

**APLIKASI METODE ANALISIS SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS DALAM
KUANTIFIKASI KADAR AMPHOTERICIN B PADA SEDIAAN
NANOEMULSI TERINKORPORASI GEL TERMOSENSITIF**



**RAUDIYA MAGFIRA DAHLAN
N011201016**



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

**APLIKASI METODE ANALISIS SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS
DALAM KUANTIFIKASI KADAR AMPHOTERICIN B PADA SEDIAAN
NANOEMULSI TERINKORPORASI GEL TERMOSENSITIF**

**RAUDIYA MAGFIRA DAHLAN
N011201016**



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

**APLIKASI METODE ANALISIS SPEKTRIFOTOMETRI UV-VIS
DALAM KUANTIFIKASI KADAR AMPHOTERICIN B PADA
SEDIAAN NANOEMULSI TERINKORPORASI GEL
TERMOSENSITIF**

RAUDIYA MAGFIRA DAHLAN
N011201016

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Farmasi

pada

**PROGRAM STUDI FARMASI
DEPARTEMEN FARMASI SAINS DAN TEKNOLOGI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

**APLIKASI METODE ANALISIS SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS
DALAM KUANTIFIKASI KADAR AMPHOTERICIN B PADA SEDIAAN
NANOEMULSI TERINKORPORASI GEL TERMOSENSITIF**

RAUDIYA MAGFIRA DAHLAN

N011201016

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi pada 26
Februari 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada



Mengesahkan:

Pembimbing tugas akhir,

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

Mengetahui:

Ketua Departemen Farmasi Sains dan
Teknologi,



Dr. Herma Rante, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19771125 200212 2 003

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Aplikasi Metode Analisis Spektrofotometri UV-Vis Dalam Kuantifikasi Kadar *Amphotericin B* Pada Sediaan Nanoemulsi Terinkorporasi Gel Termosensitif" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Prof. Andi Dian Permana, 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 skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi 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 skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 16-01-2024



RAUDIYA MAGFIRA DAHLAN
NIM N011201016

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan. Berkat bantuan dan dorongan dari berbagai pihak penulis dapat melewati berbagai macam hambatan untuk menyelesaikan skripsi ini. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Andi Dian Permana, M.Si., Ph.D., Apt selaku dosen pembimbing yang dengan ikhlas meluangkan waktu, tenaga, pikiran, dan ilmunya dalam memberikan bimbingan, arahan, dan saran-saran kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sampai akhir.
2. Ucapan terima kasih untuk orang tua tercinta, Ayahanda Dahlan dan Ibunda Husnawati Dg. Mandrapi serta Saudariku Nurul Amanah Dahlan atas segala doa, dukungan, dan semangat yang selalu diberikan kepada penulis.
3. Terima kasih kepada Prof. Yulia Yusrini Djabir, S.Si., MBM.Sc., M.si., Ph.D., Apt. dan Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan banyak masukan dan saran.
4. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Farmasi, terima kasih atas ilmu, tenaga, nasehat, dan semangatnya selama penulis menjalani perkuliahan ini, serta seluruh staf Fakultas Farmasi yang dengan sabar membantu penulis dalam mengurus administrasi selama perkuliahan hingga saat ini.
5. Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. selaku penasehat akademik yang telah memberikan banyak nasehat, ilmu, motivasi dan arahan selama penulis menempuh studi di Fakultas Farmasi.
6. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia serta Universitas Hasanuddin yang telah mendukung dan membiayai penelitian ini.
7. Teman-teman “Bukan Sekedar Biofar”, dan teman-teman Tadika Maheera yang telah membersamai penulis dalam suka dalam suka dan duka.
8. Tiara dan Ilham selaku sahabat penulis yang telah banyak membantu dan mengajarkan, memberikan dukungan, saran dan semangat kepada penulis selama menyelesaikan skripsi.
9. Teman-teman Team AmB, Andiny, Elsa, Jedi, dan Ogest atas kerja samanya selama 6 bulan terakhir di tahun 2023 dan membersamai penulis melewati suka dan duka dunia per-PKM-an hingga PIMNAS.
10. Serta Teman-teman “HE20IN” yang selalu menghiasi hari-hari penulis selama menjalani kehidupan di farmasi.

