

**FORMULASI SEDIAAN TRANSDERMAL GEL TERMOSENSITIF-
OXYPURINOL DAN KOMBINASI *SOLID MICRONEEDLES* BERBASIS
POLIMER SEBAGAI PENGOBATAN HIPERURISEMIA**

**FORMULATION OF A THERMOSENSITIVE *OXYPURINOL* GEL OF
TRANSDERMAL DELIVERY AND COMBINATION WITH POLYMER-
BASED *SOLID MICRONEEDLES* FOR THE TREATMENT OF
HYPERURICEMIA**



**SITI NUR FATIMAH S. MOHAMAD
N012221005**



**PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024s**

**FORMULASI SEDIAAN TRANSDERMAL GEL TERMOSENSITIF-
OXYPURINOL DAN KOMBINASI *SOLID MICRONEEDLES* BERBASIS
POLIMER SEBAGAI PENGobatan HIPERURISEMIA**

**SITI NUR FATIMAH S. MOHAMAD
N012221005**



**PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**FORMULATION OF A THERMOSENSITIVE *OXYPURINOL* GEL OF
TRANSDERMAL DELIVERY AND COMBINATION WITH POLYMER-
BASED SOLID MICRONEEDLES FOR THE TREATMENT OF
HYPERURICEMIA**

**SITI NUR FATIMAH S. MOHAMAD
N012221005**



**PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**FORMULASI SEDIAAN TRANSDERMAL GEL TERMOSENSITIF-
OXYPURINOL DAN KOMBINASI *SOLID MICRONEEDLES* BERBASIS
POLIMER SEBAGAI PENGobatan HIPERURISEMIA**

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

SITI NUR FATIMAH S. MOHAMAD
N012221005

kepada

**PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

FORMULASI SEDIAAN TRANSDERMAL GEL THERMOSENSITIVE
OXYPURINOL DAN KOMBINASI SOLID MICRONEEDLES BERBASIS
POLIMER SEBAGAI PENGOBATAN HIPERURISEMIA

SITI NUR FATIMAH S. MOHAMAD
N012221005

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada tanggal 23
bulan Agustus tahun 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Magister Farmasi
Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


Prof. Andi Dian Permana, Ph.D., Apt
NIP. 19890205 201212 1 002


Muhammad Aswad, Ph.D., Apt.
NIP. 19800101 200312 1 004

Ketua Program Studi

Dekan Fakultas Farmasi


Muhammad Aswad, Ph.D., Apt
NIP. 19800101 200312 1 004


Prof. Dr. rer-nat. Marianti A. M. Apt.
NIP. 19670319 199203 2 002



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Formulasi Sediaan Transdermal Gel Termosensitif *Oxypurinol* dan Kombinasi *Solid Microneedles* Berbasis Polimer Sebagai Pengobatan Hiperurisemia" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Prof. Andi Dian Permana, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. dan Muhammad Aswad, M.Si., Ph.D., Apt.). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan (*ACS Omega*) sebagai artikel dengan judul "*Enhanced and sustained transdermal delivery of Oxypurinol using thermosensitive gel combined with polymeric solid microneedles*". Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 23 Agustus 2024



Siti Nur Fatimah S. Mohamad
N012221005

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada *Allah Subhanahu wa Ta 'ala* atas berkat dan Rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan seluruh tesis ini sebagai salah satu syarat menyelesaikan studi dan memperoleh gelar magister di Program studi Magister Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Penyusunan tesis ini tidak lepas dari dukungan, bantuan, dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan penuh rasa hormat saya ingin menyampaikan rasa Syukur dan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Andi Dian Permana, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, dukungan serta bantuan kepada penulis selama masa pelaksanaan penelitian serta penulisan tesis.
2. Bapak Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. selaku pembimbing pendamping dan ketua program studi yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, saran, serta bantuan bagi penulis dalam melaksanakan penelitian dan masa studi kuliah.
3. Prof. Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm, Ph.D. Apt., Habibie, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt., dan Dr. Aliyah, M.S., Apt. selaku penguji yang telah meluangkan waktunya, memberikan masukan dan saran terkait penelitian serta proses penyelesaian tesis ini.
4. Dekan, wakil dekan, para dosen, dan seluruh staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan dukungan, bimbingan, dan sarana yang telah diberikan sejak awal perjalanan kuliah hingga saat ini.
5. Kedua orang tua penulis bapak Budiman Soejono dan ibu Herlina Ahmad, kedua adik penulis Muchsin Zulhijjah Mohamad dan Hermansyah Zulkifli Mohamad serta seluruh keluarga penulis yang selalu memberikan dukungan, motivasi, dan kasih sayang sehingga penulis mampu untuk menyelesaikan penelitian dan tesis.
6. Tim peneliti Jumriani, Ratnawati, dan Anugrah yang selalu memberi dukungan kepada penulis.
7. Rekan-rekan angkatan magister tahun 2022 yang telah memberi dukungan, serta motivasi selama masa studi dan penelitian peneliti.
8. Seluruh laboran laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, rekan-rekan Korps. Asisten Farmasetika, dan adik-adik PKM 2024.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas segala kebaikan dan bantuan yang telah diberikan oleh semua pihak. Semoga tesis ini bermanfaat bagi pembaca dan dapat menjadi sumbangsih dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 23 Agustus 2024



Siti Nur Fatimah S. Mohamad

ABSTRAK

SITI NUR FATIMAH S. MOHAMAD. **Formulasi Sediaan Transdermal Gel Termosensitif *Oxypurinol* dan Kombinasi *Solid Microneedles* Berbasis Polimer Sebagai Pengobatan Hiperurisemia** (dibimbing oleh Andi Dian Permana dan Muhammad Aswad).

