

**SISTEM PENGHANTARAN PIPERIN DALAM BENTUK *MICRONEEDLE*
MELALUI PENDEKATAN *IN VITRO*, *EX VIVO* DAN *IN VIVO***

**MICRONEEDLE-BASED DRUG DELIVERY SYSTEM OF PIPERINE
THROUGH *IN VITRO*, *EX VIVO* AND *IN VIVO* APPROACHES**



**ANDI NUR AISYAH
N013202002**



**PROGRAM STUDI DOKTOR
FAKULTAS FARMASI SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
2024**

**SISTEM PENGHANTARAN PIPERIN DALAM BENTUK *MICRONEEDLE*
MELALUI PENDEKATAN *IN VITRO*, *EX VIVO* DAN *IN VIVO***

ANDI NUR AISYAH

N013202002



**PROGRAM STUDI DOKTOR
FAKULTAS FARMASI SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
2024**

LEMBAR PENGESAHAN DISERTASI

**SISTEM PENGHANTARAN PIPERIN DALAM BENTUK MICRONEEDLE
MELALUI PENDEKATAN *IN VITRO*, *EX VIVO* DAN *IN VIVO***

ANDI NUR AISYAH

N013202002

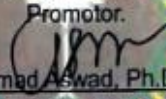
telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Doktor pada tanggal 05 bulan
September tahun 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Doktor
Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Promotor.


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

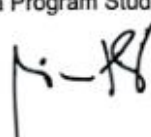
Ko Promotor


Prof. Dr. Elly Wahyuddin, DEA, Apt
NIP. 19560114 198601 2 001

Ko Promotor


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

Ketua Program Studi


Prof. Yusnita Rifai, M.Pharm., Ph.D., Apt
NIP. 19751117 200012 2 001

Dekan Fakultas Farmasi

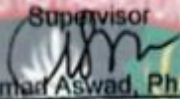

Prof. Dr. rer-nat. Marianti A. M. Apt.
NIP. 19670319 199203 2 002

MICRONEEDLE-BASED DRUG DELIVERY SYSTEM OF PIPERINE
THROUGH IN VITRO, EX VIVO AND IN VIVO APPROACHES

ANDI NUR AISYAH
N013202002

The dissertation has been examined and defended in front of the Dissertation
Examination Committee on date 05 month September year 2024, and declared
eligible

Approved by
Supervisor Commission,
Supervisor


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

Co-supervisor

Co-supervisor


Prof. Dr. Elly Wahyuddin, DEA, Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001


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

Head of Study Program

Dean of Graduate School
Universitas Hasanuddin,


Prof. Yusnita Rifai, M.Pharm., Ph.D., Apt.
NIP. 19751117 200012 2 001


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

**MICRONEEDLE-BASED DRUG DELIVERY SYSTEM OF PIPERINE
THROUGH IN VITRO, EX VIVO AND IN VIVO APPROACHES**

ANDI NUR AISYAH

N013202002



**DOCTORAL STUDY PROGRAM
GRADUATE SCHOOL FACULTY OF PHARMACY
HASANUDDIN UNIVERSITY
2024**

**SISTEM PENGHANTARAN PIPERIN DALAM BENTUK *MICRONEEDLE*
MELALUI PENDEKATAN *IN VITRO*, *EX VIVO* DAN *IN VIVO***

Disertasi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar doktor

Program Studi Ilmu Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

ANDI NUR AISYAH

N013202002

Kepada

**PROGRAM STUDI DOKTOR
FAKULTAS FARMASI SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
2024**

**MICRONEEDLE-BASED DRUG DELIVERY SYSTEM OF PIPERINE
THROUGH IN VITRO, EX VIVO AND IN VIVO APPROACHES**

Dissertation

As one of the requirements for achieving a doctoral degree

Pharmaceutical Sciences Study Program

Prepared and submitted by

ANDI NUR AISYAH

N013202002

To

**DOCTORAL STUDY PROGRAM
GRADUATE SCHOOL FACULTY OF PHARMACY
HASANUDDIN UNIVERSITY
2024**

**PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini menyatakan bahwa , disertasi berjudul " Sistem penghantaran piperin dalam bentuk *microneedle* melalui pendekatan *in vitro*, *ex vivo* dan *in vivo*" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing Muhammad Aswad., M.Si., Ph.D., Apt, Prof. Dr. Elly Wahyudin DEA., Apt dan Prof. Andi Dian Permana., M.Si., Ph.D., Apt Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. 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 disertasi ini. Sebagian dari disertasi ini telah dipublikasikan di ***Journal of Biomaterial Science, Polymer Edition***, Vol 35 pp 1-21 march 2024, doi/full/10.1080/09205063.2024.2320948 sebagai artikel dengan judul Formulation and evaluation of dissolving Microneedle for transdermal delivery of piperin: The Effect of Polymers Concentration.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa disertasi ini kepada Universitas Hasanuddin

Makassar, 8 Maret 2024



Andi Nur Aisyah
Nim. N013202002

PRAKATA

Bismillaahirrahmaanirrahiim,

Puji syukur kehadiran Allah subhanahu wa ta'ala Rabb Semesta Alam Yang Maha Pengasih, Maha Penyayang, Maha Bijaksana, dan Maha Mengetahui segala sesuatu. Hanya kepada-Nya tempat meminta pertolongan, rahmat, dan karunia dalam meniti kehidupan yang fana ini. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurah kepada Rasulullah Muhammad *Shallallahu 'alaihi wasallam* sebaik-baik teladan yang telah menyampaikan risalah kebenaran bagi seluruh umatnya, juga kepada keluarga, para sahabat, dan orang-orang yang mengikuti jalan Rasulullah hingga Hari Kiamat.

Disertasi dengan judul “ Sistem penghantaran piperin dalam bentuk *microneedle* melalui pendekatan *in vitro*, *ex vivo* dan *in vivo*” ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar doktor farmasi di fakultas farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar. Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini banyak kendala dalam tahap pencapaiannya, namun berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Promotor, bapak Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt, atas doa, ilmu, motivasi, kesabaran dan pengertian, dalam membimbing penulis untuk menyelesaikan disertasi ini.
2. Ko-promotor, ibu Prof. Dr. Elly Wahyuddin DEA., Apt. dan Bapak Prof. Andi Dian Permana., S.Si., M.Si., Ph.D., apt
3. Tim penguji disertasi: Ibu Dr. Aliyah., M.S., Apt, Ibu Prof. Dr Yulia Yusrini Djabir., M.Si., MBM.,Sc., Ph.D., Apt, Bapak Prof. Subehan., M.Pharm Sc., Ph.D., Apt dan bapak Prof. apt. Nasrul Wathoni., S.Si., M.Si., Ph.D yang telah memberikan saran yang membangun kepada penulis dalam penyelesaian disertasi ini.

4. Kepada Yayasan Almarisah Madani, bapak H. Sahibuddin A. Gani., Apt dan Ibunda Hj. Aisyah Fatmawaty., M. Si yang telah memberikan pendanaan studi hingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.
5. Kementerian pendidikan, kebudayaan, riset dan teknologi melalui hibah Program Disertasi Doktor (PDD) yang telah memberikan pendanaan penelitian hingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.
6. Dekan, wakil dekan I, wakil dekan II dan wakil dekan III yang telah memfasilitasi dan memberikan nasehatnya selama ini. Seluruh Bapak/Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya selama masa studi S3.
7. Kepada Kedua Orang Tua ayahanda Andi Muh. Rum Tajang dan Ibunda Andi Masnira dan saudara-saudara penulis Andi Indra Martini, Andi Yusnita, Andi Muh. Tarich dan Andi Tien Hartini yang telah memberikan dukungan moril maupun materil dalam penyelesaian disertasi ini.
8. Teman - Teman Dosen Univeristas Almarisah Madani, teman-teman S3 angkatan 2021 serta civitas akademika Universita Almarisah Madani yang memberikan saran, candaan dan kebersamaan selama pengerjaan dan proses ini berlangsung.

Semoga Karya Ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, aamiin.

Penulis

ABSTRAK

ANDI NUR AISYAH. **Sistem Penghantaran Piperin dalam Bentuk *Microneedle* melalui pendekatan *in vitro*, *ex vivo* dan *In Vivo*.**

(dibimbing oleh Muhammad Aswad, Elly Wahyudin dan Andi Dian Permana)

Piperin atau 1-piperoylpiperidine merupakan senyawa golongan alkaloid yang bersifat basa lemah yang diisolasi dari tanaman lada hitam (*Piper nigrum* Linn). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa piperin memiliki aktivitas farmakologis yakni sebagai antiinflamasi, antioksidan antitumor antipiretik, antijamur antibakteri, antihipertensi, antidepresan, antidiare, imunomodulator dan banyak aktifitas lainnya. Walaupun piperin memiliki aktivitas yang sangat menjanjikan, piperin memiliki kelarutan yang rendah di dalam air sehingga mengakibatkan bioavailabilitas yang rendah pula. Beberapa pendekatan telah digunakan untuk meningkatkan bioavailabilitas piperin.

Penelitian ini bertujuan mengembangkan formulasi *Dissolving Microneedle* Piperin (DMN PIP) dan mengevaluasi pengaruh konsentrasi polimer terhadap hasil pengujian karakterisasi, permeasi, X-ray diffraction, FTIR, uji dermatokinetik *ex vivo*, Uji validasi metode analisis senyawa piperin dalam plasma tikus menggunakan HPLC, dan uji farmakokinetik piperin secara *in vivo*.

Metode Penelitian menggunakan berbagai konsentrasi polimer polivinil alkohol (PVA): Polivinil pirolidon (30:60 dan 50:25), Kemudian dilakukan evaluasi morfologi, pengujian kekuatan mekanik, perhitungan densitas, LOD, dan persentase bobot piperin dalam *microneedle* kering serta penentuan volume, berat jarum dan berat piperin serta dianalisis, pengujian permeasi secara *ex vivo*, difraksi Sinar-X, FTIR, uji hemolisis, dermatokinetik, uji validasi metode analisis dalam plasma tikus menggunakan HPLC dimana parameter pengujianannya adalah uji linearitas, LOD dan LOQ, selektivitas, akurasi, presisi dan uji farmakokinetik secara *in vivo*

Hasil penelitian diperoleh DMN PIP F1 menghasilkan DMN dengan kekuatan mekanik ($8,35 \pm 0,11\%$) dan kemampuan penetrasi yang baik. Uji *in vitro* menunjukkan bahwa campuran polimer F1 memberikan penetrasi yang baik ($95,02 \pm 1,42 \mu\text{g}/\text{cm}^2$), jauh lebih tinggi dibandingkan campuran polimer F2, F3, F4, dan F5. Hasil validasi metode analisis menggunakan plasma tikus diperoleh hasil ekstraksi senyawa Piperin dalam Plasma menggunakan acetonitril dengan perbandingan volume plasma dan volume acetonitril yaitu 1 : 3. Pada uji linearitas didapatkan persamaan kurva kalibrasi $y = 128937x + 9688.2$ dengan nilai (r^2)=0,9995 dan $V_{x0} = 4,76\%$ yang telah memenuhi syarat $\leq 2\%$. Peak pada plasma dan sampel dibandingkan dengan peak blanko memiliki selektivitas yang baik. Pada % RE *intraday* dan *interday* dari konsentrasi rendah, sedang dan tinggi masing-masing diperoleh 0,291; 0,423; 0,247 dan 0,255; 0,426; 0,362. Hasil ini telah memenuhi persyaratan % RE yaitu $\pm 15\%$. Dan Metode validasi yang digunakan telah memenuhi persyaratan parameter validasi. Sedangkan hasil pengujian farmakokinetik menunjukkan perbedaan nilai AUC yakni dengan Suspensi oral $5,15 \pm 0,05 \mu\text{g}/\text{mL}$, sedangkan DMN PIP menunjukkan konsentrasi yang lebih tinggi yaitu $8,72 \pm 0,62 \mu\text{g}/\text{mL}$. Sehingga DMN PIP dapat berpotensi sebagai salah satu strategi efektif untuk meningkatkan penghantaran obat transdermal.

Kata Kunci : *Dissolving Microneedle* ; Piperin ; Polimer ; Farmakokinetik

ABSTRACT

ANDI NUR AISYAH. **Microneedle – Based Drug Delivery System Of Piperin Through In Vitro, Ex Vivo and In Vivo Approaches.**

(Supervised by : Muhammad Aswad, Elly Wahyudin and Andi Dian Permana)

Piperine or 1-piperoylpiperidine is a weak base alkaloid compound isolated from black pepper plants (*Piper nigrum* Linn). Several research results show that piperine has pharmacological activities, namely as an anti-inflammatory, antioxidant, antitumor, antipyretic, antifungal, antibacterial, antihypertensive, antidepressant, antidiarrheal, immunomodulator and many other activities. Although piperine has very promising activity, piperine has low solubility in water, resulting in low bioavailability. Several approaches have been used to increase the bioavailability of piperine. This research aims to develop a Dissolving Microneedle Piperine (DMN PIP) formulation and evaluate the effect of polymer concentration on the results of characterization, permease, and Pharmacokinetics of piperine in vivo.

Research Method used various concentrations of polyvinyl alcohol (PVA) polymer: Polyvinyl pyrrolidone (30:60 and 50:25), then morphological evaluation and mechanical strength testing were carried out. calculation of density, LOD, and weight percentage of piperine in dry microneedle as well as determination of volume, needle weight and piperine weight and analysis, ex vivo permeation testing, X-ray diffraction, FTIR, hemolysis test, dermatokinetics, validation test of analytical methods in rat plasma using HPLC and in vivo pharmacokinetic tests

The results of the study obtained DMN PIP F1 produced DMN with mechanical strength ($8,35 \pm 0.11\%$) and good penetration ability. In vitro tests showed that the F1 polymer mixture provided good penetration ($95,02 \pm 1,42 \mu\text{g}/\text{cm}^2$), much higher than the F2, F3, F4, and F5 polymer mixtures. The results of the validation of the analysis method using rat plasma obtained the results of the extraction of Piperine compounds in Plasma using acetonitrile with a ratio of plasma volume and acetonitrile volume of 1: 3. In the linearity test, the calibration curve equation was obtained $y = 128937x + 9688.2$ with a value of $(r^2) = 0.9995$ and $V_{xo} = 4.76\%$ which met the requirements of $\leq 2\%$. The peak in plasma and samples compared to the blank peak had good selectivity. At % RE intraday and interday from low, medium and high concentrations, respectively, were obtained 0,291; 0,423; 0,247 and 0,255; 0,426; 0,362. These results have met the requirements of % RE which is $\pm 15\%$. And the validation method used has met the requirements of validation parameters. While the results of pharmacokinetic testing showed a difference in AUC values, namely with Oral Suspension $5,15 \pm 0,05 \mu\text{g} / \text{mL}$, while DMN PIP showed a higher concentration of $8,72, \pm 0,62 \mu\text{g} / \text{mL}$. So that DMN PIP can potentially be one of the effective strategies to improve transdermal drug delivery.