Makassar,

2024

Raudiya Magfira Dahlan

ABSTRAK

RAUDIYA MAGFIRA DAHLAN. **Aplikasi metode analisis spektrofotometri UV-Vis dalam kuantifikasi kadar *amphotericin B* pada sediaan nanoemulsi terinkorporasi gel termosensitif** (dibimbing oleh Andi Dian Permana).

Latar belakang. *Amphotericin B* (AmB) merupakan lini pertama pengobatan meningitis kriptokokus yang diberikan secara intravena memiliki efek samping dan kemampuan permeasi sawar darah otak yang rendah. Untuk mengatasi masalah tersebut, dikembangkan AmB dalam sediaan nanoemulsi terinkorporasi gel termosensitif. Dalam pengembangannya, dibutuhkan metode analisis yang dapat diaplikasikan untuk mengukur kadar AmB pada sediaan NE-TG. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aplikasi metode analisis spektrofotometri UV-Vis dalam kuantifikasi kadar NE-TG-AmB setelah uji *in vitro* dan uji *ex vivo*. **Metode.** Penelitian dibagi enam tahap, yakni: 1) preparasi NE-AmB; 2) uji pelepasan *in vitro*; 3) preparasi NE-TG-AmB; 4) uji permeasi *ex vivo*; 5) uji retensi *ex vivo*; 6) pengumpulan dan analisis data. **Hasil.** Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa spektrofotometri UV-Vis dapat diaplikasikan dalam kuantifikasi kadar AmB dalam sediaan NE-TG setelah uji pelepasan *in vitro* ($85,00 \pm 5,83 \mu\text{g/mL}$), uji permeasi *ex vivo* ($144,34 \pm 8,32 \mu\text{g/cm}^2$), dan uji retensi *ex vivo* ($12,10 \pm 2,14 \mu\text{g/cm}^2$). Hasil pengujian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) setelah AmB dibuat dalam sediaan NE-TG. **Kesimpulan.** Spektrofotometri UV-Vis dapat diaplikasikan dalam kuantifikasi kadar AmB dalam sediaan NE-TG. Melalui kuantifikasi tersebut dapat diketahui bahwa sediaan NE-TG-AmB dapat meningkatkan pelepasan, permeasi, dan waktu retensi AmB pada mukosa hidung babi.

Kata kunci: Spektrofotometri UV-Vis; *Amphotericin B*; *Nose-to-brain*; Nanoemulsi; Gel termosensitif

ABSTRACT

RAUDIYA MAGFIRA DAHLAN. **Application of UV-Vis spectrophotometry analysis method to quantification amphotericin B content in thermosensitive gel-incorporated nanoemulsion preparations** (supervised by Andi Dian Permana).

Background. Amphotericin B (AmB) is the first line of treatment for cryptococcal meningitis which is administered intravenously and has side effects and low blood brain barrier permeability. To overcome these problems, AmB was developed in a thermosensitive gel-incorporated nanoemulsion preparation. In this development, an analytical method that can be applied is needed to measure AmB content in NE-TG preparations. **Aim.** This study aims to determine the application of UV-Vis spectrophotometric analysis method in quantifying NE-TG-AmB content after *in vitro* and *ex vivo* studies. **Methods.** The research was divided into six stages, are : 1) NE-AmB preparation; 2) *in vitro* release studies; 3) NE-TG-AmB preparation; 4) *ex vivo* permeation studies; 5) *ex vivo* retention studies; 6) data collection and analysis. **Results.** The results obtained showed that UV-Vis spectrophotometry can be applied in the quantification of AmB levels in NE-TG preparations after *in vitro* release studies ($85.00 \pm 5.83 \mu\text{g/mL}$), *ex vivo* permeation studies ($144.34 \pm 8.32 \mu\text{g/cm}^2$), and *ex vivo* retention studies ($12.10 \pm 2.14 \mu\text{g/cm}^2$). The test results showed that there was a significant increase ($p < 0.05$) after AmB was prepared in NE-TG preparation. **Conclusion.** UV-Vis spectrophotometry can be applied in the quantification of AmB content in NE-TG preparation. Through this quantification, it can be seen that NE-TG-AmB preparation can increase the release, permeation, and retention time of AmB in the pig nasal mucosa.