Latar belakang. Gout merupakan kondisi patologis yang disebabkan oleh pengendapan kristal monosodium urate (MSU) dalam jaringan. Penggunaan *allopurinol* sebagai terapi lini pertama kurang efektif disebabkan oleh penurunan perubahan *allopurinol* menjadi *oxypurinol* (OXY) menyebabkan pembentukan asam urat tidak menurun secara signifikan. OXY sulit untuk dihantarkan melalui oral dan IV karena memiliki bioavailabilitas yang rendah, serta tingkat kenyamanan dan kepatuhan pasien yang rendah. **Tujuan.** Untuk mengatasi masalah tersebut OXY perlu diformulasikan ke dalam gel termosensitif (GTR). GTR yang terbuat dari Pluronic® F127 (PL-127) dan F68 (PL-68) mampu mengurangi frekuensi penggunaan obat dan meningkatkan kepatuhan pasien. Untuk meningkatkan permeasi OXY, GTR dikombinasikan dengan *polymeric solid microneedles* (PSMN) yang membantu obat menembus *stratum corneum*. **Metode:** *Molecular docking* dilakukan untuk menganalisis interaksi pengikatan antara OXY dan Pluronic®. Gel termosensitif diformulasi dan dievaluasi untuk suhu gelasi, pH, kemampuan penyebaran, dan kekuatan bioadhesif. PSMN terbuat dari *polyvinyl alcohol* (PVA) dan *polyvinylpyrrolidone* (PVP) K-30 dengan asam sitrat sebagai *crosslinker*. PSMN dievaluasi terhadap kekuatan mekanik dan insersi. Evaluasi terhadap aktivitas hemolitik *in vitro*, profil pelepasan obat secara *in vitro*, serta permeasi secara *ex vivo* dengan dan tanpa PSMN serta retensi dilakukan dalam penelitian ini. **Hasil.** Hasil *molecular docking* menunjukkan ikatan yang stabil antara OXY dan Pluronic®. Selanjutnya, formulasi GTR menunjukkan karakteristik yang menjanjikan untuk penghantaran obat transdermal dengan konsentrasi optimal PL-127 19% dan PL-68 7,7%. PSMN menunjukkan kekuatan mekanik yang baik dan mampu berpenetrasi hingga 504 μm . Pengujian hemolitik menunjukkan PSMN dan GTR aman dengan rasio hemolitik kurang dari 5%. Studi pelepasan obat *in vitro* menunjukkan pelepasan OXY yang tinggi sebesar $2,24 \pm 0,26$ mg dengan konsentrasi PL-68 tertinggi dan menampilkan profil pelepasan yang berkelanjutan. Studi permeasi *ex vivo* menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara permeasi OXY tanpa kombinasi dan yang dikombinasikan dengan PSMN. PSMN mampu meningkatkan permeasi OXY sebesar 79-81% dibandingkan dengan permeasi tanpa PSMN. **Kesimpulan.** Penelitian ini berhasil memformulasikan GTR-OXY yang dikombinasikan dengan PSMN untuk meningkatkan penghantaran transdermal OXY. Hasil ini menunjukkan rute baru yang menjanjikan untuk penghantaran OXY yang berpotensi memberikan pengobatan gout yang lebih efisien dan nyaman bagi pasien.

Kata kunci: Gout, *Oxypurinol*, Inhibitor Xanthine Oxidase, Gel Termosensitif, *Polymeric Solid Microneedle*

ABSTRACT

SITI NUR FATIMAH S. MOHAMAD. **Formulation of a Thermosensitive Oxypurinol Gel of Transdermal Delivery and Combination with Polymer-Based Solid Microneedles for the Treatment of Hyperuricemia** (supervised by Andi Dian Permana and Muhammad Aswad).

Background. Gout is a pathological condition caused by monosodium urate (MSU) crystals deposition in tissues. Allopurinol, as a first-line therapy, is less effective due to its reduced conversion to oxypurinol (OXY), resulting in an insignificant reduction in uric acid formation. OXY is challenging to deliver orally and intravenously because of its low bioavailability, and the associated discomfort as well as low compliance levels among patients. **Aim.** To address these issues, it is necessary to develop OXY in a thermosensitive gel (TRG). TRG made from Pluronic® (PL-127) and F68 (PL-68) can reduce the frequency of drug use and improve patient compliance. To enhance the permeation of OXY, TRG is combined with polymeric solid microneedles (PSMN) which help the drug penetrate through the stratum corneum. **Methods.** Molecular docking was performed to analyze the binding interactions between OXY and Pluronic®. The TRG was formulated and evaluated for gelation temperature, pH, spreadability, and bioadhesive strength. PSMN made from polyvinyl alcohol (PVA) and polyvinylpyrrolidone (PVP) K-30 with citric acid as a crosslinker were evaluated for mechanical strength and insertion ability. *In vitro* hemolytic activity, *in vitro* drug release profile, *ex vivo* permeation with and without PSMN, and retention studies were conducted. **Results.** Molecular docking results showed stable binding between OXY and Pluronic®. The TRG formulation exhibited promising characteristics for transdermal drug delivery with optimal concentration of PL-127 19% and PL-68 7.7%. PSMN demonstrated good mechanical strength and was able to penetrate up to 504 µm. Hemolytic testing showed that PSMN and TRG were safe, with a hemolysis ratio less than 5%. *In vitro* drug release studies showed a high OXY release of 2.24 ± 0.26 mg with the highest concentration of PL-68 displaying a sustained release profile. *Ex vivo* permeation studies showed a significant difference ($p < 0.05$) between OXY permeation without and with PSMN combination. PSMN increased OXY permeation by 79-81% compared to permeation without PSMN. **Conclusion.** This study successfully formulated a TRG-OXY combined with PSMN to enhance the transdermal delivery of OXY. The results indicate a promising new route for OXY delivery, potentially providing a more efficient and comfortable treatment for gout patients.

Keywords: Gout , Oxypurinol, Xanthine oxidase inhibitor, Thermosensitive Gel, Polymeric Solid Microneedles

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN TESIS.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	vi
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penulisan.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Kerangka Teori.....	6
1.6 Kerangka Konsep.....	7
BAB II METODE PENELITIAN	7
2.1 Rancangan dan Lokasi Penelitian	8
2.2 Alat dan Bahan.....	8
2.3 Metode Kerja	8

2.3.1 Analisis <i>Oxypurinol</i> Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	8
2.3.2 <i>Molecular Docking</i>	9
2.3.3 Formulasi gel termosensitif	10
2.3.4 Karakterisasi Gel termosensitif	10
2.3.5 Formulasi <i>Polymeric solid microneedle</i>	12
2.3.6 Evaluasi <i>Polymeric solid microneedle</i> Berbasis Polimer	12
2.3.7 Uji <i>In vitro</i> : Hemolisis darah	13
2.3.8 Pelepasan obat secara <i>in vitro</i>	13
2.3.9 Uji Permeasi secara <i>ex-vivo</i> tanpa PSMN	14
2.3.10 Uji permeasi secara <i>ex-vivo</i> dengan PSMN	14
2.3.11 Uji retensi gel	14
2.3.12 Analisis Statistik	15
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	16
3.1 <i>Molecular Docking</i>	16
3.2 Formulasi Gel termosensitif <i>Oxypurinol</i>	17
3.3 Karakterisasi Gel termosensitif <i>Oxypurinol</i>	18
3.2.1 Suhu gelasi.....	18
3.2.2 Uji pH	19
3.2.3 Uji daya sebar	20
3.2.4 Uji kekuatan bioadhesif.....	21
3.4 Evaluasi <i>Polymeric solid microneedle</i> (PSMN)	22
3.5 Hasil Pengujian <i>In vitro</i> dan <i>Ex vivo</i>	23
3.4.1 Uji aktivitas hemolitik secara <i>in vitro</i>	23
3.4.2 Pelepasan obat secara <i>in vitro</i>	24
3.4.3 Permeasi dan retensi secara <i>ex vivo</i>	25
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	28
4.1 Kesimpulan.....	28
4.2 Saran.....	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Ukuran grid box dalam analisis molecular docking	10
Tabel 2. Rancangan formula gel termosensitif-OXY	10
Tabel 3. Perbedaan antara Pluronic® F127 dan F68 (Chen et al., 2021; Khaliq et al., 2023)	17
Tabel 4. Hasil uji hemolisis GTR-OXY dan PSMN (Rata-rata $\pm$ SD, n=3) ..	24