Keywords: Dissolving Microneedle; Piperine ; Polymer ; Pharmacokinetic

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	vi
PRAKATA	vii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN UMUM	1
1.1 Latar Belakang Masalah	3
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Ruang Lingkup Penelitian	4
1.6 Kebaruan Penelitian	4
BAB II FORMULASI DAN EVALUASI DISSOLVING MICRONEEDLE PIPERIN SEBAGAI SISTEM PENGHANTARAN TRANSDERMAL: PENGARUH KONSENTRASI POLIMER	
2.1 Abstrak	5
2.2 Pendahuluan	6
2.3 Metode Penelitian	7
2.3.1 Rancangan Formula Dissolving Microneedle PIP dan karakterisasi	8
2.3.2 Uji Morfologi	9
2.3.3 Uji Kekuatan Mekanik dan Kemampuan Penetrasi	9
2.3.4 Uji Penentuan Densitas	9
2.3.5 Penentuan LOD dan persentase jumlah total PIP dalam massa kering	10
2.3.6 Penentuan volume, bobot jarum(<i>needle</i>) dan bobot PIP	10

2.3.7 X-ray Diffraction (XRD)	10
2.3.8 Fourier transform Infrared Spectroscopy (FTIR)	11
2.3.9 Penentuan Kandungan obat dalam <i>microneedle</i>	11
2.3.9.1 Pembuatan larutan stok PIP	11
2.3.9.2 Pembuatan kurva baku piperin	11
2.3.9.3 Penentuan Kandungan Obat	11
2.3.10 Uji Melarut	12
2.3.11 Pembuatan PBS (pH 7,4)	12
2.3.12 Uji Permeasi <i>Ex Vivo</i>	12
2.3.13 Uji Hemolisis	13
2.3.14 Uji Dermatokinetik <i>Ex Vivo</i>	13
2.3.15 Analisis data	14
2.4 Hasil Penelitian dan Pembahasan	14
2.3.1 Uji Morfologi dan kekuatan mekanik DMN	15
2.3.2. Uji Kemampuan Penetrasi	18
2.3.3 Densitas DMN PIP	20
2.3.4 LOD dan persentasi jumlah PIP dalam massa kering	20
2.3.5 Volume, bobot jarum(<i>Needle</i>) dan bobot PIP	21
2.3.6 XRD dan FTIR	21
2.3.7 Uji melarut	22
2.3.9 Uji Permeasi <i>Ex Vivo</i>	25
2.3.10 Uji Hemolisis	26
2.3.11 Uji Dermatokinetik <i>Ex Vivo</i>	27
2.5 Kesimpulan	28
2.6 Pustaka	29
BAB III VALIDASI METODE BIOANALISIS PIPERIN MENGGUNAKAN HPLC	
3.1 Abstrak	34
3.2 Pendahuluan	35
3.3 Metode Penelitian	36
3.3.1 Penyiapan plasma tikus	36
3.3.2 Pembuatan Larutan Induk, Kurva kalibrasi, QC	36
3.3.3 Uji Kesesuaian sistem	37
3.3.4 Penetapan Metode ekstraksi	37
3.3.5 Validasi Metode Analisis	38
3.3.5.1 Uji Linearitas dalam plasma	38

3.3.5.2 Pengukuran LOD dan LOQ	38
3.3.5.3 Uji Selektifitas	38
3.3.5.4 Uji Akurasi	38
3.3.5.5 Uji Presisi	39
3.4 Hasil dan Pembahasan	39
3.4.1 Uji kesesuaian sistem	39
3.4.2 Penetapan metode ekstraksi	40
3.4.3 Validasi Metode Analisis	40
3.3.3.1 Uji Linearitas	42
3.3.3.2 Pengukuran LOD dan LOQ	43
3.3.3.3 Uji Selektifitas	43
3.3.3.4 Akurasi dan Presisi	45
3.5 Kesimpulan	46
3.6 Daftar Pustaka	47
BAB IV PENGUJIAN FARMAKOKINETIK DMN PIP MENGGUNAKAN HPLC	
4.1 Abstrak	52
4.2. Pendahuluan	52
4.3. Metode Penelitian	
4.3.1 Uji Farmakokinetik DMN PIP secara in Vivo pada Tikus	54
4.3.2 Perhitungan parameter farmakokinetik	55
4.4. Hasil dan Pembahasan	56
4.5 Kesimpulan	57
4.5 Pustaka	58
BAB V PEMBAHASAN UMUM	63
BAB VI KESIMPULAN UMUM	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	73

DAFTAR TABEL

NOMOR	HALAMAN
FORMULASI DAN EVALUASI DISSOLVING MICRONEEDLE PIPERIN SEBAGAI SISTEM PENGHANTARAN TRANSDERMAL: PENGARUH KONSENTRASI POLIMER	
1. Rancangan formula DMN PIP	8
2. Data tinggi dan penurunan tinggi jarum	16
3. Hasil uji penetrasi DMN Blank dan PIP	19
4. Data densitas, LOD, jumlah PIP massa kering, bobot <i>Needle</i> dan bobot PIP dalam 100 <i>needle</i> setiap formula	20
5. Data tinggi DMN PIP	23
6. Data tinggi persentasi permeasi	24
7. Parameter Dermatokinetik	27
VALIDASI METODE BIOANALISIS PIPERIN MENGGUNAKAN HPLC	
1. Parameter uji kesesuaian sistem	40
2. Penetapan Metode ekstraksi	41
3. Data kurva kalibrasi	42
4. Data LOD dan LOQ	43
5. Perhitungan akurasi dan presisi <i>intraday</i>	45
6. Perhitungan akurasi dan presisi interday	45
PENGUJIAN FARMAKOKINETIK IN VIVO DMN PIPERIN	
1. Parameter profil farmakokinetik DMN PIP dan suspensi PIP peroral.	56

DAFTAR GAMBAR

NOMOR	HALAMAN
FORMULASI DAN EVALUASI DISSOLVING MICRONEEDLE PIPERIN SEBAGAI SISTEM PENGHANTARAN TRANSDERMAL: PENGARUH KONSENTRASI POLIMER	
1. Skema uji permeasi <i>Ex Vivo</i> menggunakan sel difusi franz	12
2. Morfologi DMN PIP dan SEM	15
3. Morfologi sebelum dan sesudah kekuatan mekanik	16
4. Persentasi blank PIP menembus parafilm	19
5. LOD dan jumlah PIP dalam massa kering	21
6. FTIR dan XRD	22
7. Waktu Melarut	23
8. Tinggi jarum uji waktu melarut	23
9. Uji Permeasi <i>Ex Vivo</i>	25
10. Uji Hemolisis	26
VALIDASI METODE BIOANALISIS PIPERIN MENGGUNAKAN HPLC	
1. Kurva kalibrasi piperin	42
2. Pengujian selektivitas	44
PENGUJIAN FARMAKOKINETIK <i>IN VIVO</i> DMN PIPERIN	
1. Skema pengujian farmakokinetik pada tikus	55
2. Uji farmakokinetik DMN PIP dan suspensi PIP	56

DAFTAR LAMPIRAN

NOMOR	HALAMAN
1. Publikasi Jurnal	73
2. Skema pembuatan DMN PIP	74
3. Pembuatan larutan induk, kurva kalibrasi dan quality control	74
4. Uji kesesuaian sistem	75
5. Penetapan metode ekstraksi	76
6. Validasi metode analisis	77
7. Kode etik penelitian	78
8. Kerangka Teori	79
9. Kerangka konsep	80
10. Analisis statistik blanko	81
11. Analisis statistik PIP	83
12. Analisis statistic LOD	84
13. Tabel persentase penurunan panjang <i>microneedle</i> blanko	85
14. Tabel penetrasi DMN Blanko	85
15. Tabel persentase penurunan panjang <i>microneedle</i> PIP	86
16. Metode ekstraksi asetonitril	90
17. Metode ekstraksi metanol	93

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Arti dan Keterangan
AUC	Area under the curve
C _{max}	Kadar puncak
DMN PIP	Dissolving microneedle Piperin
Et al	et al dan kawan-kawan
%RE	% Relative Error
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HETP	Height Equivalent to theoretical Plate
LOD	Lost On Dying, Kehilangan air
MRT	Mean Residence time
mm	Millimeter
nm	Nanometer
PVA	Polivinil Alkohol
PVP	Polivinil Prolidon
RSD	Relative Standar Deviation
T _{max}	Watu puncak (level obat maksimum dalam darah)
t _{1/2}	Waktu paros obat
XRD	X-ray diffraction

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Bahan baku sediaan obat dari keanekaragaman hayati Indonesia telah dikembangkan dan dimanfaatkan secara maksimal, khususnya dalam usaha pengembangan potensi sumber daya alam. Sumber daya alam hayati seperti tanaman yang berupa ekstrak dan isolat umumnya digunakan dalam dunia farmasi. Salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan dalam dunia kedokteran dan industri yaitu tanaman merica hitam (*Piper nigrum*) dengan senyawa aktif piperin. Piperin atau 1-piperoylpiperidine merupakan senyawa golongan alkaloid yang bersifat basa lemah yang diisolasi dari tanaman lada hitam (*Piper nigrum* Linn). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa piperin memiliki aktivitas farmakologis yakni sebagai antiinflamasi, antioksidan, antitumor, antipiretik, antijamur, antibakteri, antihipertensi, antidepresan, antidiare, ansiolitik, imunomodulator, hepatoprotektif dan banyak aktivitas lainnya (Salehi et al. 2019). Walaupun piperin memiliki aktivitas yang sangat menjanjikan, piperin memiliki kelarutan yang rendah di dalam air, sehingga mengakibatkan bioavailabilitas yang rendah pula. (Gorgani et al. 2017). Untuk mengatasi kelemahan dari piperin diperlukan pengembangan sistem penghantaran obat yang adekuat menembus barrier kulit untuk sampai ke target jaringan yang diinginkan. Karena kelarutan yang rendah dalam air, akibatnya piperin memiliki sifat non polar dan menjadi sulit diserap serta bioavailabilitas dalam tubuh menjadi terbatas sehingga menurunkan aktifitas farmakologi dan teraupetiknya, oleh karena itu sangat penting untuk mengembangkan formulasi yang dapat mengatasi kelarutan zat aktif yang buruk (Sahu et al. 2014).

Pemberian obat inflamasi dari bahan sintetik secara peroral dapat menghasilkan efek samping yakni meningkatkan risiko sistemik seperti serangan jantung/kardiovaskular serta gangguan kulit (ruam kulit) (Brune and Patrignani 2015). Selain itu, pemberian obat secara oral juga dapat menghasilkan konsentrasi obat yang tidak memadai pada jaringan infeksi tertentu dan membutuhkan waktu yang lama dalam pengobatan (Permana, Mir, et al. 2020). Namun, pada pemberian piperin melalui rute oral untuk pengobatan inflamasi dapat menyebabkan mulas dan urtikaria (Asasutjarit et al. 2020). Untuk mengatasi kekurangan tersebut, maka obat-

obat yang ditujukan untuk inflamasi perlu didesain untuk mengurangi risiko sistemik dan meningkatkan konsentrasi obat yang kuat pada target jaringan yang diinginkan.

Suatu senyawa bioaktif diformulasi dalam bentuk sediaan yang sesuai dengan tujuan penggunaan agar dapat digunakan sebagai obat. Salah satu sistem penghantaran obat alternatif terkini adalah *microneedle*. Baru-baru ini, rute transdermal telah bersaing dengan pengobatan oral sebagai bidang penelitian inovatif dan bersifat terapeutik yang mampu untuk menembus ke dalam target pada tingkat terapeutik, melalui stratum korneum (Larrañeta et al. 2016). Teknologi *microneedle* merupakan salah satu metode praktis yang dapat mengatasi penghalang stratum korneum (Rosalina and Wicaksono 2018), dan memberikan hasil yang menjanjikan dalam penghantaran sistemik obat yang sukar larut untuk efek lokal dan sistemik (Paredes et al. 2020). *Microneedle* adalah teknik fisik yang menginduksi perubahan mekanik penghalang epidermis dan menciptakan saluran atau pori-pori dengan ukuran mikron pada kulit yang memungkinkan pengiriman berbagai molekul (Larrañeta et al. 2016). Sediaan yang berbentuk patch dan membawa jarum-jarum dengan ukuran mikron ini dapat digunakan untuk penghantaran zat terapeutik yang terlokalisasi (Larrañeta et al. 2016). Secara umum, aplikasi *microneedle* bertujuan untuk penghantaran molekul terapeutik seperti obat untuk penetrasi molekul terapeutik ke jaringan target (Jamaledin et al. 2020).

DMN dibuat menggunakan berbagai polimer yang sesuai, Namun, polimer harus stabil secara mekanis untuk penyisipan kulit, biokompatibel, larut dalam kulit, dan menyediakan matriks yang stabil untuk enkapsulasi obat. Polivinil alkohol (PVA) merupakan polimer yang digunakan untuk membuat microneedle berlapis (Patel, Sharma, and Mehta 2018; Arshad et al. 2019), cetakan untuk membuat microneedle (Yang et al. 2018), dan DMN (Hu et al. 2021); Rac et al. 2019). PVA juga dapat terbiodegradasi dan larut dalam air yang penting dalam pembuatan jarum mikro. Permana dkk. menunjukkan bahwa menggabungkan polimer PVA dan polivinil pirolidon (PVP) dalam microneedles memberikan kekuatan mekanik yang lebih baik dibandingkan microneedles tanpa polimer PVP atau PVA (Permana, Paredes, et al. 2020). Studi ini memberikan landasan untuk studi *in vivo* pada pemberian PIP transdermal. Sistem penghantaran ini dapat memberikan penghantaran obat yang ditargetkan ke area yang diinginkan. Oleh karena ini setiap kandidat obat memerlukan pengembangan bioanalisis dari segi penemuan dan pengembangan obat baru, yakni mengenai uji stabilitas maupun farmakokinetik.

Pengembangan metode bioanalisis yang baik merupakan hal yang sangat penting selama proses penemuan dan pengembangan obat. Penyiapan sampel obat dalam matriks biologis (plasma) yang lebih stabil, aman dan memiliki aktivitas yang lebih spesifik. Menurut *International Conference on Harmonization* (ICH) validasi metode memberikan pendekatan praktis dalam menentukan selektivitas, spesifisitas, batas deteksi, batas bawah kuantisasi, linearitas, akurasi, presisi, untuk mendukung studi farmakokinetik, bioavailabilitas, dan bioekivalensi (Shrestha et al. 2020). Bioanalisis, yang digunakan untuk penentuan kuantitatif obat dan metabolitnya dalam cairan biologis, memainkan peran penting dalam evaluasi dan interpretasi studi bioekivalensi dan toksikokinetik. Metode analisis selektif dan sensitif untuk evaluasi kuantitatif obat dan metabolitnya sangat penting untuk keberhasilan pelaksanaan studi pra-klinis dan/atau biofarmasi dan farmakologi klinis. Profil farmakokinetik memainkan peran yang sangat penting dalam pengembangan obat, karena memberikan informasi kritis tentang bagaimana obat dapat diserap, didistribusikan, dimetabolisme, dan diekskresikan oleh tubuh. Agar efektif dan aman, suatu terapi harus mengandung konsentrasi obat yang tepat. Oleh karena itu, pengujian bioanalitik diperlukan selama proses pengembangan obat.