Keywords: UV-Vis spectrophotometry; Amphotericin B; Nose-to-brain; Nanoemulsion; Thermosensitive gel

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	iv
PERNYATAAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan dan Manfaat	2
1.2.1 Tujuan	2
1.2.1 Manfaat	2
BAB II.METODE PENELITIAN	3
2.1 Tempat dan Waktu	3
2.2 Alat dan Bahan	3
2.3 Metode Kerja	3
2.3.1 Pembuatan Larutan PBS + SLS 2%	3
2.3.2 Preparasi NE-AmB	3

2.3.3 Uji Pelepasan <i>In Vitro</i>	4
2.3.4 Preparasi NE-TG-AmB	4
2.3.5 Uji Permeasi <i>Ex Vivo</i>	4
2.3.6 Pemodelan Matematika Kinetika Pelepasan Obat	5
2.3.7 Uji Retensi <i>Ex Vivo</i>	5
2.4 Analisis Data, Pembahasan, dan Penarikan Kesimpulan	6
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	7
3.1 Hasil	7
3.1.1 Uji Pelepasan <i>In Vitro</i>	7
3.1.2 Uji Permeasi <i>Ex Vivo</i>	7
3.1.3 Uji Retensi <i>In Vivo</i>	8
3.2 Pembahasan	8
3.2.1 Uji Pelepasan <i>In Vitro</i>	8
3.2.2 Uji Permeasi <i>Ex Vivo</i>	9
3.2.3 Uji Retensi <i>In Vivo</i>	10
BAB IV. KESIMPULAN	11
4.1. Kesimpulan.....	11
DAFTAR PUSTAKA	12
LAMPIRAN.....	15

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Komposisi formula penyusun NE-AmB	3
2. Komposisi formula penyusun NE-TG-AmB	4
3. Hasil evaluasi uji pelepasan <i>in vitro</i>	19
4. Hasil evaluasi uji permeasi <i>ex vivo</i>	23
5. Hasil evaluasi uji retensi <i>ex vivo</i>	27

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Skema Uji Permeasi dan Retensi <i>Ex Vivo</i>	5
2. Hasil Uji Pelepasan <i>In Vitro</i>	7
3. Hasil Uji Permeasi <i>Ex Vivo</i>	7
4. Hasil Uji Retensi <i>Ex Vivo</i>	8
5. Kurva baku <i>amphotericin</i> B dalam PBS + SLS 2%	16
6. Preparasi NE-AmB.....	39
7. Preparasi NE-TG-AmB.....	39
8. Uji Pelepasan <i>In Vitro</i>	39
9. Uji Permeasi <i>Ex Vivo</i>	39
10. Uji Retensi <i>Ex Vivo</i>	40
11. Penggunaan Spektrofotometer UV-Vis.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Skema kerja penelitian	15
2. Kurva baku AmB dalam PBS + SLS 2%.....	16
3. Perhitungan data.....	16
3.1 Uji pelepasan <i>in vitro</i>	16
3.2 Uji permeasi <i>ex vivo</i>	17
3.3 Uji retensi <i>ex vivo</i>	18
4. Tabel hasil evaluasi	19
5. Data hasil uji analisis statistik.....	31
5.1 Uji pelepasan <i>in vitro</i>	31
5.2 Uji permeasi <i>ex vivo</i>	33
5.3 Uji retensi <i>ex vivo</i>	35
6. Hasil uji kinetika secara <i>in vitro</i> menggunakan <i>add-ins</i> Microsoft Excel (DDsolver)	37
7. Hasil uji permeasi secara <i>ex vivo</i> menggunakan <i>add-ins</i> Microsoft Excel (DDsolver)	38
9. Dokumentasi	39

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penelitian dan pengembangan terus dilakukan dari waktu ke waktu, salah satunya pengembangan sistem penghantaran obat. *Amphotericin B* (AmB) merupakan lini pertama pengobatan meningitis kriptokokus yang administrasikan selama 2 minggu secara intravena (IV) (Rajasingham et al., 2022). AmB sebagai antijamur berspektrum luas bekerja dengan mengikat ergosterol dari membran sel jamur sehingga terbentuk saluran ion yang menyebabkan terjadinya depolarisasi dan kematian sel (Wang et al., 2020). Namun, penggunaan jangka panjang AmB IV dapat memicu terjadinya anemia, gangguan ginjal, tromboflebitis, dan kelainan elektrolit (Jarvis et al., 2022). Selain itu, AmB yang diberikan secara IV juga memiliki permeabilitas *blood-brain barrier* (BBB) yang rendah sehingga hanya sedikit kadar AmB yang terhantarkan pada otak yang merupakan target aksinya (Petraitis et al., 2019). Oleh karena itu, perlu dilakukan pengembangan sediaan AmB serta rute penghantaran yang dapat mengatasi masalah tersebut.