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kerangka teori.....	6
Gambar 2. Kerangka konsep	7
Gambar 3. Ilustrasi pengujian kekuatan bioadhesif	11
Gambar 4. Ilustrasi permeasi menggunakan sel Difusi Franz dengan kondisi tanpa pretreatment PSMN (A) dan dengan PSMN (B)	15
Gambar 5. Tampilan model 3D ikatan H OXY-Pluronic® F127 (A) dan OXY-PEG (B)	17
Gambar 6. Pembentukan GTR-OXY pada suhu ruang (a) dan suhu tubuh (b).....	18
Gambar 7. Diagram hasil uji suhu gelasi (Tsol-gel) (Rata-rata $\pm$ SD, n=3).....	19
Gambar 8. Diagram hasil pengujian pH GTR-OXY (Rata-rata $\pm$ SD, n=3).....	20
Gambar 9. Diagram hasil pengujian daya sebar GTR-OXY (Rata-rata $\pm$ SD, n=3).....	21
Gambar 10. Diagram hasil pengujian kekuatan bioadhesif GTR-OXY (Rata-rata $\pm$ SD, n=3)	21
Gambar 11. Morfologi PSMN sebelum uji mekanik (A), dan setelah uji mekanik (B)	23
Gambar 12. Hasil uji insersi PSMN (Rata-rata $\pm$ SD, n=3)	23
Gambar 13. Hasil uji hemolitik setelah inkubasi konsentrasi 500 bpj (A), 50 bpj (B), dan 5 bpj (C)	24
Gambar 14. Profil pelepasan obat GTR-OXY secara In vitro (Rata-rata $\pm$ SD, n=3).....	25
Gambar 15. Profil permeasi GTR-OXY tanpa PSMN (A), permeasi dengan PSMN (B), dan retensi kulit setelah 24 jam (C) (Rata-rata $\pm$ SD, n=3)	27

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema kerja.....	36
Lampiran 2. Panjang gelombang maksimum dan kurva baku.....	37
Lampiran 3. Dokumentasi penelitian.....	38
Lampiran 4. Perhitungan	39
Lampiran 5. Analisis Statistik.....	41

DAFTAR SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan penjelasan
μ	Mikro
b/b	Bobot dalam bobot
DALYs	<i>Disability-Adjusted Life Years</i>
GTR	Gel termosensitif
IV	Intravena
MSU	<i>Monosodium urate crystals</i>
OXY	<i>Oxypurinol</i>
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PEO	<i>Poly(ethylene oxide)</i>
PL-127	Pluronic® F127
PL-68	Pluronic® F68
PPO	<i>Poly(propylene oxide)</i>
PSMN	<i>Polymeric solid microneedle</i>
PVA	<i>Polyvinyl alcohol</i>
PVP	<i>Polyvinylpyrrolidone</i>
TDDS	<i>Transdermal drug delivery system</i>
UV	<i>Ultra violet</i>
Vis	<i>Visible</i>
XO	<i>Xanthine Oxidase</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gout merupakan kondisi patologis akibat pengendapan *monosodium urate crystals* (MSU) dalam jaringan, utamanya terjadi pada sendi. Kondisi ini biasanya dipicu oleh tingginya kadar asam urat dalam darah (Hiperurisemia) (Benn et al., 2018; Ragab et al., 2017). Kondisi gout yang berlangsung lama dapat menyebabkan erosi tulang, kerusakan tulang rawan, terbentuknya tofi dan penyakit komorbid pada sistem kardiovaskular, renal, metabolik, neurologi, dan oftalmologis (Ragab et al., 2017; Singh & Gaffo, 2020). Menurut data *global burden of gout* pada tahun 2019 jumlah kasus gout di seluruh dunia mencapai sekitar 53,87 juta meningkat lebih dari dua kali lipat dibandingkan tahun 1990. Selama 30 tahun terakhir prevalensi penyakit gout meningkat di hampir seluruh wilayah dunia, tingkat peningkatan prevalensi, insiden, dan *disability-adjusted life years* yang telah di standarisasi menurut usia juga menunjukkan percepatan selama periode 1990 - 2019 dengan pertumbuhan tahunan sekitar 0,77% hingga 0,94% terutama dikalangan pria (Han et al., 2024).

Terapi lini pertama pada gout adalah *allopurinol* yang bekerja sebagai inhibitor enzim *xanthine oxidase* (XO). *Allopurinol* mampu menurunkan kadar asam urat dengan menghambat enzim XO yang terlibat dalam jalur katabolisme purin dimana *hypoxanthine* diubah menjadi *xantine* dan diubah menjadi asam urat (FitzGerald et al., 2020; Hughes et al., 2023). Namun, terdapat laporan bahwa *allopurinol* tidak efektif dalam menurunkan kadar asam urat karena konversi *allopurinol* menjadi *oxypurinol* menurun, sehingga kadar asam urat tidak menurun secara signifikan (Stamp et al., 2014). Oleh karena itu, perlu dipertimbangkan untuk menggunakan *Oxypurinol* sebagai alternatif agen penghambat XO. *Oxypurinol* (OXY) merupakan penghambat enzim XO, memiliki waktu paruh yang lebih lama sekitar 13 – 18 jam

dibandingkan dengan *allopurinol* yang waktu paruh lebih pendek sekitar 1 – 1,6 jam, sehingga *allopurinol* membutuhkan frekuensi penggunaan dosis yang berulang dibandingkan OXY (Day et al., 2007; Tayama et al., 2022).