Berdasarkan pemaparan di atas, dilakukan inovasi riset dengan mendesain obat dalam bentuk *Dissolving microneedle*. Dalam penelitian ini dilakukan optimasi menggunakan variasi polimer PVA dan PVP untuk mendapatkan desain polimer terbaik dari beberapa formula variasi polimer yang dihasilkan. Selanjutnya diformulasi dalam *microneedle* untuk meningkatkan penetrasi obat sampai pada jaringan yang diinginkan. Selanjutnya dilakukan evaluasi, karakterisasi, validasi metode dalam plasma menggunakan HPLC dan uji farmakokinetik secara *in-vivo*.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun Rumusan dari penelitian ini yaitu untuk :

1. Bagaimana memformulasi dan mengoptimasi formula DMN PIP dengan karakteristik hasil evaluasi yang baik?
2. Bagaimana memvalidasi metode bioanalisis piperin dalam plasma darah menggunakan HPLC?
3. Bagaimana mengevaluasi farmakokinetika sediaan *Dissolving Microneedle* piperin?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk:

1. Memformulasi serta dan mengoptimasi formula DMN PIP dengan karakteristik hasil evaluasi yang baik
2. Memvalidasi metode bioanalisis piperin dalam plasma darah menggunakan HPLC
3. Mengevaluasi farmakokinetika sediaan *Dissolving Microneedle* piperin

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan landasan yang kuat dalam pengembangan ilmu pengetahuan dibidang kesehatan, khususnya dalam pengobatan anti inflamasi yang lebih efektif dan efisien.

1.5 Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian ini adalah melakukan formulasi sediaan *dissolving microneedle* piperin, dan melakukan validasi metode analisis senyawa piperin menggunakan HPLC selanjutnya pengujian farmakokinetik secara *in- vivo*.

1.6 Kebaruan Penelitian

Kebaruan penelitian ini adalah didapatkan sediaan *Dissolving Microneedle* piperin yang mengandung piperin yang stabil secara fisik, validasi metode analisis piperin dalam plasma serta uji farmakokinetik secara *in vivo*.

BAB II

FORMULASI DAN EVALUASI *DISSOLVING MICRONEEDLE* PIPERIN SEBAGAI SISTEM PENGHANTARAN TRANSDERMAL: PENGARUH KONSENTRASI POLIMER

Piperin merupakan senyawa golongan alkaloid dan memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan formulasi *Dissolving Microneedle* Piperin (DMN PIP) dan mengevaluasi pengaruh konsentrasi polimer terhadap hasil pengujian karakterisasi, permeasi secara *ex vivo* dan uji dermatokinetik. PIP DMN dibuat dari berbagai konsentrasi piperin (PIP) dan polimer polivinil alkohol (PVA) : Polivinil pirolidon (PVP) (30;60 dan 25:50). Kemudian dilakukan evaluasi morfologi formula yang dilanjutkan dengan pengujian kekuatan mekanik. Selanjutnya dilakukan perhitungan densitas, LOD, dan persentase bobot piperin dalam *microneedle* kering serta penentuan volume, bobot jarum dan bobot piperin serta dianalisis. Dilakukan pengujian *ex vivo*, Difraksi Sinar-X, FTIR, uji hemolisis dan dermatokinetik. PIP dengan polimer PVA dan PVP pada F1 (PVA 30 %; PVP 60% {10;90}) menghasilkan DMN dengan kekuatan mekanik ($8,35 \pm 0,11\%$) dan kemampuan penetrasi yang baik. Nilai LOD F1 $55,72 \pm 0,39 \%$. Uji *in vitro* menunjukkan bahwa campuran polimer F1 memberikan penetrasi yang baik ($95,02 \pm 1,42 \mu\text{g}/\text{cm}^2$), jauh lebih tinggi dibandingkan campuran polimer F2, F3, F4, dan F5. Hasil karakterisasi PIP DMNs melalui analisis XRD menunjukkan puncak khas pada wilayah 20-30 yang menunjukkan adanya kristal. Kajian FT-IR menunjukkan bahwa karakteristik piperin yang terdapat pada PIP DMN dan tidak mengalami interaksi dengan polimer. Studi *ex-vivo* melalui uji hemolitik PIP DMNs menunjukkan tidak terjadi hemolisis, dengan indeks hemolisis di bawah ambang batas 5%. Hal ini menunjukkan bahwa PIP DMN tidak beracun dan aman digunakan. Hasil Studi dermatokinetik menunjukkan film PIP hanya mencatat $3,37 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, sedangkan PIP DMN menunjukkan konsentrasi yang jauh lebih tinggi yaitu $41,59 \pm 0,30 \mu\text{g}/\text{cm}^3$. Sistem penghantaran *microneedle* menunjukkan kemanjuran yang unggul dalam meningkatkan penyerapan obat, serta potensinya sebagai strategi efektif untuk meningkatkan penghantaran obat transdermal.

Kata Kunci : *Dissolving microneedle*; piperin; polimer; dermatokinetik.

2. 2 Pendahuluan

Obat anti inflamasi oral dapat menimbulkan reaksi sistemik dengan efek samping yang meningkatkan risiko sistemik, seperti penyakit jantung, serangan kardiovaskular, dan penyakit kulit (Brune and Patrignani 2015). Memang pemberian piperin oral untuk peradangan dapat menyebabkan mulas dan gatal-gatal. Selain itu, pemberian oral dapat menyebabkan konsentrasi obat tidak mencukupi di beberapa jaringan yang terinfeksi, sehingga memerlukan pengobatan jangka panjang (Permana, Paredes, et al. 2020). Oleh karena itu, obat yang menargetkan peradangan harus dirancang dengan mengurangi risiko sistemik dan meningkatkan konsentrasi efektif pada jaringan target (Mahboubi 2021).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa piperin (PIP) dari buah lada hitam (*Piper nigrum* L) mempunyai aktivitas antiinflamasi, antioksidan, antitumor, antipiretik, antijamur, antibakteri, antihipertensi, antidepresan, dan antidiare (Haq et al. 2021 ;Moraru et al. 2019;Panahi et al. 2015 ; Mohammadi et al. 2020). Oleh karena itu, dapat digunakan sebagai anti-inflamasi, imunoregulator, dan untuk mengobati kondisi seperti kecemasan dan kerusakan hati. Meskipun aktivitasnya baik, PIP memiliki kelarutan dalam air yang rendah, sehingga bioavailabilitasnya rendah. Berbagai pendekatan telah digunakan untuk meningkatkan bioavailabilitas PIP yang menguntungkan (Haq et al. 2021;Moraru et al. 2019).

Karena kelarutan PIP dalam air yang rendah menyebabkan bioavailabilitasnya buruk (Gorgani et al. 2017), maka diperlukan pengembangan sistem penghantaran obat yang sesuai untuk melewati penghalang kulit dan mencapai jaringan target yang diinginkan. PIP sulit diserap karena kelarutannya dalam air yang rendah, sifat non-polar, dan ketersediaan hayati yang terbatas, sehingga mengurangi aktivitas farmakologis dan terapeutiknya. Oleh karena itu, mengembangkan sediaan dengan sifat-sifat ini sangat penting untuk mengatasi masalah ini. Sangat penting untuk mengatasi kelarutannya yang buruk (Haq et al. 2021 ;Moraru et al. 2019)

Senyawa bioaktif diformulasikan menjadi bentuk sediaan yang sesuai dengan tujuan penggunaan medisnya (Panahi et al. 2015). *Microneedles* adalah salah satu sistem penghantaran obat alternatif terbaru (Sartawi, Blackshields, and Faisal 2022). *Microneedling* merupakan teknik mekanis menggunakan jarum berukuran mikron dengan panjang 100 – 1000 μm . Strukturnya berbentuk piramida atau kerucut, dan ujungnya harus tajam agar dapat menembus kulit. *Microneedling* hanya menembus epidermis dan tidak menimbulkan rasa sakit (Shukla et al. 2023). Kecepatan penghantaran obat dapat dikontrol lebih efektif dibandingkan penghantaran obat melalui

stratum korneum. Mereka dapat memberikan penghantaran obat yang ditargetkan ke area yang diinginkan, meningkatkan kemanjuran obat hingga mengurangi dosis. *Microneedle* membentuk jalur bagi obat untuk menembus lapisan kulit dan obat yang dilepaskan kemudian berpindah ke dermis dan sirkulasi sistemik (Hikma, Yulianty, and Aswad 2021; Rusu et al. 2020; Sartawi, Blackshields, and Faisal 2022).

Dissolving microneedle (DMN) adalah polimer hibrid yang larut dalam air yang menjadi tempat pembentukan obat. Ketika dimasukkan ke dalam kulit, DMN larut sepenuhnya (Sartawi, Blackshields, and Faisal 2022; Shukla et al. 2023; Yang et al. 2018). Difusi obat terjadi karena adanya kelembaban pada cairan interstisial kulit. Oleh karena itu, DMN membuat rongga di kulit yang berfungsi sebagai pintu masuk obat dan masuknya cairan interstitial (Sartawi, Blackshields, and Faisal 2022; Arshad et al. 2019). Selain itu, DMN tidak menghasilkan residu tajam, serta tidak ada risiko sisa patah microneedle karena larut dalam tubuh.

DMN dibuat menggunakan berbagai polimer yang sesuai. Namun, polimer harus stabil secara mekanis untuk penyisipan kulit, biokompatibel, larut dalam kulit, dan menyediakan matriks yang stabil untuk enkapsulasi obat. Polivinil alkohol (PVA) adalah polimer yang digunakan untuk membuat *microneedle* berlapis (Patel, Sharma, and Mehta 2018; Arshad et al. 2019), cetakan untuk membuat microneedle (Yang et al. 2018), dan DMN (Hu et al. 2021; Rac et al. 2019). PVA adalah polimer yang dapat terbiodegradasi dan larut dalam air yang penting dalam pembuatan jarum mikro. Permana dkk. menunjukkan bahwa menggabungkan polimer polivinil alkohol (PVA) dan polivinil pirolidon (PVP) dalam *microneedle* memberikan kekuatan mekanik yang lebih baik dibandingkan *microneedle* tanpa polimer PVP atau PVA (Waghule et al. 2019; Fukushima et al. 2011). Studi ini memberikan landasan untuk studi in vivo dan klinis pada pemberian PIP transdermal.

2. 3 Metode Penelitian

Jenis penelitian adalah eksperimen laboratorium, dengan memformulasi sediaan *Dissolving microneedle* PIP yang di evaluasi, pengujian secara ex vivo, FTIR, XRD serta di uji dermatokinetik.

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, Cetakan *Dissolving Microneedle* (Micropoint®, Singapura) Centrifuge (Corona®), instrumentasi analisis spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu Corp®), Fourier Transform Infra red (Shimadzu IR Prestige- 21®), Magnetik Stirer (Thermo Scientific®), Mini Sentrifuse (Diab D1008®), Mikropipet 10µL-100µL (Dragon Lab®), Mikropipet 100µL-1000µL (Dragon Lab®), Mikroskop (Olympus CS33, Jepang), Oven (Mettler®), Parafilm®, Perangkat ASUS™ dengan prosessor

intel® Core i5 *Design Expert*®, Sonikator (Bronson®), Sentrifuge (LC-04S Centrifuge Oregon, China), Scanning electron microscope (Ciqtek manufacture®), Instrumentasi HPLC (Shimadzu Corp®), Vakum Kompresor (Gats Manufacture®), X-Ray Difrraction (Rigaku MiniFlex II XRD).

Bahan yang digunakan adalah Piperin (kemurnian $\geq 97\%$) diperoleh dari Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA). Polivinil Alkohol (9-10 kDa), Polivinil Pirolidon K30 (Merck), dan phosphate buffer saline (PBS; Dulbecco A diperoleh dari Oxoid BR0014G ,Inggris).

2.3.1 Rancangan Formula Dissolving Microneedle dan Karakterisasi

Sebelum PIP diformulasikan dalam bentuk *dissolving microneedle*, dibuat variasi polimer yang mengandung PVA dan PVP K30 dengan 2 seri konsentrasi masing-masing 30 % b/b dan 60%b/b, 25% b/b dan 50%b/b. Perbandingan polimer PVA dan PVP K30 yang berbeda digunakan untuk mengoptimalkan komposisi campuran polimer (Tabel 1). *Microneedle* dibuat dari 1 gram formulasi dengan mencampurkan campuran polimer hingga larut sempurna.

Tabel 1. Rancangan formula DMN PIP

	Ratio (%b/b)					PIP
	PVA 30%: PVP 60% (10:90)	PVA 30%: PVP 60% (15:85)	PVA 30%: PVP 60% (20:80)	PVA 25%: PVP 50% (15:85)	PVA 25%: PVP 50% (20:80)	
F1	90%	—	—	—	—	10%
F2	—	85%	—	—	—	15%
F3	—	—	80%	—	—	20%
F4	—	—	—	85%	—	15%
F5	—	—	—	—	80%	20%

Setelah polimer *microneedle* disiapkan, formulasi PIP dengan berbagai bahan diuji untuk memaksimalkan pemuatan PIP dalam formulasi DMN. Penelitian ini menggunakan lima formulasi PIP DMNs dengan tiga konsentrasi PIP (10%, 15%, dan 20% b/b). Formulasi dibuat dengan mencampurkan bahan aktif PIP dengan polimer sebelum sonikasi. Selanjutnya, campuran polimer dan PIP ditempatkan ke dalam cetakan dan disentrifugasi (Corona 80-2 Centrifuge Zenith lab (Jiangsu) Co., LTD). Kemudian, *microneedles* disimpan selama 48 jam: 24 jam pada suhu kamar dan 24 jam tambahan pada suhu 37°C, tanpa dikeluarkan dari cetakan. Setelah kering, film dikeluarkan dari cetakan. Dilakukan uji morfologi, kekuatan mekanik dan kemampuan penetrasi untuk *microneedle* yang terbentuk.

2.3.2 Uji Morfologi

Karakteristik morfologi *microneedles* dilakukan secara mikroskopis menggunakan kamera Optilab (Olympus CS33, Jepang) yang diatur pada pembesaran 4x. Analisis ini bertujuan untuk melihat ketajaman jarum masing-masing formula. Diukur tinggi needle menggunakan aplikasi *image raster 3* ®.