Nose-to-brain atau rute penghantaran obat dengan penargetan langsung ke otak merupakan alternatif yang menjanjikan (Alaayedi, M.H. dan Maraie, N.K., 2023). Pada rongga hidung terdapat saraf trigeminal dan olfaktorik yang tersebar menempati 1.25-10% dari total luas permukaan rongga hidung dan menjadi satu-satunya jalur penghubung otak dengan lingkungan luar. Melalui rute ini, target obat dapat dicapai dengan pemberian sediaan di mukosa hidung. Selain mudah diaplikasikan, rute penghantaran *nose-to-brain* juga bersifat non-invasif, meminimalkan paparan sistemik, memiliki onset obat yang cepat serta keamanan tinggi (Bonferoni et al., 2019).

Nanoliposom AmB *nose-to-brain* merupakan pengembangan sediaan AmB yang mampu mengeliminasi efek samping obat dan memberikan pelepasan yang berkelanjutan. Namun, nanoliposom memiliki membran *bilayer* yang mudah rapuh sehingga nanoliposom mudah mengalami ketidakstabilan (Chen dan Inbaraj, 2019). Maka dari itu, sediaan AmB melalui rute *nose-to-brain* perlu dikembangkan dalam sistem lain yang lebih optimal. Nanoemulsi (NE) adalah bentuk sediaan obat yang menjanjikan serta dapat diaplikasikan secara efisien dalam bentuk sediaan hidung. NE memiliki karakteristik berupa ukuran nano dengan luas permukaan yang baik. Selain itu, NE bersifat stabil dan dapat melepaskan obat secara berkelanjutan yang membuatnya cocok untuk penghantaran *nose-to-brain*. Namun, pada hidung terdapat *nasal clearance* sehingga obat yang diformulasikan dalam bentuk NE perlu ditambahkan gel termosensitif (TG) berbasis polimer mukoadhesif yang dapat memperlambat pembersihan hidung (Bonferoni et al., 2019; Abdulla et al., 2021).

Kuantifikasi kadar obat adalah hal yang sangat penting dalam pengembangan sediaan dan sistem penghantaran baru. Kuantifikasi ini

dilakukan untuk mengetahui kadar obat yang masih dalam tahap pengembangan melalui uji *in vitro* dan *ex vivo*. Dalam proses ini, dibutuhkan suatu metode analisis yang sesuai, valid, serta dapat diaplikasikan. Sebelumnya, telah digunakan metode analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk mengukur AmB dalam nanoliposom secara kuantitatif (Rios et al., 2021). Namun, analisis menggunakan KCKT membutuhkan waktu yang lama, peralatan yang canggih, dan biaya yang mahal. Metode analisis Kromatografi Gas juga tidak dapat digunakan dalam pengukuran kadar AmB yang merupakan senyawa nonvolatil (Ueta, 2022). Sehingga, Spektrofotometri UV-Vis dapat menjadi metode analisis yang menjanjikan karena memiliki keakuratan yang tak tertandingi, kecepatan, keserbagunaan, kesederhanaan, dan biaya yang lebih murah (Zhou et al., 2021).

Namun, hingga saat ini belum terdapat penelitian yang mengembangkan AmB sediaan NE terinkorporasi TG serta menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dalam kuantifikasinya. Atas dasar inilah peneliti tertarik melakukan penelitian mengenai pengaplikasi Spektrofotometri UV-Vis dalam kuantifikasi kadar AmB pada sediaan NE terinkorporasi TG.

1.2 Tujuan dan Manfaat

1.2.1 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, adapun tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini yaitu untuk mengetahui aplikasi metode analisis spektrofotometri UV-Vis dalam kuantifikasi kadar *amphotericin B* dalam pengembangan sediaan nanoemulsi terinkorporasi gel termosensitif (NE-TG-AmB) melalui uji pelepasan *in vitro*, uji permeasi *ex vivo*, dan uji retensi secara *ex vivo*.

1.2.2 Manfaat

Manfaat penelitian ini yaitu dapat digunakan sebagai landasan dalam bidang ilmu pengetahuan dan teknologi tentang pengembangan formula AmB dalam sistem penghantaran *nose-to-brain* untuk meningkatkan efektivitas AmB.