Berbagai rute pemberian obat telah dikembangkan mulai dari rute oral, sublingual, rektal, parenteral, transdermal dan berbagai rute lainnya (Kim & De Jesus, 2021). Pengobatan gout saat ini umumnya diberikan melalui rute oral dan intravena (IV). OXY dapat diformulasikan untuk penghantaran melalui dua rute tersebut, akan tetapi terdapat beberapa kekurangan pada rute oral maupun IV. OXY sulit untuk terdisolusi karena sifatnya yang tidak larut air, mengakibatkan turunnya bioavailabilitas obat. Selain itu, obat yang diberikan secara oral akan mengalami *first-pass metabolism* dan aktivitas enzim gastrointestinal yang dapat menghambat penyerapan obat (Day et al., 2007; Herman & Santos, 2023). Sedangkan, rute IV memerlukan penggunaan jarum suntik yang dapat menyebabkan rasa sakit, membutuhkan bantuan tenaga medis, menghasilkan limbah medis, serta meningkatkan risiko infeksi akibat penyuntikan yang tidak tepat. Hal ini dapat menyebabkan ketidakpatuhan pasien terhadap perawatan dan penolakan terhadap pengobatan (Carr et al., 2020; Zhang et al., 2022). Pengobatan gout utamanya gout kronis sering kali memerlukan waktu yang lama. Oleh karena itu, kenyamanan pasien sangat penting untuk diperhatikan. Salah satu rute penghantaran yang dapat digunakan adalah sistem penghantaran obat transdermal atau *transdermal drug delivery system* (TDDS). Sistem ini memungkinkan pasien untuk melakukan pengobatan secara mandiri dan nyaman, dengan frekuensi pengobatan yang lebih sedikit dibandingkan dengan terapi oral atau IV, sehingga dapat meningkatkan kepatuhan dan kenyamanan pasien dalam jangka panjang (Khanna et al., 2011; Xu et al., 2023).

Sistem penghantaran obat melalui transdermal menawarkan berbagai keuntungan dibandingkan dengan penghantaran obat melalui rute oral seperti menghindari efek *first-pass metabolism*, meningkatkan

bioavailabilitas, serta mengurangi efek samping pada gastrointestinal. Bentuk sediaan seperti gel termosensitif (GTR) menjadi salah satu bentuk sediaan yang menjanjikan karena dapat mengurangi frekuensi penggunaan obat. GTR adalah jenis *gel in situ* yang mengalami transformasi menjadi bentuk gel ketika dipengaruhi oleh perubahan suhu lingkungan. Perubahan suhu ini menyebabkan transisi antara keadaan *solution* (sol) dan gel, di mana polimer berubah dari keadaan misel terdispersi menjadi struktur jaringan tiga dimensi yang padat (Fan et al., 2022; Y. Yu et al., 2021). Polimer yang sering digunakan dalam formulasi gel termosensitif adalah Pluronic® F127 (PL-127) dan Pluronic® F68 (PL-68) (Enggi et al., 2021; Permana, Utami, et al., 2021). Pluronic® F127 dan Pluronic® F68 adalah *triblock copolymer* yang tersusun atas inti hidrofobik *poly(propylene oxide)* (PPO), dengan *poly(ethylene oxide)* (PEO) yang hidrofilik di kedua ujungnya (Fan et al., 2022). OXY akan terenkapsulasi dalam sistem misel GTR, yang memungkinkan pengontrolan pelepasan OXY dan dapat diberikan dengan frekuensi yang lebih sedikit. Hal ini dapat meningkatkan kenyamanan serta kepatuhan pasien selama pengobatan gout, karena frekuensi penggunaan obat yang lebih sedikit, nyaman digunakan sehingga dapat meningkatkan kualitas hidup.

Pluronic® F127 dan F68 memiliki sifat fisikokimia yang berbeda seperti dalam bobot molekul serta perbandingan PPO dan PEO-nya. Hal ini dapat mempengaruhi struktur misel dan viskositas gel yang dihasilkan. Penelitian oleh Frederika et al, 2024 menetapkan komposisi polimer optimal gel termosensitif-Fucoidan adalah PL-127 19%, dan PL-68 7%. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa dengan memvariasikan konsentrasi masing-masing Pluronic®, terdapat perbedaan suhu gelasi yang signifikan sehingga pada penelitian ini dilakukan variasi hanya pada salah satu jenisnya yaitu PL-68, dan dapat diperoleh data informasi yang lebih jelas mengenai pengaruh spesifik PL-68 terhadap sifat dan kekuatan gel.

Kekurangan GTR dalam penghantaran OXY ke dalam sirkulasi darah adalah adanya *stratum corneum* (SC), SC merupakan penghalang utama

(*barrier*) yang melindungi tubuh dari lingkungan luar (Murphrey et al., 2018). Sehingga OXY akan sulit untuk melewati SC saat diaplikasikan. Untuk meningkatkan penghantaran OXY, GTR dikombinasikan dengan sediaan TDDS lainnya yaitu *Polymeric solid microneedle* (PSMN) sebagai *pretreatment*.

Polymeric solid microneedle (PSMN) merupakan jenis *microneedle* yang terbuat dari polimer seperti PVA dan PVP, serta *crosslinker*. PSMN mampu menembus *stratum corneum* (SC) dan membentuk pori pada kulit dengan ukuran jarum yang mikro (25 –1000 μm) (Aldawood et al., 2021; Anbazhagan et al., 2023; Y. Yu et al., 2021; Zhang et al., 2022). PSMN tidak menstimulasi nyeri karena jarumnya tidak mencapai ujung saraf sehingga pasien tidak merasakan nyeri (Batra et al., 2020; Zhang et al., 2022). Bahan formulasi PSMN merupakan bahan yang biokompatibel dan biodegradable, sehingga aman untuk digunakan (Mdanda et al., 2021). Dengan terbentuknya mikropori pada kulit, GTR yang diaplikasikan di atas mikropori mampu untuk menembus SC sehingga meningkatkan permeasi obat, dan dengan profil pelepasan *sustained release*, OXY diharapkan akan dilepaskan secara perlahan ke dalam kulit dan masuk ke peredaran darah.

Oleh sebab itu, pada penelitian ini dilakukan formulasi serta evaluasi karakteristik GTR sebagai sistem penghantaran OXY, variasi konsentrasi PL-127 & PL-68 pada formula GTR-OXY kemudian diidentifikasi profil pelepasan melalui uji pelepasan obat secara *in vitro* dan peningkatan permeasi saat diaplikasikan dengan PSMN pada pengujian permeasi secara *ex vivo*. Selain itu, penelitian ini menggunakan pendekatan secara *in silico* melalui *molecular docking*. *Molecular docking* merupakan sebuah teknik komputasi dilakukan untuk menganalisis ikatan molekul pada situs pengikatan terhadap molekul lain berdasarkan energi ikatan minimum (Mohanty & Mohanty, 2023). Pada pengembangan obat, *molecular docking* umumnya dilakukan untuk analisis interaksi antar molekul kecil dan protein pada level atomik (Meng et al., 2011). Namun, beberapa penelitian telah menggunakan *molecular docking* sebagai

teknik komputasi untuk menganalisis kestabilan obat dan polimer melalui pendekatan energi ikatan minimum yang dihasilkan (Ndlovu et al., 2019; Plugariu et al., 2023). Sehingga, pada penelitian ini *molecular docking* digunakan untuk menganalisis energi ikatan antara OXY dan Pluronic®. Hasil penelitian ini diharapkan mampu untuk memberikan informasi OXY sebagai pengobatan jangka panjang gout kronik yang dapat meningkatkan kenyamanan serta kepatuhan pasien selama pengobatan, dengan frekuensi penggunaan obat yang lebih sedikit, nyaman digunakan dan dapat meningkatkan kualitas hidup.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi Pluronic® F68 terhadap karakteristik sediaan gel termosensitif *Oxypurinol*?
2. Berapa konsentrasi Pluronic® F127 dan Pluronic® F68 yang menghasilkan karakteristik gel terbaik?
3. Bagaimana pengaruh Pluronic® F127 dan Pluronic® F68 terhadap pelepasan obat?
4. Bagaimana pengaruh PSMN terhadap profil permeasi *ex vivo* gel termosensitif *Oxypurinol*?