2.3.3. Uji Kekuatan Mekanik dan Kemampuan Penetrasi

Pengujian ini untuk memastikan kekuatan *dissolving microneedle* terhadap tekanan yang diberikan dan mengukur pengurangan tinggi jarum setelah penerapan gaya yang setara dengan kompresi manual. Tekanan 30 N diberikan pada *microneedles* selama 30 detik menggunakan 8 lapisan parafilm® yang memiliki ketebalan yang sama dengan ketebalan lapisan kulit. Selanjutnya, dilakukan pengamatan jumlah lubang yang terbentuk pada lapisan parafilm® menggunakan mikroskop sesuai dengan metode 2.2.2 (Permana, Mir, et al. 2020). Persentasi kekuatan mekanik dan kemampuan penetrasinya dihitung dengan rumus berikut (González-Vázquez et al. 2017):

$$\% \text{ Kompresi} = \frac{\text{Tinggi Jarum Sebelum} - \text{Tinggi Jarum Sesudah uji}}{\text{Tinggi sebelum uji}} \times 100 \% \quad (1)$$

$$\% \text{ Penetrasi Lapisan ke-n} = \frac{\text{Jumlah Lubang Pada Lapisan ke-n}}{\text{Jumlah Lubang Total}} \times 100 \% \quad (2)$$

2.3.4. Penentuan Densitas

Campuran polimer yang dicetak ditimbang dan dikeringkan untuk mengetahui berat cetakan berisi polimer. Setelah kering, cetakan yang mengandung polimer ditimbang kembali, lalu diukur panjang, lebar, dan tingginya untuk mengetahui volumenya. Massa jenis (ρ) dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\rho = \frac{\text{Bobot}}{\text{Volume}} \quad (3)$$

2.3.5. Penentuan LOD dan Persentase Jumlah Total PIP Dalam Massa Kering

Persentase jumlah air yang hilang (LOD) setelah pengeringan dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Kehilangan air (LOD)} = \frac{\text{Bobot Basah} - \text{Bobot Kering}}{\text{Bobot basah}} \times 100 \% \quad (4)$$

Persentase jumlah PIP dalam massa kering dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Jumlah PIP dalam massa kering} = \frac{\text{Bobot Basah Piperin}}{100\% - \% \text{ Kehilangan air}} \times 100 \% \quad (5)$$

2.3.6. Penentuan Volume, Bobot Jarum(Needle) dan Bobot Piperin

Volume Jarum dihitung menggunakan rumus berikut:

$$V = \frac{1}{3} \times \text{Panjang} \times \text{Lebar} \times \text{Tinggi} \quad (6)$$

$$V_{\text{total}} = V \times 100 \text{ (needles)} \quad (7)$$

Dari persamaan 7, kemudian dihitung bobot *needle* menggunakan persamaan 3 yakni rumus densitas. Selanjutnya dihitung bobot piperin dalam massa kering menggunakan rumus berikut :

$$\text{Jumlah Piperin} = \% \text{ Piperin massa kering} \times \text{bobot 100 needle} \quad (8)$$

2.3.7 X- Ray Diffraction

Analisis difraksi sinar-X (XRD) menggunakan difraktometer sinar-X (Rigaku MiniFlex II XRD), untuk mendeteksi dan menganalisis struktur kristal (kristalinitas). Bubuk XRD yang dibuat dari setiap sampel ditelusuri menggunakan XRD. Kondisi pengukuran yang digunakan adalah logam target Cu, filter K α , tegangan 40 kV, dan radiasi arus 30 mA yang disebarkan pada daerah kristal sampel, diukur dengan goniometer vertikal. Pola tersebut diperoleh dengan menggunakan lebar panggung 0,04°C dan resolusi detektor pada 2 α (sudut difraksi) antara 10° dan 80° pada suhu kamar.

2.3.8 FTIR

Analisis FTIR digunakan untuk menganalisa gugus fungsional dari bahan padat dengan menggunakan metode ATR (*Attenuated Total Reflectance*), dimana hasil yang diperoleh berubah grafik adsorbance atau trasmitan. Sampel PIP dan formulasi dicampur dengan sejumlah kalium bromida dan dibuat menjadi pelet. Kemudian, mereka diukur menggunakan spektrofotometer *Fourier transform inframerah* (FTIR) (Accutrarc FT/IR-4100 Series; Perkin Elmer, USA) pada kisaran 4000–400 cm⁻¹, mode transmisi 32 menit pemindaian, dan resolusi. berukuran 4 cm⁻¹. Data spektral kemudian disimpan menggunakan nama sampel dan kode yang sesuai.

2.3.9 Penentuan Kandungan Obat Dalam *Microneedle*

2.3.9.1 Pembuatan Larutan Stok Piperin

Ditimbang secara seksama 10 mg piperin dan dimasukkan kedalam labu tentukur 10 mL lalu dilarutkan dan dicukupkan dengan metanol hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan stok piperin 100 bpj.

2.3.9.2 Pembuatan Kurva Baku Piperin

Dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Ditimbang 10 mg piperin dilarutkan dalam 10 mL methanol dan dimasukkan dalam labu tentukur 10 mL

sehingga diperoleh larutan stok 1000 ppm. Kemudian diencerkan menjadi 100 ppm sehingga dihasilkan larutan konsentrasi 8, 10, 12, 14, 16 dan 18 ppm dengan serapan panjang gelombang maksimum 347,4 nm.

2.3.9.3 Penentuan Kandungan Obat

Needle diambil, kemudian ditimbang (sebagai bobot teoritis) dan dilarutkan dalam aquadest hingga 50 mL. Setelah itu, larutan tersebut diambil 1 mL dan dicukupkan hingga 5 mL, kemudian larutan disaring menggunakan milipore. Selanjutnya dari larutan ini diambil sebanyak 20 μ L dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Persentasi Kandungan obat dalam *needle* dihitung menggunakan persamaan berikut :

$$\% \text{ Kandungan obat} = \frac{\text{Jumlah Obat Hasil Analisis}}{\text{Jumlah Obat Teori}} \times 100 \% \quad (9)$$

2.3.10 Uji Waktu Melarut

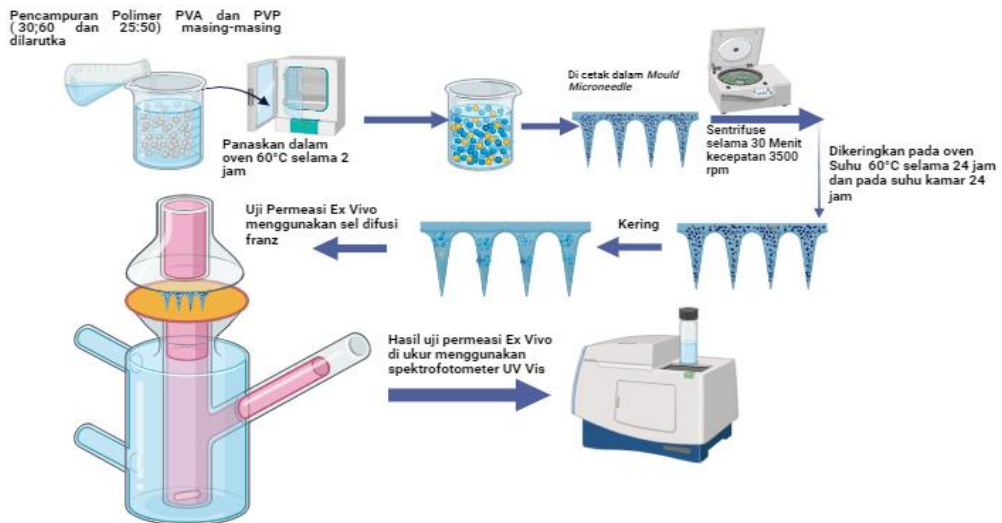
Uji ini dilakukan dengan menggunakan membran kulit tikus. Pengujian dilakukan dengan menempelkan *microneedle* ke bagian kulit menggunakan beban seberat 5 g selama 30 detik dan beberapa interval waktu 2, 4, 6, 8 dan 10 menit, kemudian *microneedle* dilepaskan dan diamati menggunakan mikroskop perbesaran 4X (Permana et al. 2019).

2.3.11. Pembuatan Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7,4

Sebanyak 10 tablet PBS (Dulbecco A diperoleh dari Oxoid BR0014G, Inggris dilarutkan dengan water one sebanyak 1 L lalu di ukur derajat keasaman 7,4 dengan pH meter (Amodwala, Kumar, and Thakkar 2017).

2.3.12 Uji Permeasi *Ex Vivo*

Kemampuan penetrasi obat yang dilepaskan ke dalam kulit melalui sediaan transdermal dapat ditentukan melalui uji permeasi. Kulit ditanamkan secara manual dengan PIP DMN terlarut, kemudian ditempelkan ke *sel Franz*. Suhu larutan PBS dipertahankan pada 37°C di dalam kompartemen reseptor. Prosedur ini dilanjutkan dengan pengadukan konstan pada 600 rpm. Pada interval waktu tertentu (0,25, 0,50, 0,45, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, dan 24 jam), 1 mL media diambil dari kompartemen reseptor dan diganti dengan 1 mL media segar. Setelah itu dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada 351,2 nm. Ilustrasi skema permeasi PIP *ex vivo* menggunakan *sel Franz* yang dimodifikasi ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1 . Uji permeasi PIP ex vivo menggunakan sel Franz yang dimodifikasi

2.3.13 Uji Hemolisis *Ex Vivo*

Pengujian hemolisis untuk menilai toksisitas formulasi sediaan farmasi. Darah diambil dari tikus sehat dan disentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 2000 rpm. Plasma dikumpulkan dan disimpan dalam Vacutainer, kemudian dicuci tiga kali dengan PBS (pH 7,4) hingga diperoleh supernatan bening. Selanjutnya PBS ditambahkan ke dalam supernatan eritrosit bening hingga konsentrasinya mencapai 10% v/v. DMN PIP kemudian dibuat dan diencerkan dalam PBS untuk memperoleh tiga konsentrasi (5, 50, dan 500 ppm). Kemudian masing-masing konsentrasi sebanyak 900 µl ditambahkan ke dalam 100 µl suspensi eritrosit, diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit, disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 10 menit, dan diukur pada panjang gelombang 540 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Supernatan yang dicampur dengan air suling digunakan sebagai kontrol positif. Supernatan yang dicampur dengan PBS digunakan sebagai kontrol negatif. Persentase hemolisis dihitung sebagai berikut:

$$\% \text{Kandungan obat} = \frac{\text{absorbansi sampel} - \text{absorbansi kontrol negatif}}{\text{Absorbansi kontrol positif} - \text{absorbansi kontrol negatif}} \times 100 \% \quad (10)$$

2.3.14 Dermatokinetik *Ex Vivo*

Penentuan dermatokinetik secara *ex-vivo* dari sediaan *Microneedle* dilakukan dengan maksud untuk mengetahui profil farmakokinetika seperti konsentrasi obat maksimum (C_{maks}), waktu obat pada konsentrasi maksimum (t_{maks}), kurva konsentrasi obat pada waktu 0 (t_0) hingga 24 jam (t_{24}) (AUC), dan *mean residence time* (MRT). Pengujian dermatokinetik dari DMN PIP dalam sediaan *microneedle* dilakukan

mengikuti metode yang telah dilakukan oleh Permana, Mir, et al. 2020. Pengujian dilakukan menggunakan alat sel difusi Franz. Bagian kulit tikus diletakkan di antara kompartemen donor dan reseptor, lalu sediaan *microneedle* diletakkan pada kulit, kemudian dipasang pada alat sel difusi Franz dan direkatkan dengan cyanoacrylate. Kompartemen reseptor berisi buffer fosfat pH 7,4. Diletakkan pemberat stainless steel silindris (5g) pada permukaan sediaan kemudian dilakukan dengan kecepatan 600 rpm pada $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Sampel kulit diambil pada interval waktu tertentu kemudian dipisahkan dari *microneedle* dan di cuci dengan PBS. Selanjutnya kulit ditusuk menggunakan biopsi punch dengan diameter 5 mm. Untuk memisahkan epidermis dari lapisan dermis sampel kulit dipanaskan dalam tangas air selama 3 menit pada suhu 60°C . Epidermis dipisahkan dengan hati-hati dari dermis menggunakan forsep. Selanjutnya DMN PIP diekstraksi dari kulit dengan menambahkan 1 mL metanol pada bagian kulit kemudian campuran dihomogenkan menggunakan homogenizer pada 50 Hz selama 10 menit. Penentuan kadar DMN PIP dilakukan menggunakan HPLC. Selanjutnya dibuat kurva baku antara konsentrasi obat terhadap waktu dan PK Solver (China Pharm-Maceutical University, Nanjing. China (Y. Zhang et al. 2010) yang digunakan untuk menghitung profil model terbuka satu kompartemen. Hasil tersebut kemudian dianalisis dan ditentukan nilai C_{maks} , t_{maks} , AUC, $t_{1/2}$, dan MRT menggunakan PKsolver edisi 2.0 yang dianalisis secara 1 kompartemen (Permana et al. 2021).

3.8 Analisis Data

Data penelitian disajikan sebagai mean $\pm$ standar deviasi (SD) dan dikelola menggunakan Microsoft Excel 2016 (Seattle, WA, USA). Data FTIR dan XRD dianalisis menggunakan perangkat lunak Origin Pro 8 (OriginLab, Northampton, MA, USA). Analisis statistik dilakukan menggunakan GraphPad Prism versi 6 (San Diego, CA, USA). PK Solver (Universitas Pharm-Maceutical Tiongkok, Nanjing. Tiongkok). Semua hasil dengan $p < 0,05$ dianggap signifikan secara statistik.

2.4 Hasil Penelitian dan Pembahasan

Piperin mempunyai aktivitas antiinflamasi, antioksidan, antitumor, antipiretik, antijamur, antibakteri, antihipertensi, antidepresan, dan antidiare (Haq et al. 2021 ;Moraru et al. 2019;Panahi et al. 2015 ;Mohammadi et al. 2020). Obat anti inflamasi oral dapat menimbulkan reaksi sistemik dengan efek samping yang meningkatkan risiko sistemik, seperti penyakit jantung, serangan kardiovaskular, dan penyakit kulit (Brune and Patrignani 2015). Pemberian piperin oral memiliki kekurangan yakni terjadi peradangan dan dapat menyebabkan mulas dan gatal-gatal. Selain itu, pemberian oral dapat menyebabkan konsentrasi obat tidak mencukupi di beberapa jaringan yang

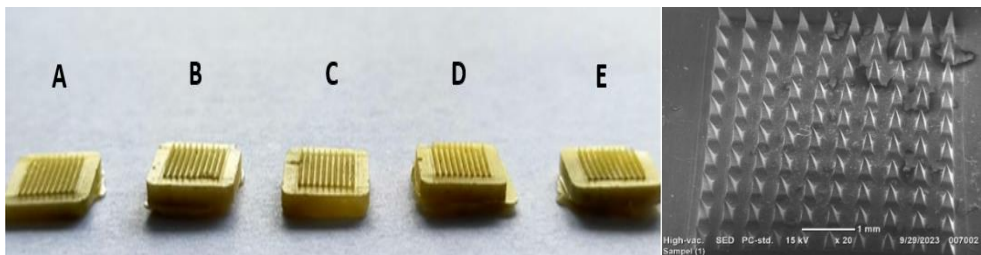
terinfeksi, sehingga memerlukan pengobatan jangka panjang (Permana, Paredes, et al. 2020). Oleh karena itu, obat yang menargetkan peradangan harus dirancang dengan mengurangi risiko sistemik dan meningkatkan konsentrasi efektif pada jaringan target (Mahboubi 2021). PIP memiliki kelarutan dalam air yang rendah menyebabkan bioavailabilitasnya buruk (Gorgani et al. 2017), maka diperlukan pengembangan sistem penghantaran obat yang sesuai untuk melewati penghalang kulit dan mencapai jaringan target yang diinginkan.

