.
- Kumpugdee-Vollrath, M., T. Subongkot, and T. Ngawhirunpat. "Model membrane from shed snake skins." *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Medical, Health, Biomedical, Bioengineering and Pharmaceutical Engineering*, 2013: 669-676.
- Kunasekaran, Viveksarathi, and Kannan Krishnamoorthy. "Experimental design for the optimization of nanoscale solid lipid particles containing rasagiline mesylate." *Journal of Young Pharmacists*, 2015: 285.
- Kuruvala, Febi S., Flowerlet Mathew, and S. Kuppuswamy. "Solid Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (Snedd) Development, Applications And Future Perspective: A Review." *Indo American Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 2017: 651-669
- Lawrence, M.J., and Ress, G.D. "Microemulsion-based Media as Novel Drug Delivery Systems." *Adv. Drug Delivery Rev*, 2000: 89-121.
- Leong, T. S. H., et al. "Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification." *Ultrasonics Sonochemistry*, 2009: 721-727.
- Lipinski, Christopher A., et al. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Advanced drug delivery reviews*, 1997: 3-25.
- Lovelyn, Charles, and Anthony A. Attama. "Current state of nanoemulsions in drug delivery." *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2011: 626.
- Malik, Maqsood Ahmad, Mohammad Younus Wani, and Mohd Ali Hashim. "Microemulsion method: A novel route to synthesize organic and inorganic nanomaterials: 1st Nano Update." *Arabian journal of Chemistry*, 2012: 397-417.

- Martin, A., Swarbrick, J., dan A. Cammarata. 1993. *Farmasi Fisik 2. Edisi III.* Jakarta: UI Press.
- Mardiyadi, E., Muttaqien, S.E., Setyawati, D. R., Rosidah. I., dan Sriningsih. "Preparasi dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan sebagai Sistem Pengantaran Insulin Secara Oral." *Prosiding InSINAS MT-25*, 2012, 25-30
- Mason, T. G., et al. "Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties." *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2006: R635.
- McClements, David Julian. "Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities." *Soft matter*, 2012: 1719-1729.
- Mistry, RAJAN B., and Nirav S. Sheth. "A review: Self emulsifying drug delivery system." *Int J Pharm Pharm Sci*, 2011: 23-28.
- Moffat, A.C., Osselton, M.D., and Widdop, B. 2011. *Clarke's Isolation and Identification of Drug, 4st edition*. The Pharmaceutical Press. London.
- MSDS Castor Oil, www.naturalsourcing.com, diakses tanggal 10 Juli 2018
- MSDS Cremophor RH 40. BASF.com., diakses tanggal 15 Mei 2018
- MSDS Propylene Glycol, www.dow.com, diakses tanggal 10 Juli 2018
- MSDS Water, www.sciencelab.com, diakses tanggal 10 Juli 2018
- Mulja, M., Suharman, 1995, Analisis Instrumen, Cetakan 1, 26-32, Airlangga University Press, Surabaya.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=962, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/962> (accessed June 28, 2017).
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=11046239, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11046239> (accessed June 29, 2017).
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=3639, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3639> (accessed Oct. 8, 2017).
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=14030006, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/14030006> (accessed Oct. 8, 2017).

- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=9920342, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9920342> (accessed May 15, 2018).
- Ngawhirunpat, T., et al. "Comparison of the percutaneous absorption of hydrophilic and lipophilic compounds in shed snake skin and human skin." *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2006: 331-335.
- Nidhin, M., et al. "Synthesis of iron oxide nanoparticles of narrow size distribution on polysaccharide templates." *Bulletin of Materials Science*, 2008: 93-96.
- Patel, Dipen, et al. "Transdermal drug delivery system: a review." *The pharma innovation*, 2012.
- Pires, Maria Arlete Silva, Robson Augusto Souza dos Santos, and Rubén Dario Sinisterra. "Pharmaceutical composition of hydrochlorothiazid: β -cyclodextrin: Preparation by three different methods, physico-chemical characterization and in vivo diuretic activity evaluation." *Molecules*, 2011: 4482-4499.
- Prabhakar, Kandadi, et al. "Tween 80 containing lipid nanoemulsions for delivery of indinavir to brain." *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2013: 345-353.
- Priya, S., M. Koland, and S. Kumari. "Nanoemulsion Components Screening Of Quetiapine Fumarate: Effect Of Surfactant And Co Surfactant." *Asian J Pharm Clin Res*, 2015: 136-40.
- Ramteke, K. H., S. N. Dhole, and S. V. Patil. "Transdermal drug delivery system: a review." *Journal of Advanced Scientific Research*, 2012: 22-35.
- Rowe, R.C. et al. 2009. *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*, 5th Ed, The Pharmaceutical Press, London
- Saberi, Amir Hossein, Yuan Fang, and David Julian McClements. "Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions by spontaneous emulsification: Effect of propylene glycol and ethanol on formation, stability, and properties." *Food research international*, 2013: 812-820.
- Samant, Lalit R., and Anusha Bhaskar. "Transdermal drug delivery system: Review." *Journal of Pharmacy Research*, 2012: 899-900.
- Sanphui, Palash, et al. "Cocrystals of Hydrochlorothiazid: Solubility and Diffusion/Permeability Enhancements through Drug-Coformer Interactions." *Molecular pharmaceutics*, 2015: 1615-1622