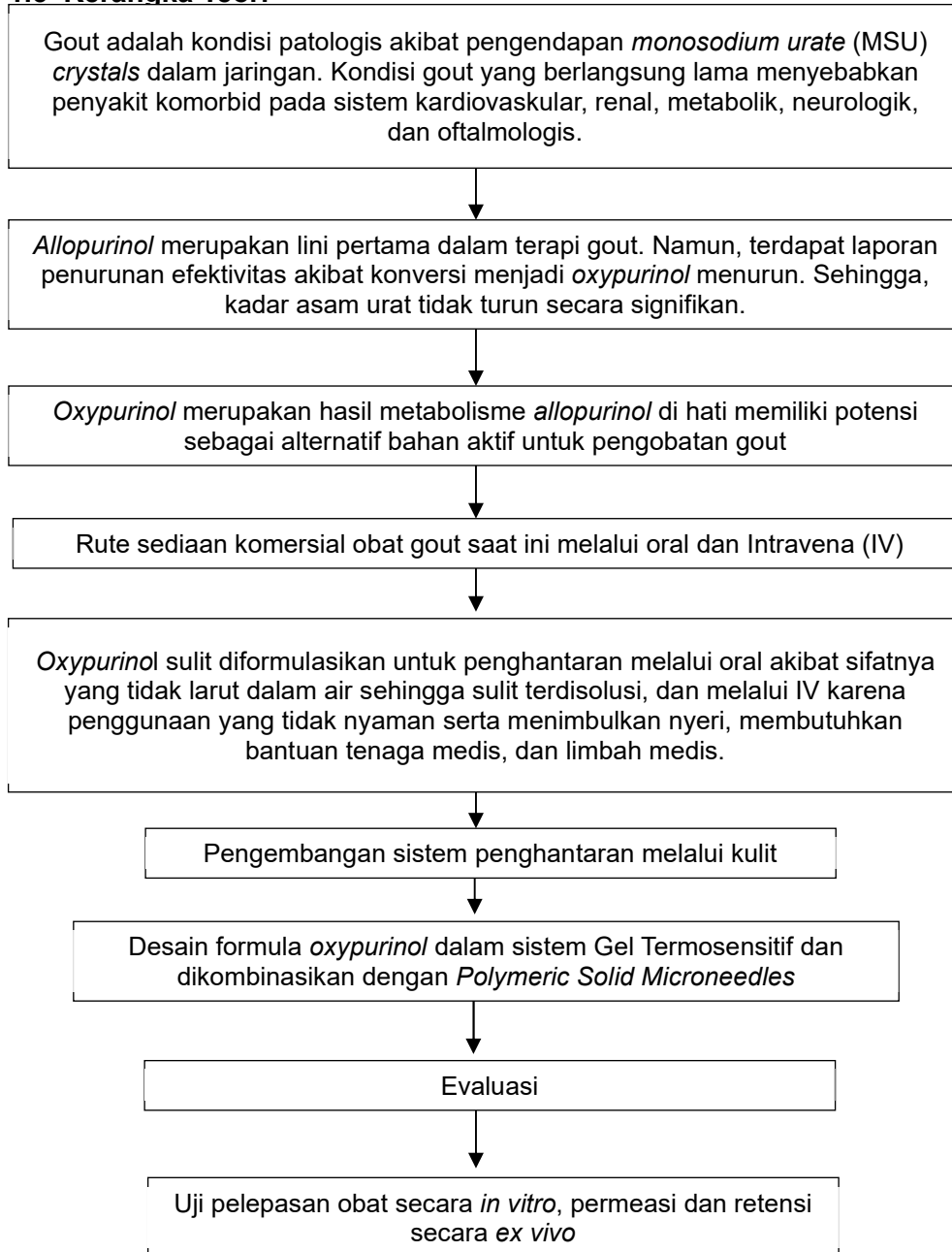
1.3 Tujuan Penulisan

1. Mengetahui pengaruh variasi konsentrasi Pluronic® F68 terhadap karakteristik sediaan gel termosensitif *Oxypurinol*?
2. Menetapkan konsentrasi Pluronic® F127 dan Pluronic® F68 yang menghasilkan karakteristik gel terbaik
3. Menetapkan pengaruh Pluronic® F127 dan Pluronic® F68 terhadap pelepasan obat.
4. Menentukan pengaruh PSMN terhadap profil permeasi *ex vivo* gel termosensitif *Oxypurinol*.

1.4 Manfaat Penelitian

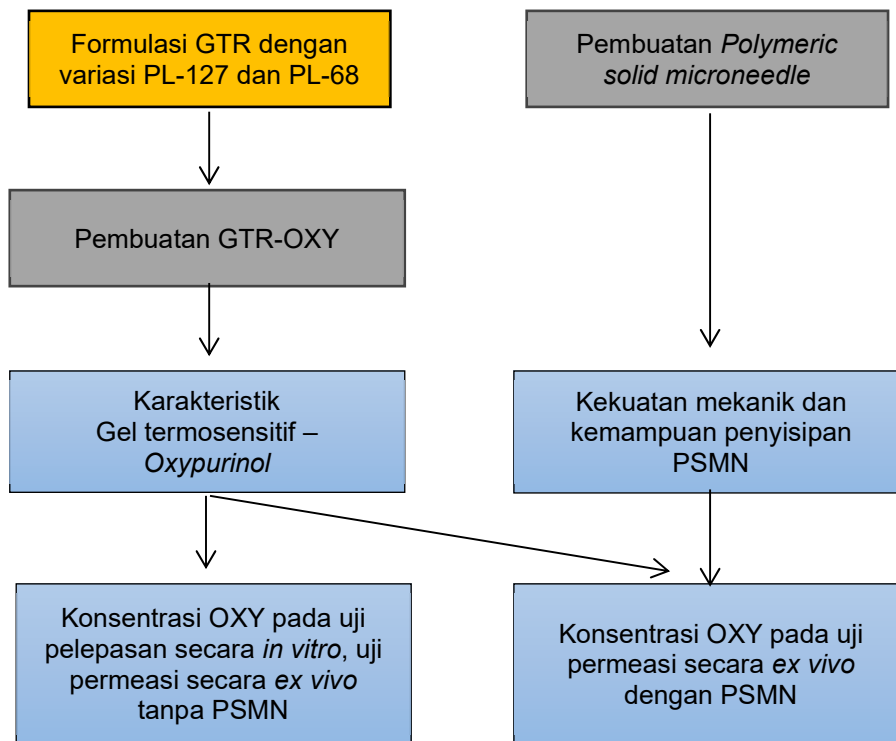
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan landasan yang kuat dalam pengembangan ilmu pengetahuan di bidang kesehatan, khususnya dalam pengobatan gout menggunakan PSMN yang dikombinasikan dengan *gel termosensitif Oxypurinol*.