DMN dibuat menggunakan berbagai polimer yang sesuai, namun, polimer harus stabil secara mekanis untuk penyisipan kulit, biokompatibel, larut dalam kulit, dan menyediakan matriks yang stabil untuk enkapsulasi obat. Polivinil alkohol (PVA) adalah polimer yang digunakan untuk membuat *microneedles* berlapis (Patel, Sharma, and Mehta 2018; Arshad et al. 2019), cetakan untuk membuat *microneedles* (Yang et al. 2018), dan DMN (Hu et al. 2021); Rac et al. 2019). PVA adalah polimer yang dapat terbiodegradasi dan larut dalam air yang penting dalam pembuatan jarum mikro. Permana dkk. menunjukkan bahwa menggabungkan polimer PVA dan polivinil pirolidon (PVP) dalam *microneedles* memberikan kekuatan mekanik yang lebih baik dibandingkan *microneedles* tanpa polimer PVP atau PVA (Permana et al. 2021). Studi ini memberikan landasan untuk studi in vivo dan klinis pada pemberian PIP transdermal.

2.4.1 Uji Morfologi dan Kekuatan Mekanik DMN PIP

Penelitian ini mengembangkan metode DMN baru menggunakan campuran polimer untuk menghasilkan kekuatan mekanik dan kemampuan pelarutan jarum mikro yang diinginkan. Kombinasi polimer PVA dengan PVP merupakan polimer yang larut dengan baik di dalam kulit dan dapat terurai secara hayati. Demikian pula, kombinasi polimer ini menghasilkan DMN dengan kekuatan mekanik dan potensi penetrasi yang baik (Fukushima et al. 2011, Jamaledin et al. 2020, Dillon et al. 2017).

Langkah pertama pada penelitian ini dibuat perbandingan polimer PVP dan PVP untuk dapat menghasilkan DMN dengan morfologi, kekuatan, dan kemampuan penetrasi yang baik sebelum penambahan PIP. Selanjutnya dibuat blanko pelarut DMN untuk mengetahui apakah penambahan PIP mempengaruhi morfologi DMN, kekuatan mekanik, dan kemampuan penetrasi

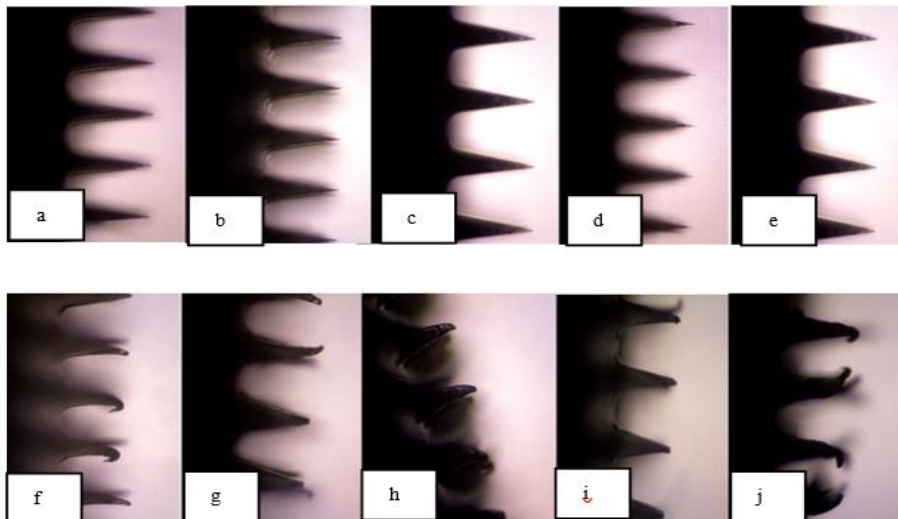


Gambar 2. Morfologi DMN PIP (A) F1, (B) F2, (C) F3, (D) F4, (E) F5 and (F) Scanning Electrom Microscope DMN PIP

DMN dibuat dengan menambahkan bahan aktif PIP pada 30% PVA dan 60% PVP (F1 [10:60], F2 [15:85], dan F3 [20:80]) atau 25% PVA dan 50% PVP (F4 [15:85] dan F5 [20:80]); **Gambar 2.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan 20% b/b PIP menghasilkan larutan yang kental, oleh karena itu penambahan PIP dalam jumlah banyak akan menyebabkan kesulitan dalam penyiapan DMN dan menyebabkan jarum yang terbentuk mudah patah dan pecah. Morfologi *dissolving microneedle* berbentuk kerucut dan tajam sehingga dapat menembus stratum korneum. Hasil ini sesuai dengan (Permana et al. 2019) yang melaporkan bahwa teknologi DMN merupakan salah satu metode praktis untuk mengatasi penghalang stratum korneum.

Table 2. Data Tinggi dan Penurunan tinggi jarum (blank dan PIP , SD; $n = 3$).

	Formula	Tinggi Jarum Sebelum Uji Kekuatan Mekanik (μm)	Tinggi Jarum Setelah Uji Kekuatan Mekanik (μm)	Penurunan Tinggi Needle (%)
Blank	FB1	722,01 $\pm$ 0,07	672,65 $\pm$ 3,39	6,83 $\pm$ 0,48
	FB2	711,09 $\pm$ 0,94	658,01 $\pm$ 4,85	7,46 $\pm$ 0,74
	FB3	701,54 $\pm$ 0,76	519,63 $\pm$ 3,27	25,92 $\pm$ 0,50
	FB4	708,22 $\pm$ 0,99	653,64 $\pm$ 2,28	7,70 $\pm$ 0,36
	FB5	705,42 $\pm$ 2,38	515,14 $\pm$ 1,16	26,97 $\pm$ 0,35
PIP	F1	730,79 $\pm$ 0,04	669,73 $\pm$ 0,85	8,35 $\pm$ 0,11
	F2	725,08 $\pm$ 0,08	653,54 $\pm$ 1,90	9,86 $\pm$ 0,25
	F3	710,77 $\pm$ 1,08	517,37 $\pm$ 0,61	27,21 $\pm$ 0,19
	F4	724,14 $\pm$ 0,09	651,64 $\pm$ 2,00	10,01 $\pm$ 0,27
	F5	718,08 $\pm$ 0,89	515,14 $\pm$ 1,15	28,18 $\pm$ 0,21



Gambar 3. Morfologi DMN Blanko (a) F1, (b) F2, (c) F3, (d) F4, and (e) F5 Sebelum Uji kekuatan mekanik, and (f) F1, (g) F2, (h) F3, (i) F4, (j) F5 Setelah uji kekuatan mekanik

Tabel 2 dan **Gambar 3** menunjukkan bagaimana kombinasi polimer mempengaruhi tinggi DMN. Peningkatan konsentrasi PVP mempengaruhi tinggi DMN. Sebaliknya, konsentrasi PVA yang tinggi menghasilkan kekuatan mekanik dan tinggi *microneedle* yang lebih rendah. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi polimer secara dramatis mempengaruhi ukuran DMN.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebelum uji kekuatan mekanik, penurunan tinggi DMN tertinggi terdapat pada formulasi polimer blanko FB3 ($25,92\% \pm 0,50\%$) dan FB5 ($26,97\% \pm 0,35\%$). Penurunan tinggi DMN terendah terdapat pada formulasi FB1 ($6,83\% \pm 0,48\%$). Formulasi FB2 dan FB3 memiliki penurunan tinggi DMN yang sedikit lebih besar dibandingkan FB1 (masing-masing $7,46\% \pm 0,74\%$ dan $7,70\% \pm 0,36\%$). Hasil ini menunjukkan bahwa FB1 memiliki kekuatan mekanik yang lebih besar daripada FB2, FB3, FB4, dan FB5, menyoroti bagaimana kombinasi polimer mempengaruhi ukuran DMN. Meskipun konsentrasi PVP yang tinggi meningkatkan ukuran DMN, konsentrasi PVA yang tinggi menurunkan ukuran DMN. Selain itu, PVP memiliki sifat adhesi, elastis, dan kekuatan yang baik serta dapat digunakan sebagai penahan kelembaban (Permana, Mir, et al. 2020, González-Vázquez et al. 2017, Deghiedy and El-Sayed 2020). FB1 terdiri dari 60% PVP dan 30% PVA dengan rasio 10:90. Meskipun FB2 dan FB3 memiliki konsentrasi PVP dan PVA yang sama dengan FB1, keduanya memiliki rasio yang berbeda yaitu masing-masing 15:85 dan 20:80. FB4 dan FB5 mempunyai konsentrasi PVA 25% dan PVP 50% dengan perbandingan masing-masing 15:85 dan 20:80. Oleh karena itu, temuan ini disebabkan konsentrasi PVA yang tinggi

cenderung menghasilkan DMN yang mudah bengkok karena memiliki modulus elastisitas yang rendah. Akibatnya, konsentrasi PVA yang lebih tinggi cenderung lebih melengkung tanpa masalah ketika diberi tekanan. Analisis statistik menentukan bahwa ketinggian awal blanko DMN berubah secara drastis ($p > 0,05$).

Formulasi PVA dan PVP yang mengandung PIP menghasilkan penurunan tinggi DMN paling signifikan pada F3 ($27,21 \pm 0,19\%$) dan FB5 ($28,18 \pm 0,21\%$), diikuti oleh FB2 ($9,86 \pm 0,25\%$) dan FB4 ($10,01 \pm 0,27\%$). FB1 memiliki pengurangan jarum terendah ($8,35 \pm 0,11\%$). Tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$) antara DMN yang mengandung PIP 10% b/b, 15% b/b, dan 20% b/b. Analisis statistika menunjukkan bahwa tinggi awal DMN tanpa zat aktif berbeda secara signifikan ($p > 0,05$). Meskipun setiap formulasi mencapai pemuatan PIP yang tinggi, penambahan 20% PIP meningkatkan viskositas, sehingga mempengaruhi kemampuan campuran untuk masuk ke setiap lubang cetakan DMN selama sentrifugasi. Berdasarkan literatur, DMN seharusnya memiliki panjang rata-rata 150-1500 mm (Rac et al. 2019). Besar kecilnya DMN disesuaikan dengan ketebalan dermis kulit agar tidak sampai ke saraf sehingga tidak menimbulkan rasa sakit. Studi formulasi yang berkaitan dengan kekuatan disolusi mekanis DMN sangat penting karena merupakan langkah pertama dalam menentukan kemampuan DMN untuk menembus stratum korneum secara efektif dan membawa obat dengan tepat.

Kemampuan penetrasi dan kekuatan mekanik DMN dievaluasi untuk memastikan stabilitas disolusi dan ketahanan terhadap tekanan yang diberikan. Evaluasi dilakukan untuk mengukur kemampuan melarutkan DMN melalui delapan lapisan Parafilm yang ketebalannya sama dengan lapisan kulit ditentukan Gambar 3 (A-E). Sisipan DMN diberi tekanan 30 N selama 30 detik. Kemudian, jumlah lubang yang terbentuk melalui setiap lapisan Parafilm serta ukuran dan bentuk DMN diamati menggunakan mikroskop pembesaran optik lab 4x. Semua DMN tampak melengkung untuk setiap formulasi, terutama F3 dan F5 Gambar 3 (FJ). Temuan ini kemungkinan disebabkan karena masing-masing DMN mempunyai kekuatan mekanik yang rendah sehingga tidak dapat menembus lapisan Parafilm dengan baik. Oleh karena itu, hanya sebagian kecil lapisan yang ditembus.

Pengujian ini untuk melihat perubahan pada *dissolving microneedle* setelah tekanan diberikan. Pelat bawah DMN tidak berubah setelah diberi tekanan. Temuan ini menunjukkan bahwa pelat dasar DMN memiliki kekuatan mekanik yang baik karena ikatan hidrogen antara gugus hidroksil (-OH) PVA dan gugus karbonil PVP (C=O)

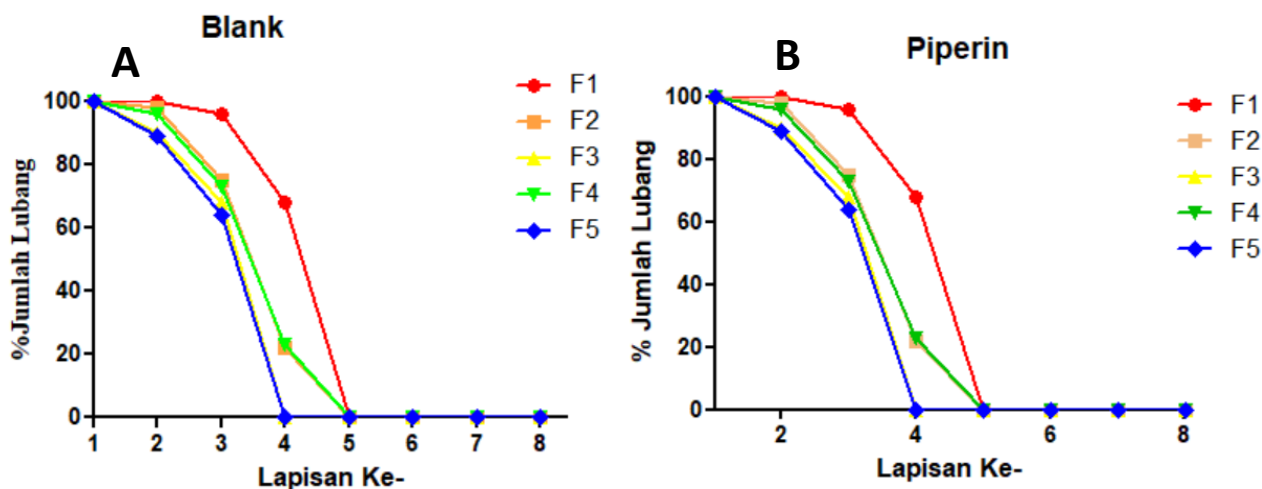
meningkatkan kekuatan mekanik formulasi PIP DMN [36]. Ikatan ini membentuk struktur DMN yang kuat.

2.4.2 Uji Kemampuan Penetrasi

Uji penetrasi dilakukan untuk melihat hasil uji kekuatan mekanik DMN terkait lubang pada setiap lapisan Parafilm. Ketebalan rata-rata setiap lapisan Parafilm adalah 127 μm . Kedelapan lapisan Parafilm tersebut memiliki ketebalan kurang lebih 1008 μm setara dengan ketebalan lapisan kulit mulai dari stratum korneum hingga dermis bagian atas. Persentase penetrasi PIP DMNs disajikan pada **Tabel 4** dan **Gambar 4 (A-B)**.

Table 3. Hasil uji Penetrasi DMN Blank dan PIP

Lapisan	% Penetrasi DMNs									
	FB1	FB2	FB3	FB4	FB5	F1	F2	F3	F4	F5
1	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2	100	100	100	100	100	100	98	90	96	89
3	97	88	79	86	78	96	75	68	73	64
4	70	35	0	33	0	68	22	0	23	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Gambar 4. Persentasi dari (A) Blank (B) Piperin yang menembus parafilm.