- Saraf, S. "Applications of novel drug delivery system for herbal formulations." *Fitoterapia*, 2010: 680-689
- Savale, Sagark. "Review - Self-nanoemulsifying drug delivery system (Snedd)." *International Journal Of Research In Pharmaceutical And Nano Sciences*, 2015, 385 - 397.
- Shafiq-un-Nabi, Sheikh, et al. "Formulation development and optimization using nanoemulsion technique: a technical note." *Aaps Pharmscitech*, 2007: E12-E17.
- Shah, Shaukat, Ibrahim Khatri, and Edward D. Freis. "Mechanism of antihypertensive effect of thiazide diuretics." *American heart journal*, 1978: 611-618.
- Shah, Ishan. "Development and characterization of oil-in-water nanoemulsions from self-microemulsifying mixtures." 2011.
- Shakeel, Faiyaz, et al. "Accelerated stability testing of celecoxib nanoemulsion containing Cremophor-EL." *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2008: 179-183.
- Shakeel, F., et al. "Skin permeation mechanism of aceclofenac using novel nanoemulsion formulation." *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2008: 580-584.
- Shargel, Leon., Susanna Wu-Pong, Andrew B. C. Yu. 2005. *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan*, Edisi V, terjemahan Fasich dan Budi Suprapti, Airlangga University Press, Surabaya.
- Sica, Domenic A. "Thiazide-Type Diuretics: Ongoing Considerations on Mechanism of Action." *The Journal of Clinical Hypertension*, 2004: 661-664.
- Silva, Hélder D., Miguel A. Cerqueira, and António A. Vicente. "Influence of surfactant and processing conditions in the stability of oil-in-water nanoemulsions." *Journal of Food Engineering*, 2015: 89-98.
- Tatro D.S. 2003. *A to Z Drug Facts*. San Francisco: Facts and Comparisons.
- Vikrant, Sanjay, and S. C. Tiwari. "Essential hypertension-pathogenesis and pathophysiology." *Journal, Indian Academy of Clinical Medicine*, 2001: 140-161.
- Volker, A., 2009, Dynamic Light Scattering: Measuring the Particle Size Distribution, <http://www.1sinstruments.ch/technology/dynamiclightscatteringdls/>, diakeses tanggal 28 Juni 2017.

- Wang, Jie, and Xingjiang Xiong. "Outcome measures of Chinese herbal medicine for hypertension: an overview of systematic reviews." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- Waghmare, Nilkamal, et al. "Development of Isotretinoin gel for the treatment of acne vulgaris." *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2011: 220-230
- Wu,W., Wang, Y., Que,L. "Enhanced bioavailability of silymarin by self-microemulsifying drug delivery system." *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 2006: 63, 288–294
- Yadav, Pankajkumar S., et al. "Development, characterization, and pharmacodynamic evaluation of hydrochlorothiazid loaded self-nanoemulsifying drug delivery systems." *The Scientific World Journal*, 2014.
- Yiyun, Cheng, et al. "Transdermal delivery of nonsteroidal anti-inflammatory drugs mediated by polyamidoamine (PAMAM) dendrimers." *Journal of pharmaceutical sciences*, 2007: 595-602.
- Zhang, L., et al. "Development of nanoparticles for antimicrobial drug delivery." *Current medicinal chemistry*, 2010: 585-594.