1.5 Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka teori

1.6 Kerangka Konsep



Keterangan:

Variabel bebas

Variabel terikat

Variabel kontrol

Gambar 2. Kerangka konsep

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Rancangan dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk mendesain formula *Polymeric solid microneedle* berbasis polimer dan gel termosensitif dari *Oxypurinol* serta pengujian secara *ex vivo* untuk melihat aktivitas dari sediaan tersebut. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Farmasetika dan laboratorium Biofarmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas (Iwaki®), timbangan analitik, timbangan gram kasar, termometer, mikro pipet, *diffusion cell apparatus*, sonikator GT SONIC®, LC-04S *centrifuge* Oregon®, *centrifuge* DLAB®, spektrofotometer Uv-Vis (Dynamica XB-10 Single Beam), pH meter (PL-700® Tipe PC), vortex B-One®, viskometer *Brookfield* (NDJ-5S Viscometer), inkubator, oven Memmert®, mikroskop, jangka sorong, pelat kaca, hotplate B-One®, kertas perkamen, *mould microneedle*.

Bahan- bahan pada penelitian ini adalah *Oxypurinol* (OXY), aquades (Waterone), asam sitrat, *Polyvinyl alcohol* (PVA), *Polyvinylpyrrolidone* K-30 (PVP), Pluronic® F127 (PL-127), Pluronic® F68 (PL-68), *Phosphate Buffered Saline* (PBS) pH 7,4, NaOH, eritrosit, tris buffer, Parafilm®, kulit tikus *Wistar*, aluminium foil, *plastic wrap*, *microtube*, *corning tube*, dan kertas perkamen.

2.3 Metode Kerja

2.3.1 Analisis *Oxypurinol* Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

a. Pembuatan Larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,4

Larutan PBS pH 7,4 dibuat dengan melarutkan 1,994 gram serbuk PBS ke dalam 1000 mL Waterone® lalu diaduk dengan kecepatan konstan dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.

b. Pembuatan Larutan NaOH 0,1 N

Larutan NaOH 0,1 N dibuat dengan melarutkan 0,4 gram NaOH dengan Waterone® hingga 100 mL lalu diaduk dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan kemudian disimpan dalam botol dan diberi label.

c. Larutan Stok

Larutan stok OXY dibuat dalam konsentrasi 1000 bpj, sebanyak 5 mg OXY dimasukkan dalam labu tentukur, dan dilarutkan dengan NaOH 0,1N hingga 5 ml. Larutan disonikasi selama 10 menit.

d. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan uji dibuat dengan mencuplik 0,02 mL larutan stok dan di cukupkan sampai 1 mL dengan PBS pH 7,4 dalam *microtube*. Larutan kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Penentuan panjang gelombang maksimum OXY dilakukan memasukkan blank (PBS pH 7,4) ke dalam kuvet dan dipindai pada panjang gelombang 200-400 nm. Kemudian larutan OXY (20 bpj) diukur dan dipindai dengan cara yang sama saat memindai larutan blank.

e. Pembuatan seri pengenceran

Pembuatan seri pengenceran OXY dalam PBS pH 7,4 dibuat dalam konsentrasi 2,5, 5, 10, 20, 40, dan 80 bpj. Pengenceran dilakukan dengan mencuplik volume yang sesuai pada larutan stok dan dicukupkan menggunakan PBS pH 7,4 dalam labu tentukur. Kemudian disonikasi selama 10 menit. Seri konsentrasi kemudian diukur pada alat Spektrofotometer UV-Vis. Hasil yang diperoleh dimasukkan dalam *Microsoft excel*[®] hingga diperoleh persamaan garis linear serta R^2 .

2.3.2 Molecular Docking

Molecular Docking merupakan teknik komputasi yang digunakan untuk memprediksi afinitas pengikatan ligan terhadap reseptor. Penelitian ini mensimulasikan afinitas antara OXY sebagai ligan dan Pluronic[®] sebagai reseptor. Perbandingan afinitas OXY dilakukan terhadap Pluronic[®] F-127, serta terhadap PEG sebagai pembanding. Struktur 3D OXY dan Pluronic[®] F127 diperoleh dari *database* PubChem (OXY CID: 135398752, dan PL-127 CID: 10154203). Analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak UCSF Chimera versi 1.17 untuk visualisasi, analisis, dan pemodelan struktur molekul. Pada analisis ini, ligan dan reseptor disiapkan dengan fitur “*Dock Prep*” pada Chimera untuk optimasi geometri dan minimalisasi energi. Selanjutnya, perangkat lunak AutoDock Vina digunakan untuk mengoptimalkan penempatan ligan dalam situs pengikatan pada reseptor dengan membentuk grid box yang mencakup seluruh molekul (Agu et al., 2023; Enggi et al., 2024; Plugariu et al., 2023; Sulistiawati et al., 2024).

Ukuran grid box dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil afinitas dan ikatan hidrogen antarmolekul yang diperoleh dicatat.

Tabel 1. Ukuran grid box dalam analisis *molecular docking*

Reseptor - Ligand	Grid Center (x; y; z)	Grid Size (x; y; z)
Pluronic® F127 – OXY	-0,33; 0,0175; 0,121	26,72; 24; 15,99; 12,74
<i>Polyethylene glycol</i> - OXY	-0,132; 0; -0,3	13,42; 7,89; 7,47

2.3.3 Formulasi gel termosensitif

Tabel 2. Rancangan formula gel termosensitif-OXY

Bahan	Formula (%)			
	G1	G2	G3	G4
Pluronic® F127	19	19	19	19
Pluronic® F68	0	6,7	7,7	8,7
OXY	1	1	1	1
Aquadest	Hingga 100%			

Komposisi formula Gel termosensitif OXY dapat dilihat pada tabel 2. Untuk membuat Gel termosensitif digunakan metode dingin yang dimodifikasi, Pluronic® F127 dan Pluronic® F68 dimasukkan ke dalam beaker kemudian aquadest (4°C) dimasukkan secara perlahan. Campuran diaduk secara konstan menggunakan *magnetic stirrer* hingga diperoleh larutan poloxamer. Untuk memperoleh larutan jernih larutan poloxamer disimpan dalam lemari pendingin. OXY (0,2 g) dimasukkan ke dalam larutan poloxamer dan diaduk hingga homogen (Enggi et al., 2021).