Tabel 3 menunjukkan bahwa FB3 dan FB5 menembus lapisan Parafilm ketiga dan membentuk lubang masing-masing sebanyak 79 (79%) dan 78 (78%). Sebaliknya, FB1, FB2, dan FB4 menembus hingga lapisan keempat dan membentuk lubang masing-masing sebanyak 70 (70%), 35 (35%), dan 33 (33%). Meskipun ketiga formulasi ini dapat

menembus lapisan keempat, FB1 memiliki jumlah lubang terbanyak karena kekuatan mekaniknya yang unggul. Setelah penambahan PIP, F3 dan F5 menembus lapisan Parafilm ketiga dan membentuk lubang masing-masing sebanyak 68 (68%) dan 64 (64%). Namun F1, F2, dan F4 membentuk lebih sedikit lubang pada lapisan Parafilm karena penambahan PIP 10% dan 15%. Berdasarkan analisis varians (ANOVA), pengaruhnya tidak signifikan ($p > 0,05$).

Berdasarkan rata-rata ketebalan satu lembar Parafilm, formulasi F3 dan F5 melakukan penetrasi hingga 381 μm , sedangkan F1, F2, dan F4 melakukan penetrasi hingga 508 μm , dimana ketebalan lapisan parafilm kurang lebih 126 (72% dari total ketebalan jarum). Temuan menunjukkan bahwa semua formulasi dapat menembus kulit hingga papiler dermis, yaitu area kulit antara epidermis dan dermis yang tidak memiliki ujung saraf. Oleh karena itu, penetrasi PIP DMN tidak menimbulkan rasa sakit, dan PIP dapat mencapai target melalui pembuluh darah. Hasil ini konsisten dengan Permana dkk (Permana, Mir, et al. 2020).

2.4.3 Densitas DMN PIP

Penentuan jumlah teori PIP dilakukan terlebih dahulu sebelum menentukan kandungan PIP dalam *needle*. Berdasarkan perhitungan tersebut, F1, F2, F3, F4, dan F5 mempunyai massa jenis masing-masing sebesar $4,42 \pm 0,20 \text{ mg/mm}^3$, $3,81 \pm 0,07 \text{ mg/mm}^3$, $2,99 \pm 0,07 \text{ mg/mm}^3$, $3,50 \pm 0,03 \text{ mg/mm}^3$, dan $2,83 \pm 0,07 \text{ mg/mm}^3$. Kemudian dihitung bobot kering DMN. Kepadatan dan berat kering DMN yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Data densitas, LOD, Jumlah PIP dalam massa kering, bobot needle dan bobot PIP dalam 100 needle setiap formula DMN PIP

	Formula	Densitas (mg/mm^3)	LOD (%)	Jumlah PIP dalam massa kering (%)	Bobot 100 Needle (mg)	Bobot PIP dalam 100 jarum (mg)
30:60	F1(10:90)	$4,42 \pm 0,20$	$55,72 \pm 0,39$	$22,53 \pm 0,20$	$4,12 \pm 0,19$	$0,93 \pm 0,04$
	F2(15:85)	$3,81 \pm 0,08$	$54,70 \pm 0,42$	$33,11 \pm 0,31$	$3,56 \pm 0,07$	$1,18 \pm 0,02$
	F3(20:80)	$2,99 \pm 0,07$	$52,09 \pm 0,81$	$41,75 \pm 0,70$	$2,79 \pm 0,07$	$1,16 \pm 0,02$
25:50	F4(15:85)	$3,50 \pm 0,03$	$54,93 \pm 0,66$	$33,30 \pm 0,81$	$3,27 \pm 0,02$	$1,09 \pm 0,09$
	F5(20:80)	$2,83 \pm 0,07$	$52,16 \pm 0,51$	$41,81 \pm 0,45$	$2,64 \pm 0,07$	$1,10 \pm 0,03$

2.3.4 Loss On Drying (LOD) dan Persentasi Jumlah PIP Dalam Massa Kering.

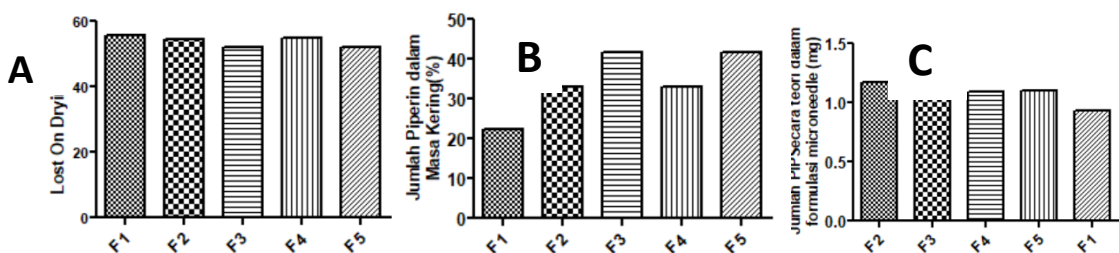
Besarnya PIP pada massa kering diperoleh dari nilai perhitungan LOD. Nilai LOD formulasi F1, F2, F3, F4, dan F5 masing-masing sebesar $55,72\% \pm 0,39\%$, $54,70\% \pm$

0,42%, $52,09\% \pm 0,81\%$, $54,93\% \pm 0,66\%$, dan $52,93\% \pm 0,51\%$. (A). Oleh karena itu, berdasarkan Persamaan 5, persentase PIP pada massa kering F1, F2, F3, F4, dan F5 berturut-turut adalah $22,53\% \pm 0,20\%$, $33,11\% \pm 0,31\%$, $41,75\% \pm 0,70\%$, $33,30\% \pm 0,81\%$, dan $41,81\% \pm 0,45\%$, masing-masing Gambar 5(B). Berdasarkan hasil analisis Kruskal – Wallis untuk LOD diperoleh F1 dan F5 F1 dan F3 signifikan ($p > 0,05$).

Selain menghitung jumlah total PIP dalam massa kering dari F1, F2, F3, F4, dan F5, juga dapat menghitung jumlah total PIP dalam massa kering dari F2, F3, dan F4. Selain digunakan untuk menghitung jumlah total PIP dalam berat kering, nilai LOD juga berkorelasi dengan kekuatan mekanik karena pengeringan setiap monomer PVP akan memberikan kekakuan dan pengerasan yang tepat, sehingga meningkatkan kekuatan mekanik PIP DMN. Oleh karena itu, pada pengujian kekuatan mekanik PIP DMN yang dibuat dengan formulasi F1 memiliki kekuatan mekanik yang paling baik dengan nilai LOD tertinggi.

2.4.5 Volume, Bobot Jarum (*Needle*) dan Bobot PIP

Sebelum melakukan perhitungan bobot PIP teoritis, penting untuk mengukur bobot dan volume DMN yang digunakan untuk menentukan konsentrasi PIP *dissolving microneedle*. Berdasarkan persamaan 8, F1, F2, F3, F4, dan F5 masing-masing mengandung $0,93 \pm 0,04$, $1,18 \pm 0,02$, $1,18 \pm 0,02$, $1,16 \pm 0,02$, $1,09 \pm 0,09$, dan $1,10 \pm 0,03$ mg PIP. Gambar 5(C). ANOVA satu arah menunjukkan bahwa konten PIP berbeda secara signifikan antara F1, F2, F3, F4, dan F5 ($p < 0,05$).

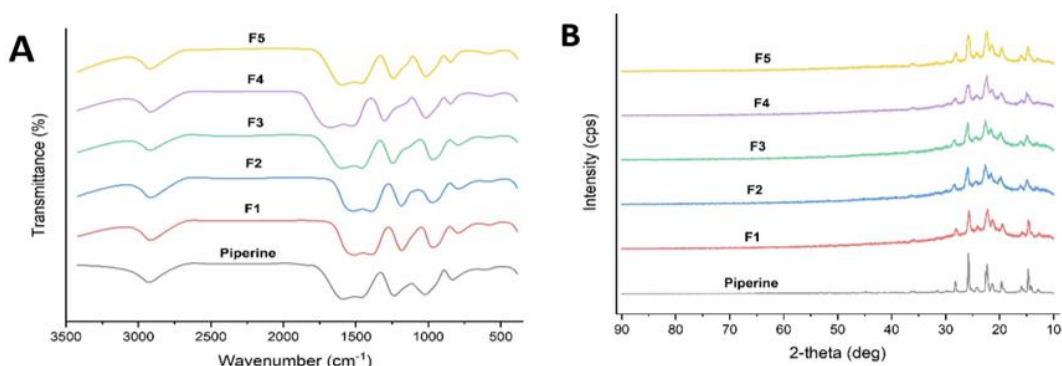


Gambar 5. (A) LOD, (B) Jumlah piperin dalam massa kering (%), (C) Jumlah PIP secara teori dalam *dissolving microneedle* (SD. n = 3)

2.3.6 X-Ray Diffraction and FTIR

XRD merupakan metode analisis untuk mengidentifikasi fase kristal dalam material dengan menentukan parameter struktur kisi dan memperoleh ukuran partikel. Profil XRD juga dapat memberikan data kualitatif dan semi-kuantitatif pada padatan atau sampel (Permana et al. 2019, Ahmed et al. 2019). Analisis puncak XRD menunjukkan bahwa PIP dan formulasinya berbentuk kristal, ditandai dengan puncak khas yang tajam

(Gambar 6B), konsisten dengan penelitian sebelumnya mengenai struktur kompleks inklusi terner PIP (Gorgani et al. 2017). Gambar 6B menunjukkan analisis XRD, dimana puncak PIP yang tajam dan berkarakteristik di sekitar wilayah 20–30 terlihat jelas pada difraktogram dengan nilai 2θ sebesar 28.12, 28.14, 28.16, dan 28.20 serta intensitas 178.00, 93.33, 9230.00, 9520.00, dan 10046,67, masing-masing. Hasil D formulasi PIP DMN tidak berbeda dengan PIP murni.



Gambar 6. (A) Spektrum FTIR, (B) Spektrum XRD

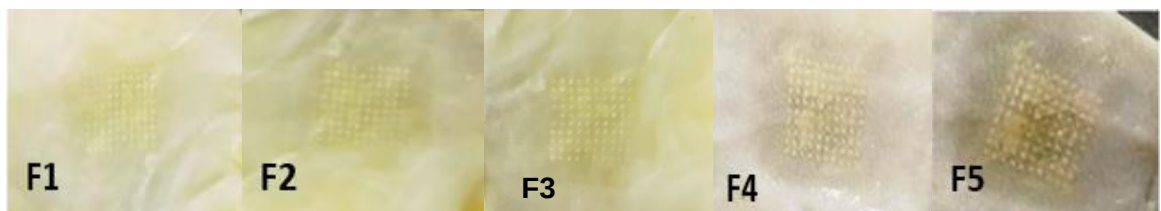
Evaluasi FTIR dilakukan, suatu metode spektroskopi yang sering digunakan untuk mengetahui adanya reaksi antara obat dan polimer serta untuk mengetahui puncak yang terbentuk pada suatu zat akibat serapan inframerah. Analisis FTIR pada PIP murni dan formulasinya menunjukkan adanya puncak IR pada bilangan gelombang 1633 cm^{-1} yang mencerminkan ulur C=O. Selain itu, puncak pada bilangan gelombang 1132 cm^{-1} mencerminkan pembengkokan C-O pada inti pentadienil PIP. Adanya ulur C=C aromatik dan konjugat C=C pada PIP ditunjukkan dengan adanya puncak pada bilangan gelombang 1583 cm^{-1} . Analisis getaran IR menunjukkan bahwa formulasi PIP DPIP memiliki kemiripan getaran dengan PIP murni (Asasutjarit et al. 2020, Cd, Physicochemical, and Docking 2020). Analisis gugus fungsi formulasi PIP murni dan PIP DMN ditunjukkan pada Gambar 6(A). Hasil FTIR pada formulasi PIP DMN menunjukkan tidak adanya perbedaan gugus dari gugus PIP murni, hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadi interaksi antara PIP dengan polimer yang digunakan.

2.4.7 Uji Melarut

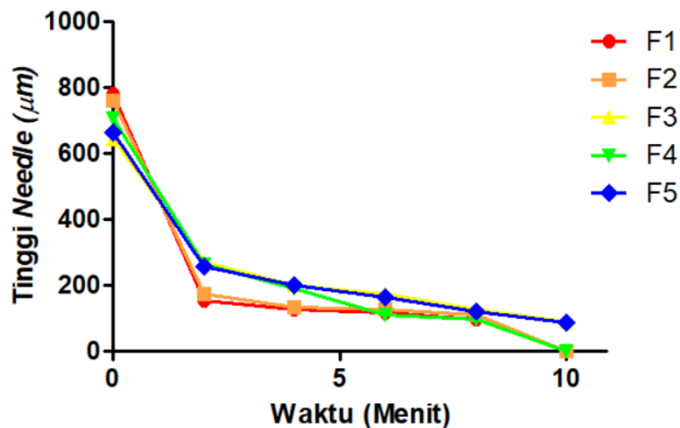
Uji melarut dilakukan untuk memastikan profil temporal dari disolusi *microneedle* lengkap dalam kulit setelah aplikasi, sebagaimana dirinci pada tabel 5

Tabel 5. Data Tinggi DMN PIP di beberapa interval waktu

Formula		PIP DMN height (μm)					
		0 min	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min
30:60	F1(10:90)	778,57 $\pm 3,93$	152,80 $\pm 2,37$	126,41 $\pm 2,40$	114,76 $\pm 0,62$	95,84 $\pm 7,20$	0
	F2(15:85)	757,85 $\pm 10,15$	170,90 $\pm 7,16$	133,34 $\pm 4,15$	125,00 $\pm 2,77$	107,94 $\pm 7,56$	0
	F3(20:80)	641,74 $\pm 0,07$	267,98 $\pm 4,52$	198,61 $\pm 4,80$	172,18 $\pm 0,12$	125,03 $\pm 4,21$	88,92 $\pm 6,35$
25:50	F4(15:85)	704,20 $\pm 4,19$	262,66 $\pm 5,57$	188,41 $\pm 5,91$	109,14 $\pm 1,48$	97,00 $\pm 2,69$	0
	F5(20:80)	661,00 $\pm 6,34$	255,91 $\pm 5,48$	200,35 $\pm 3,42$	161,12 $\pm 2,40$	119,60 $\pm 0,88$	87,49 $\pm 2,7$



Gambar 7. DMN (A) Waktu melarut pada kulit tikus.



Gambar 8 Tinggi jarum uji melarut

Tabel 5, Gambar 7 dan gambar 8 menunjukkan bahwa F1, F3, dan F4 telah larut sempurna setelah 10 menit, ditandai dengan bagian bawah pelat DMN tidak

menunjukkan residu DMN. Namun F3 dan F5 tidak larut sempurna dalam jaringan kulit tikus. F1 larut lebih cepat dibandingkan F2 dan F4. Oleh karena itu, formulasi F1 dapat larut sempurna bila digunakan pada jaringan hidup.

Formulasi DMN yang optimal dicapai dengan menggabungkan PVA dan PVP dalam sediaan polimer (Larrañeta et al. 2016) (Nguyen et al. 2018), memfasilitasi pengaplikasian yang mudah pada kulit. PVP adalah polimer hidrofilik dengan sitotoksitas yang sangat rendah karena kelarutannya dalam air dan memiliki biokompatibilitas yang baik (Teodorescu, Bercea, and Morariu 2019, Deghiedy and El-Sayed 2020, Mir et al. 2020). Namun, konsentrasi PVA yang lebih tinggi terlarut pada laju yang lebih lambat dibandingkan dengan PVP, disebabkan oleh sifat semi-kristalnya. Akibatnya, F3 dan F5 larut lebih lambat dibandingkan F1, F2, dan F4. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Azmana et al. 2020 dan Permana et al. 2019, menunjukkan peningkatan laju disolusi DMN dengan formulasi yang mengandung PVP tinggi dan konsentrasi PVA rendah. Berdasarkan hasil analisis Kruskal–Wallis, kelima formula memiliki waktu melarut yang berbeda signifikan ($p > 0,05$).