2.3.4 Karakterisasi Gel termosensitif

a. Uji suhu gelasi

Pengukuran suhu gelasi dilakukan dengan metode vial yang dimodifikasi. Masing-masing formulasi gel sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam vial dan ditempatkan pada suhu 4°C. Kemudian vial direndam dalam air bersuhu 20°C yang suhunya dinaikkan secara bertahap sebesar 1°C hingga mencapai 65°C. Masing-masing gel kemudian diamati secara visual dengan membalik tabung reaksi hingga 90° untuk setiap suhu. Suhu gelasi adalah suhu dimana cairan tidak dapat mengalir dan berubah menjadi gel (Enggi et al., 2021).

b. Uji pH

Pengujian pH sediaan gel termosensitif OXY menggunakan pH meter digital. Pengukuran dilakukan dengan memasukkan elektroda ke

dalam sediaan gel pada suhu ruang, kemudian hasil pH dicatat dan dihitung rata-ratanya (Enggi et al., 2021).

c. Uji daya sebar

Gel ditimbang sebanyak 5 gram dan ditempatkan di antara dua pelat kaca, kemudian diberi beban 500 gram selama 5 menit. Daya sebar gel kemudian diukur menggunakan jangka sorong, dan dicatat (Sulistiawati et al., 2022).

d. Uji kekuatan bioadhesif

Pengujian kekuatan bioadhesif dilakukan menggunakan kulit tikus, sebelum digunakan kulit tikus dibilas menggunakan PBS pH 7,4 (Lihat gambar 3). Kulit tikus digunakan sebagai membran, membran kemudian diletakkan di antara vial atas dan bawah. Gel sebanyak 1gram ditambahkan ke membran vial bawah, kedua vial dipertemukan sehingga dua permukaan membran bersentuhan dan ditahan selama 2 menit. Setelah itu, pemberat dimasukkan pada sisi timbangan lainnya sebanyak 1 g dan ditahan selama 30 detik, beban ditambahkan hingga vial terpisah (Permana, Utami, et al., 2021). Bobot minimum untuk memisahkan vial kemudian dihitung untuk memperoleh kekuatan mukoadhesi (*Muchoadhesion strenght*) menggunakan persamaan (1) di bawah ini:

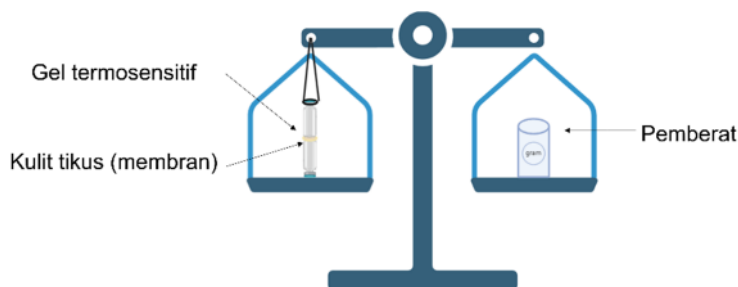
$$\text{Muchoadhesion strenght (dyne}\times\text{cm}^2) = \frac{m \times g}{A} \quad (1)$$

Ket:

m = Bobot yang dibutuhkan untuk kedua vial terpisah (g)

g = gravitasi (980 cm/s²)

A = luas membran yang terpapar (cm²)



Gambar 3. Ilustrasi pengujian kekuatan bioadhesif

2.3.5 Formulasi *Polymeric solid microneedle*

Polymeric solid microneedle (PSMN) dibuat menggunakan polimer PVA dan PVP, serta asam sitrat sebagai *crosslinker*. PVA (5% b/b) dan PVP (15% b/b) dilarutkan menggunakan air kemudian dimasukkan ke dalam oven suhu 80°C selama 1 jam. Masukkan asam sitrat ke dalam PVA dan PVP yang telah larut, kemudian diaduk hingga homogen. Campuran dituang ke dalam *mould* dan disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 2 × 30 menit. Setelah disentrifugasi *mould* dikeringkan pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil cetakan kemudian dipisahkan dari *mould* dan dimasukkan ke dalam oven suhu 80°C selama 1 jam. *Polymeric solid microneedle* (PSMN) yang terbentuk kemudian diamati morfologi dan dievaluasi kekuatan mekanik dan insersinya (Anjani et al., 2021; Rynkowska et al., 2019).

2.3.6 Evaluasi *Polymeric solid microneedle* Berbasis Polimer

a. Uji kekuatan mekanik

Ketahanan *microneedle* terhadap tekanan ditentukan dengan pengujian kekuatan mekanik. Uji ini menggunakan Parafilm M® sebagai simulasi kulit, sebelum diuji *Polymeric solid microneedle* (PSMN) diukur terlebih dahulu pada mikroskop. Parafilm® dilipat menjadi delapan (8) lapis dengan ketebalan kira-kira 1 mm dan dilekatkan pada lembaran kaca *plexiglass* sebagai penyangga. PSMN diletakkan di atas Parafilm®, kemudian diberikan beban pada bagian atas PSMN setara dengan tekanan 32 N selama 30 detik. Amati jumlah lubang yang terbentuk pada setiap lapisan Parafilm® menggunakan mikroskop cahaya (Stephanie et al., 2024). Indikator kekuatan mekanik dihitung dengan persentase pengurangan tinggi (*Height reduction*) jarum menggunakan Persamaan (2).

$$\text{Pengurangan tinggi jarum (\%)} = \frac{H_a - H_b}{H_a} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan:

H_a = Tinggi jarum sebelum pengujian

H_b = Tinggi jarum setelah pengujian

b. Uji insersi

Uji insersi dilakukan untuk menentukan kemampuan PSMN menembus kulit. PSMN diletakkan di atas Parafilm®, kemudian diberikan beban pada bagian atas PSMN hingga mencapai tekanan 32 N selama 30 detik. Kemudian dihitung jumlah lubang yang terbentuk pada setiap lapisan Parafilm® (Stephanie et al., 2024).