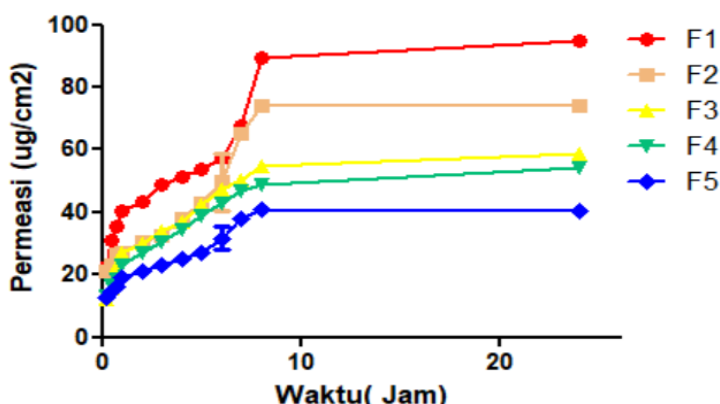
2.4.8. Uji Permeasi Ex- Vivo

Uji permeasi ex vivo digunakan untuk menentukan profil permeasi farmakologis PIP setelah pemberian DMN pada kulit. Pengujian ini menggunakan peralatan sel Franz yang dirakit untuk mengukur pelepasan PIP dari DMN terlarut. Sel difusi Franz terdiri atas kompartemen donor dan reseptor, dengan membran kulit ditempatkan di antara keduanya. Membran kulit perlu bersentuhan dengan larutan media reseptor untuk memungkinkan penetrasi sediaan melalui kulit ke dalam cairan reseptor. Gelembung udara atau pusaran air harus dihindari dalam cairan kompartemen reseptor selama proses difusi karena keberadaannya dapat menyebabkan celah antara membran dan cairan sehingga mencegah penetrasi zat aktif. Hasil persentase permeasi PIP untuk masing-masing formulasi DMN disajikan pada **Tabel 6** dan **Gambar. 9**

Tabel 6. Persentase Permeasi formula *dissolving microneedle*

Waktu (Jam)	Permeasi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)				
	F1	F2	F3	F4	F5
0.25	22,61 $\pm$ 1,33	21,05 $\pm$ 0,40	12,16 $\pm$ 0,64	13,02 $\pm$ 0,24	12,66 $\pm$ 0,57
0.50	30,80 $\pm$ 0,72	23,04 $\pm$ 0,32	15,86 $\pm$ 0,49	16,72 $\pm$ 0,49	14,57 $\pm$ 0,35
0.75	35,62 $\pm$ 1,36	26,36 $\pm$ 1,60	22,72 $\pm$ 0,16	18,70 $\pm$ 1,40	16,25 $\pm$ 0,26
1	40,39 $\pm$ 1,53	26,95 $\pm$ 0,24	27,00 $\pm$ 0,82	23,04 $\pm$ 0,42	19,02 $\pm$ 0,26
2	43,23 $\pm$ 1,40	30,48 $\pm$ 0,24	29,95 $\pm$ 0,64	26,89 $\pm$ 0,32	21,13 $\pm$ 0,41
3	48,69 $\pm$ 1,06	32,41 $\pm$ 0,24	23,04 $\pm$ 0,15	30,43 $\pm$ 0,16	23,04 $\pm$ 0,15

4	51,21 ± 1,06	37,77 ± 0,94	33,91 ± 1,12	34,61 ± 0,70	25,12 ± 0,37
5	53,62 ± 0,49	42,75 ± 1,24	37,07 ± 0,37	38,73 ± 1,45	26,83 ± 0,09
6	57,21 ± 0,98	49,60 ± 9,20	42,53 ± 0,24	42,96 ± 0,89	31,58 ± 3,77
7	67,76 ± 1,20	65,30 ± 1,54	47,30 ± 0,58	47,09 ± 0,82	38,20 ± 0,43
8	89,40 ± 1,37	74,24 ± 1,24	54,74 ± 0,33	49,09 ± 0,82	40,71 ± 0,15
24	95,02 ± 1,42	73,92 ± 0,74	58,98 ± 0,49	54,48 ± 0,51	40,55 ± 0,09



Gambar 9. Hasil uji permeasi ex vivo

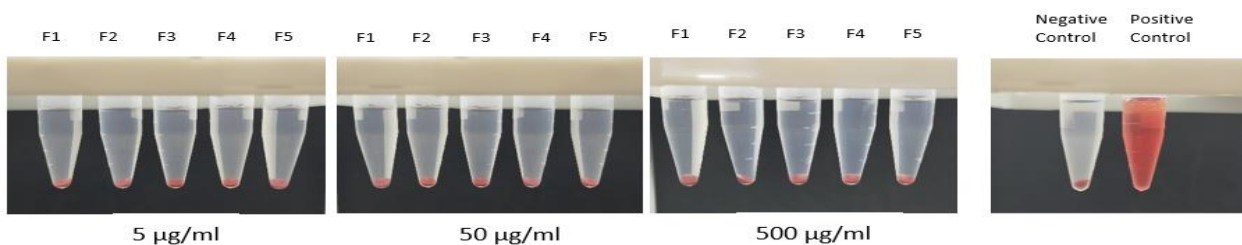
Tabel 6 dan **Gambar 9** menunjukkan jumlah kumulatif total PIP yang terserap pada setiap selang waktu. Formulasi F3, F4, dan F5 menunjukkan laju permeasi yang lambat namun meningkat hingga 24 jam dan relatif konstan setelah 2-4 jam. Setelah 24 jam, permeasi F1, F2, F3, F4 dan F5 masing-masing mencapai $95,02 \pm 1,4$, $73,92 \pm 0,74$, $58,98 \pm 0,49$, $54,48 \pm 0,51$, dan $40,55 \pm 0,09$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Persentase permeasi berbeda secara signifikan antar formulasi ($p > 0,05$). Temuan ini berbanding lurus dengan fluks yang diperoleh untuk kelima formulasi, yang didefinisikan sebagai laju permeasi obat melalui area membran tertentu dalam satuan waktu tertentu. Hasil fluks yang diperoleh setelah 24 jam untuk F1, F2, F3, F4, dan F5 masing-masing adalah $26,48 \pm 0,41$, $20,99 \pm 0,41$, $18,09 \pm 0,25$, $16,52 \pm 0,21$, dan $12,98 \pm 0,22$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}$. Kinetika pelepasan obat Korsmeyer – Peppas. Pada dasarnya, dikembangkan untuk menggambarkan kinetika pelepasan obat dari matriks polimer. Model ini menjelaskan mekanisme pelepasan berdasarkan persamaan Fickian dan non-Fickian dengan melihat nilai n (eksponen pelepasan) (Dash et al. 2010, Baishya 2017). Masing-masing, fluks secara signifikan lebih tinggi ($p > 0,05$) dengan F1 dibandingkan dengan formulasi lain.

Persentase permeasi lebih tinggi terdapat pada F1 (10% PVA dan 90% PVP) dibandingkan dengan formulasi lain, sehingga berdampak pada jumlah kumulatif PIP

yang menembus. Semakin cepat DMN larut maka penetrasinya semakin optimal. Hal ini sesuai dengan uji waktu larut F1 yang cepat larut karena konsentrasi PVP-nya yang tinggi. Laju disolusi suatu polimer menggambarkan jumlah obat yang dilepaskan per satuan waktu. Semakin cepat polimer larut maka semakin cepat obat dilepaskan. Oleh karena itu, formulasi dengan tingkat kelarutan dan permeasi yang tinggi akan meningkatkan jumlah obat dalam sirkulasi sistemik (González-Vázquez et al. 2017 ,Nguyen et al. 2018). Oleh karena itu, hasil uji permeasi menunjukkan bahwa F1 merupakan formulasi PIP DMN terbaik untuk penghantaran obat. Setelah dianalisis mengikuti kinetika pengelasan model Korsmeyer – Peppas dengan nilai $r^2 = 0,9676$, nilai n sebesar 0,264.

2.4.9 Uji Hemolisis

Uji aktivitas hemolitik dilakukan pada tikus Wistar untuk mengetahui toksisitas awal formulasi PIP DMN terhadap eritrosit. Pengujian ini diperlukan untuk setiap sediaan farmasi baru yang dikembangkan sebagai obat (Elim et al. 2022). Hasil uji hemolisis formulasi PIP DMN menunjukkan tidak ada hemolisis. Gambar 10, dengan indeks pengujian hemolisis di bawah ambang batas 5% yang dilaporkan dalam literatur (Lee et al. 2015 ,Nguyen et al. 2018 ,Mir et al. 2020), menunjukkan bahwa PIP DMN tidak beracun dan aman untuk digunakan. Secara keseluruhan, penelitian ini adalah yang pertama mengembangkan formulasi kombinasi PIP DMN menggunakan PIP dengan polimer PVA dan PVP untuk mengatasi peradangan, yang dapat menjadi terapi alternatif yang menjanjikan. Umumnya, formulasi ini akan bekerja lebih cepat dan memiliki potensi bioavailabilitas yang lebih tinggi melalui jalur transdermal. Selain itu, formulasi ini tidak beracun, bebas iritasi, dan tidak menimbulkan rasa sakit, namun pengembangannya masih pada tahap awal pengembangan obat. Oleh karena itu, penelitian *in vivo* lebih lanjut diperlukan untuk memastikan konsentrasi obat dalam plasma dan menentukan dosis yang diperlukan.



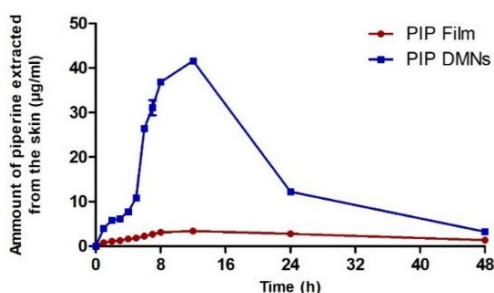
Gambar 10. Hasil uji hemolisis ex vivo

2.4.10 Uji Dermatokinetik Ex Vivo

Pengujian dermatokinetik dilakukan dengan menggunakan kulit tikus yang sehat dan tidak terinfeksi. Studi dermatokinetik *ex vivo* bertujuan untuk membandingkan farmakokinetik DMN PIP dengan PIP Patch piperine tanpa jarum (PIP film). Perbedaan yang diamati dalam konsentrasi maksimum (C_{max}), area di bawah kurva (AUC), waktu paro ($t_{1/2}$), dan waktu retensi rata-rata (MRT) antara DMN PIP dan formulasi film PIP memberikan informasi penting mengenai pengaruh yang berbeda dari formulasi film PIP dan PIP DMNs. Serta melihat kinetika pelepasan piperin setelah aplikasi sistem DMN.

Tabel 7. Parameter profil dermatokinetik PIP DMN dan film PIP

Formulasi	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	T_{max} (Jam)	$T_{1/2}$ (Jam)	AUC ($\mu\text{g}/\text{cm}^3 \cdot \text{Jam}$)	MRT (Jam)
PIP film	$3,37 \pm 0,03$	12	$26,53 \pm 2,21$	$112,22 \pm 2,59$	$92 \pm 3,19$
DMN PIP	$41,59 \pm 0,30$	12	$10,09 \pm 0,34$	$789,71 \pm 25,5$	$18,62 \pm 0,40$



Gambar 11. Uji dermatokinetik DMN PIP dan *Needle free patch*

Seperti yang ditunjukkan pada Tabel 7 dan Gambar 11, pengujian ini menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam konsentrasi maksimum yang dicapai, dengan film PIP hanya mencatat $3,37 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, sedangkan PIP DMN menunjukkan konsentrasi yang jauh lebih tinggi yaitu $41,59 \pm 0,30 \mu\text{g}/\text{cm}^3$. Berbeda dengan yang diamati dalam profil farmakokinetik ini dapat dikaitkan dengan *microneedle* di DMN PIP, yang dapat memfasilitasi peningkatan permeasi obat melalui stratum korneum (Elim et al. 2022).

Sistem penghantaran dengan bantuan jarum mikro menunjukkan kemanjuran yang unggul dalam meningkatkan penyerapan obat, menunjukkan potensinya sebagai strategi efektif untuk meningkatkan penghantaran obat transdermal dibandingkan dengan formulasi film biasa. Demikian pula, dilihat dari area di bawah kurva (AUC)

memperkuat keunggulan PIP DMN dibandingkan PIP Film, dengan DMN PIP menunjukkan AUC yang jauh lebih tinggi, sekitar 7 kali lipat lebih besar. Peningkatan AUC ini semakin menekankan peningkatan paparan obat yang dicapai dengan sistem pemberian bantuan *mikroneedle*.

Sebaliknya, penurunan yang signifikan ($p < 0,05$) pada $t_{1/2}$ dan MRT diamati pada DMN PIP. Temuan ini dapat dikaitkan dengan percepatan penyerapan PIP yang difasilitasi oleh kehadiran *microneedles*. Tingkat penyerapan yang lebih cepat menghasilkan $t_{1/2}$ dan MRT yang lebih pendek, yang menunjukkan berkurangnya retensi obat di lapisan kulit dan meningkatkan penetrasi ke dalam sirkulasi sistemik. Parameter farmakokinetik ini secara kolektif melihat dampak dinamis teknologi *microneedle* dalam mengoptimalkan kinetika penyerapan obat dan menunjukkan potensinya untuk mempengaruhi penyerapan obat untuk meningkatkan hasil terapi.