Kemampuan insersi (*Insertsion ability*) PSMN dihitung menggunakan persamaan (3):

$$\text{Kemampuan penyisipan (\%)} = \frac{\text{Jumlah lubang yang terbentuk}}{\text{Jumlah total jarum } microneedle} \times 100\% \quad (3)$$

2.3.7 Uji *In vitro*: Hemolisis darah

Darah untuk uji hemolisis diambil dari darah tikus sehat, darah yang diperoleh kemudian dipisahkan antara eritrosit dan komponen darah lainnya. Pemisahan darah dilakukan menggunakan *centrifuge* kecepatan 2000 rpm selama 20 menit, endapan sel eritrosit yang diperoleh kemudian dipisahkan dari supernatan, eritrosit dicuci tiga kali dengan larutan PBS pH 7,4. Eritrosit yang diperoleh disuspensikan kembali dalam PBS hingga mencapai konsentrasi akhir 10% v/v. Penyiapan larutan uji yaitu PSMN dan GTH-OXY, kedua sediaan diencerkan dalam PBS pH 7,4 untuk mencapai konsentrasi 5, 50, dan 500 bpj dalam 900µL sampel masing-masing. Selanjutnya, tambahkan 100µL suspensi sel eritrosit ke dalam campuran. Campuran larutan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit, campuran yang telah diinkubasi kemudian disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Absorbansi supernatan diukur menggunakan spektrofotometer UV-vis (Dynamica, HALO XB-10) untuk menentukan aktivitas hemolisis berdasarkan jumlah hemoglobin bebas yang terdeteksi pada panjang gelombang maksimum Hemoglobin, yaitu 540 nm (Mir et al., 2020; Stephanie et al., 2024). Perhitungan persen (%) rasio hemolitik (HR):

$$\text{HR (\%)} = \frac{\text{OD}_{\text{uji}} - \text{OD}_{\text{neg}}}{\text{OD}_{\text{pos}} - \text{OD}_{\text{neg}}} \times 100 \quad (4)$$

Keterangan:

OD_{uji} = Sampel uji

OD_{positif} = Larutan 100% lisis

OD_{negatif} = Larutan tanpa perlakuan

2.3.8 Pelepasan obat secara *in vitro*

Gel sebanyak 5 g dimasukkan ke dalam vial kemudian ditambahkan larutan PBS pH 7,4 sebanyak 2,5 mL sebagai media, dicuplik sebanyak 1 mL setiap 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8 dan 24 jam pengujian ini dilakukan pada suhu $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Untuk menjaga *sink condition*, setelah pencuplikan ditambahkan kembali media baru dengan kondisi suhu dan volume yang sama. Sampel kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 285 nm.

2.3.9 Uji Permeasi secara *ex-vivo* tanpa PSMN

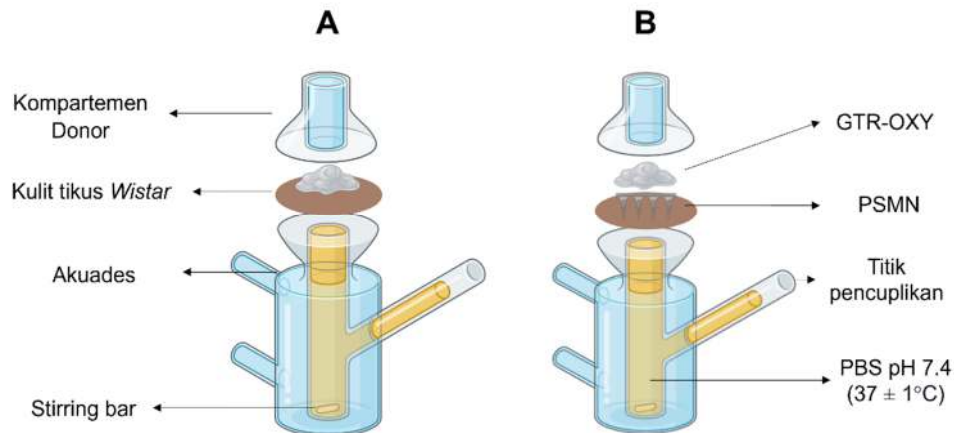
Uji permeasi gel termosensitif OXY dilakukan menggunakan set *diffusion cell apparatus* (lihat **Gambar 4**). Kulit tikus digunakan sebagai membran dalam penelitian ini. Reseptor kompartemen dimasukkan PBS pH 7,4 dan *bar magnetic* ditempatkan ke dalam *cell franz*. Membran diletakkan antara kompartemen reseptor dan donor. Suhu dalam apparatus diatur $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ dengan kecepatan 500 rpm. Satu (1) gram gel ditimbang dan diletakkan pada bagian donor. Sebanyak 1 mL diambil pada jam ke 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; dan 24 jam. Untuk menjaga *sink condition*, setelah pencuplikan media baru dengan kondisi suhu dan volume yang sama dimasukkan pada bagian reseptor.

2.3.10 Uji permeasi secara *ex-vivo* dengan PSMN

Studi permeasi *ex vivo* dilakukan menggunakan set *diffusion cell apparatus* (lihat **Gambar 4**). Dalam pengujian ini, kulit tikus (membran) digunakan untuk permeasi obat kemudian diletakkan di kompartemen donor. Kompartemen reseptor diisi dengan 13 mL PBS pH 7,4, kemudian diaduk dengan kecepatan 500 rpm dengan suhu dijaga pada $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Pada bagian kompartemen donor membran diaplikasikan PSMN, kemudian masing-masing gel yang setara dengan 10 mg OXY diletakkan di atas membran. Pada interval waktu 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; dan 24 jam dicuplik 1 mL media dari kompartemen reseptor kemudian diganti dengan 1 mL media baru dengan suhu yang sama. Seluruh sampel dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Enggi et al., 2021).

2.3.11 Uji retensi gel

Uji retensi gel dilakukan dengan mengukur jumlah OXY yang tertahan di kulit tikus setelah studi permeasi *ex vivo*. Pada setiap waktu yang telah ditentukan, kulit tikus diambil dan dibilas dengan aquadest. OXY diekstraksi menggunakan triss buffer pH 7,4 dalam sonikator selama 1 jam. Setelah itu, campuran disentrifugasi dengan kecepatan 7.000 rpm selama 30 menit. Supernatan kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Enggi et al., 2021).



Gambar 4. Ilustrasi permeasi menggunakan sel *Difusi Franz* dengan kondisi tanpa pretreatment PSMN (A) dan dengan PSMN (B)

2.3.12 Analisis Statistik

Data diolah menggunakan Microsoft® Excel dan ditampilkan dengan rata-rata $\pm$ standar deviasi (SD). Grafik hasil pengujian diolah menggunakan Graphad Prism®. Untuk analisis pendekatan statistik digunakan *IBBM SPSS Statistic*® 27.