2. 5 Kesimpulan

Penelitian ini berhasil membuktikan sistem penghantaran obat transdermal menggunakan PIP dan polimer. Sistem ini dapat menembus lapisan kulit untuk menembus target stratum korneum pada tingkat terapeutik. Kesesuaiannya didukung dengan pemeriksaan jarum, mekanik, penyisipan kulit, waktu melarut, pengujian permeasi, FTIR, XRD, uji hemolisis dan pengujian dermatokinetik. Formulasi F1 dengan PVA 30% dan PVP 60% dengan rasio 10:90 merupakan formula terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdu Hussien, Ali. 2022. "High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A Review." *Annals of Advances in Chemistry* 6(1): 010–020.
- Ahmed, Lina, R Atif, TS Elden 2019. "Study the Using of Nanoparticles as Drug Delivery System Based on Mathematical Models for Controlled Release." *International Journal of Latest Technology in Engineering, Management & Applied Science* 8(5): 52–56. www.ijltemas.in.
- Aisyah, Andi Nur, Permana A.D, Wahyudin E 2024. "Formulation and Evaluation of Dissolving Microneedle for Transdermal Delivery of Piperine: The Effect of Polymers Concentration." *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 0(0): 1–20. <https://doi.org/10.1080/09205063.2024.2320948>.
- Alomrani, Abdullah Hasan, Faisal Ibraheem Alhazza, Khalid Mohammed AlGhamdi, and Gamal Mohamed El Maghraby. 2018. "Effect of Neat and Binary Vehicle Systems on the Solubility and Cutaneous Delivery of Piperine." *Saudi Pharmaceutical Journal* 26(2): 162–68. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.12.015>.
- Amodwala, Sejal, Praveen Kumar, and Hetal P. Thakkar. 2017. "Statistically Optimized Fast Dissolving Microneedle Transdermal Patch of Meloxicam: A Patient Friendly Approach to Manage Arthritis." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 104: 114–23.
- Arshad, Muhammad Sohail 2019. "Improved Transdermal Delivery of Cetirizine Hydrochloride Using Polymeric Microneedles." *DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences* 27(2): 673–81.
- Asasutjarit, Rathapon. 2020a. "Application of Film-Forming Solution as a Transdermal Delivery System of Piperine-Rich Herbal Mixture Extract for Anti-Inflammation." *Heliyon* 6(6): e04139.
- . 2020b. "Application of Film-Forming Solution as a Transdermal Delivery System of Piperine-Rich Herbal Mixture Extract for Anti-Inflammation." *Heliyon* 6(6): e04139. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04139>.
- Auti, Pratibha, Satish Gabhe, and Kakasaheb Mahadik. 2019. "Bioanalytical Method Development and Its Application to Pharmacokinetics Studies on Simvastatin in the Presence of Piperine and Two of Its Synthetic Derivatives." *Drug Development and Industrial Pharmacy* 45(4): 664–68.
- Azmana, Motia . 2020. "Transdermal Drug Delivery System through Polymeric Microneedle: A Recent Update." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 60: 101877.
- Baishya, Himankar. 2017. "Application of Mathematical Models in Drug Release Kinetics of Carbidopa and Levodopa ER Tablets." *Journal of Developing Drugs* 06(02): 1–8.
- Brune, Kay, and Paola Patrignani. 2015. "New Insights into the Use of Currently Available Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs." *Journal of Pain Research* 8: 105–18.
- Budama-Kilinc, Yasemin. 2019. "Piperine Nanoparticles for Topical Application: Preparation, Characterization, In Vitro and In Silico Evaluation." *ChemistrySelect* 4(40): 11693–700.
- Cd, Using, Hpmc Physicochemical, and Molecular Docking. 2020. "Formulation of Piperine Ternary Inclusion Complex."
- Dagron, Stéphanie. 2014. "Die International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH)." *Handbuch Ethik und Recht der Forschung am Menschen*: 541–45.
- Darwish, Asmaa Badawy 2024. "Development of Chitosan Lipid Nanoparticles to Alleviate the Pharmacological Activity of Piperine in the Management of Cognitive Deficit in Diabetic Rats." *Scientific Reports* 14(1): 1–17.

<https://doi.org/10.1038/s41598-024-58601-x>.

- Dash, Suvakanta, Padala Narasimha Murthy, Lilakanta Nath, and Prasanta Chowdhury. 2010. "Kinetic Modeling on Drug Release from Controlled Drug Delivery Systems." *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research* 67(3): 217–23.
- Deghiedy, N. M., and S. M. El-Sayed. 2020. "Evaluation of the Structural and Optical Characters of PVA/PVP Blended Films." *Optical Materials* 100(January): 109667.
- Dillon, Colin, Helen Hughes, Niall J. O'Reilly, and Peter McLoughlin. 2017. "Formulation and Characterisation of Dissolving Microneedles for the Transdermal Delivery of Therapeutic Peptides." *International Journal of Pharmaceutics* 526(1–2): 125–36.
- Elim, Diany. 2022. "Hydrogel Forming Microneedle-Mediated Transdermal Delivery of Sildenafil Citrate from Polyethylene Glycol Reservoir: An Ex Vivo Proof of Concept Study." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 222(September 2022): 113018.
- European Medicines Agency. 2019. "EMA/CHMP/ICH/172948/2019 - ICH Guideline M10 on Bioanalytical Method Validation." *EMA Guidance Document* 44(March): 57.
- Fukushima, Keizo. 2011. "Two-Layered Dissolving Microneedles for Percutaneous Delivery of Peptide/Protein Drugs in Rats." *Pharmaceutical Research* 28(1): 7–21.
- González-Vázquez, Patricia et al. 2017. "Transdermal Delivery of Gentamicin Using Dissolving Microneedle Arrays for Potential Treatment of Neonatal Sepsis." *Journal of Controlled Release* 265(May): 30–40.
- Gorgani, Leila, Maedeh Mohammadi, Ghasem D. Najafpour, and Maryam Nikzad. 2017. "Piperine—The Bioactive Compound of Black Pepper: From Isolation to Medicinal Formulations." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16(1): 124–40.
- Haq, Ihtisham Ul et al. 2021. "Piperine: A Review of Its Biological Effects." *Phytotherapy Research* 35(2): 680–700.
- Hikma, Nurul, Risfah Yulianty, and Muhammad Aswad. 2021. "Stability of Thioamide Type of Piperine Under Acidic and Basic Conditions." *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences* 9(Spl-2-ICOPMES_2020): S259–63.
- Hu, Xiuli. 2021. "Microneedle Array Patches Integrated with Nanoparticles for Therapy and Diagnosis." *Small Structures* 2(4): 2000097.
- Indrayanto, Gunawan. 2018. 43 Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology *Validation of Chromatographic Methods of Analysis: Application for Drugs That Derived From Herbs*. 1st ed. Elsevier Inc. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.podrm.2018.01.003>.
- Itharat, Arunporn. 2020. "Pharmacokinetics of Piperine after Oral Administration of Sahastara Remedy Capsules in Healthy Volunteers." *Research in Pharmaceutical Sciences* 15(5): 410–17.
- Jamaledin, Rezvan. 2020. "Advances in Antimicrobial Microneedle Patches for Combating Infections." *Advanced Materials* 32(33): 1–29.
- Jantarat, Chutima . 2018. "Effect of Piperine on Skin Permeation of Curcumin from a Bacterially Derived Cellulose-Composite Double-Layer Membrane for Transdermal Curcumin Delivery." *Scientia Pharmaceutica* 86(3).
- Larrañeta, Eneko, Rebecca E.M. Lutton, A. David Woolfson, and Ryan F. Donnelly. 2016. "Microneedle Arrays as Transdermal and Intradermal Drug Delivery Systems: Materials Science, Manufacture and Commercial Development." *Materials Science and Engineering R: Reports* 104: 1–32.
- Lee, I. Chi, Jheng Siou He, Meng Tsan Tsai, and Kai Che Lin. 2015. "Fabrication of a Novel Partially Dissolving Polymer Microneedle Patch for Transdermal Drug Delivery." *Journal of Materials Chemistry B* 3(2): 276–85.
- Lilleby Helberg, Ragne Marie, Zhongde Dai, Luca Ansaloni, and Liyuan Deng. 2020. "PVA/PVP Blend Polymer Matrix for Hosting Carriers in Facilitated Transport Membranes: Synergistic Enhancement of CO₂ Separation Performance." *Green*

- Energy and Environment* 5(1): 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.gee.2019.10.001>.
- Luzuriaga, Michael A.. 2018. "Biodegradable 3D Printed Polymer Microneedles for Transdermal Drug Delivery." *Lab on a Chip* 18(8): 1223–30.
- Mahboubi, Mohaddese. 2021. "Pepper as Analgesic and Anti-Inflammatory Alternative and Bio-Enhancer Agent for Treatment of Pain." *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences* 91(3): 487–93.
- Manousi, Natalia, Paraskevas D Tzanavaras, and Contantinos K Zacharis. 2020. "Bioanalytical HPLC Applications of In-Tube Solid." *Molecules* 25(9): 2096.
- Mir, Maria et al. 2020. "Microneedle Liquid Injection System Assisted Delivery of Infection Responsive Nanoparticles: A Promising Approach for Enhanced Site-Specific Delivery of Carvacrol against Polymicrobial Biofilms-Infected Wounds." *International Journal of Pharmaceutics* 587(July): 119643.
- Mohammadi, Maryam. 2020. "Protective Effect of Piperine in Ischemia-Reperfusion Induced Acute Kidney Injury through Inhibition of Inflammation and Oxidative Stress." *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 10(6): 570–76.
- Moraru, Aurelian Corneliu. 2019. "Insights of the Antimicrobial Activity of Piperine Extracted from Piper Nigrum L." *Farmacia* 67(6): 1099–1105.
- Nguyen, Hiep X.. 2018. "Poly (Vinyl Alcohol) Microneedles: Fabrication, Characterization, and Application for Transdermal Drug Delivery of Doxorubicin." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 129(April): 88–103.
- Panahi, Yunes. 2015. "Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Curcuminoid-Piperine Combination in Subjects with Metabolic Syndrome: A Randomized Controlled Trial and an Updated Meta-Analysis." *Clinical Nutrition* 34(6): 1101–8.
- Paredes, Alejandro J. 2020. "Microarray Patches : Poking a Hole in the Challenges Faced When Delivering Poorly Soluble Drugs." 2005792: 1–27.
- Patel, Viral, Om Prakash Sharma, and Tejal Mehta. 2018. "Nanocrystal: A Novel Approach to Overcome Skin Barriers for Improved Topical Drug Delivery." *Expert Opinion on Drug Delivery* 15(4): 351–68.
- Permana, A D. 2019. "Solid Lipid Nanoparticle-Based Dissolving Microneedles: A Promising Intradermal Lymph Targeting Drug Delivery System with Potential for Enhanced Treatment of Lymphatic Filariasis." *Journal of Controlled Release* 316(September): 34–52.
- Permana, A D, Alejandro J. Paredes, et al. 2020. "Dissolving Microneedle-Mediated Dermal Delivery of Itraconazole Nanocrystals for Improved Treatment of Cutaneous Candidiasis." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 154(July): 50–61.
- Permana, A D. 2021. "Albendazole Nanocrystal-Based Dissolving Microneedles with Improved Pharmacokinetic Performance for Enhanced Treatment of Cystic Echinococcosis." *ACS Applied Materials and Interfaces* 13(32): 38745–60.
- Permana, A D, Maria Mir, Emilia Utomo, and Ryan F. Donnelly. 2020. "Bacterially Sensitive Nanoparticle-Based Dissolving Microneedles of Doxycycline for Enhanced Treatment of Bacterial Biofilm Skin Infection: A Proof of Concept Study." *International Journal of Pharmaceutics*: X 2(December 2019): 100047.
- Pharmacokinetics, Nonlinear, Multiple Dosing, and Practical Pharmacokinetics. 2014. *Pharmacokinetics*.
- Politi, Flávio Augusto Sanches. 2023. "Piperine-Loaded Nanoparticles Incorporated into Hyaluronic Acid/Sodium Alginate-Based Membranes for the Treatment of Inflammatory Skin Diseases." *International Journal of Biological Macromolecules* 227(October 2022): 736–48.
- Rac, Vladislav et al. 2019. "PVA Cryogel as Model Hydrogel for Iontophoretic Transdermal Drug Delivery Investigations. Comparison with PAA/PVA and PAA/PVP Interpenetrating Networks." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*

- 180(May): 441–48.
- Rosalina, Alodia, and Imam Adi Wicaksono. 2018. "Formulasi Dan Evaluasi Microneedle Dengan Berbagai Macam Polimer Sebagai Zat Pembawa Obat." *Farmaka* 16(3): 292–303.
- Rusu, Aura. 2020. "Compatibility Study of Four Binary Combinations of Active Ingredients for Dermal Film Forming Systems." *Farmacia* 68(5): 800–811.
- S Patil, Harshal, Sourabh Jain, Karunakar Shukla, and Paresh A Patil. 2022. "Development and Evaluation of Transdermal Patches of Piperine Hydrochloride." *Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology* 14(02): 133–38.
- Sahu, Promod Kumar. 2014. "Pharmacokinetic Study of Piperine in Wistar Rats after Oral and Intravenous Administration." *International Journal of Drug Delivery* 6(1): 82–87.
- Salehi, Bahare. 2019. 24 Molecules Piper Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications.
- Santosh, M. K., D. Shaila, I. Rajyalakshmi, and I. Sanjeeva Rao. 2005. "RP - HPLC Method for Determination of Piperine from Piper Longum Linn. and Piper Nigrum Linn ." *E-Journal of Chemistry* 2(2): 131–35.
- Sartawi, Ziad, Caroline Blackshields, and Waleed Faisal. 2022. "Dissolving Microneedles: Applications and Growing Therapeutic Potential." *Journal of Controlled Release* 348(June): 186–205.
- Setyaningsih, Dewi. 2021. "Isocratic High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) for Simultaneous Quantification of Curcumin and Piperine in a Microparticle Formulation Containing Curcuma Longa and Piper Nigrum." *Heliyon* 7(3): e06541. <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06541>.
- Sharma, Neeru. 2013. "Development and Validation of Rapid RP- HPLC Method for Estimation of Piperine in Piper Nigrum L." *International Journal of Herbal Medicine IJHM* 1(14): 6–9.
- Shrestha, Suraj, Nibedita Chaudhary, Rajkumari Sah, and Neera Malakar. 2020. "Analysis of Piperine in Black Pepper by High Performance Liquid Chromatography." *Journal of Nepal Chemical Society* 41(1): 80–86.
- Shukla, Shalini. 2023. "Therapeutic Potential of Microneedles Based Delivery Systems for the Management of Atopic Dermatitis." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 84(March): 104493. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104493>.
- Stojanović-Radić, Zorica. 2019. "Piperine-A Major Principle of Black Pepper: A Review of Its Bioactivity and Studies." *Applied Sciences (Switzerland)* 9(20): 1–29.
- Teodorescu, Mirela, Maria Bercea, and Simona Morariu. 2019. "Biomaterials of PVA and PVP in Medical and Pharmaceutical Applications: Perspectives and Challenges." *Biotechnology Advances* 37(1): 109–31.
- Waghule, Tejashree. 2019. "Microneedles: A Smart Approach and Increasing Potential for Transdermal Drug Delivery System." *Biomedicine and Pharmacotherapy* 109(July 2018): 1249–58.
- Yang, Guozhong. 2018. "An Acryl Resin-Based Swellable Microneedles for Controlled Release Intradermal Delivery of Granisetron." *Drug Development and Industrial Pharmacy* 44(5): 808–16.
- Zafar, Aameeduzzafar, Mohd Yasir, and Mohammad Khalid. 2024. "Development of Piperine-Loaded Soft Binary Ethosomal Gel to Improve Transdermal Delivery: Box-Bhekhen Design Optimization, Ex-Vivo Permeation, and Antimicrobial Evaluation." *Journal of Cluster Science* 35(1): 311–25. <https://doi.org/10.1007/s10876-023-02479-8>.
- Zhang, Xiao Peng. 2021. "In Vivo Safety Assessment, Biodistribution and Toxicology of Polyvinyl Alcohol Microneedles with 160-Day Uninterruptedly Applications in Mice." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 160(December 2020):

1–8.

Zhang, Yong, Meirong Huo, Jianping Zhou, and Shaofei Xie. 2010. “PKSolver: An Add-in Program for Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis in Microsoft Excel.” *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 99(3): 306–14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmpb.2010.01.007>.