

**PENGEMBANGAN SEDIAAN NANOEMULSI DIETILKARBAMAZIN UNTUK  
MENINGKATKAN EFEKTIVITAS TERAPI FILARIASIS LIMFATIK**



**AHMAD MAULANA**

**C031201059**

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**PENGEMBANGAN SEDIAAN NANOEMULSI DIETILKARBAMAZIN UNTUK  
MENINGKATKAN EFEKTIVITAS TERAPI FILARIASIS LIMFATIK**

**AHMAD MAULANA  
C031 20 1059**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**PENGEMBANGAN SEDIAAN NANOEMULSI DIETILKARBAMAZIN UNTUK  
MENINGKATKAN EFEKTIVITAS TERAPI FILARIASIS LIMFATIK**

AHMAD MAULANA  
C031 20 1059

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Kedokteran Hewan

Pada

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2024**



# SKIRIPSI

## PENGEMBANGAN SEDIAAN NANOEMULSI DIETILKARBAMAZIN UNTUK MENINGKATKAN EFEKTIVITAS TERAPI FILARIASIS LIMFATIK

**AHMAD MAULANA**  
**C031201059**

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Kedokteran Hewan pada  
19 Juni 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Kedokteran Hewan  
Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:  
Pembimbing tugas akhir,



Ahmad Maulana, S.Si, M.Si, Ph.D, Apt.  
212 1 002

Mengetahui:  
Ketua Program Studi,



Dr. drh. Dwi Kesuma Sari, APVet.  
NIP. 19730216-199903 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi berjudul "Pengembangan Sediaan Nanoemulsi Dietilkarbamazin untuk Meningkatkan Efektivitas Terapi Filariasis Limfatik" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Prof. Andi Dian Permana, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

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

Makassar, 10 Juni 2024

Yang menyatakan



Ahmad Maulana

C031 20 1059



## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur kehadiran Allah SWT, Tuhan yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, dan pencipta seluruh alam. Setiap kemampuan dan kemudahan telah diberikan-Nya sehingga saya selaku penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk mendapat gelar S-1 Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Penyelesaian skripsi ini juga dipersembahkan untuk keluarga tercinta penulis, Ibunda Isrowiah, Ayahanda Imronih, Kak Putri, Kak Hari, Kak Isan, Kak Adda dan Adek Nashwa. Terima kasih atas begitu banyak bentuk cinta yang luar biasa, semua doa dan dukungan yang diberikan kepada Penulis. Semoga senantiasa diberikan kemudahan, kekuatan dan rasa syukur dalam mengurai satu demi satu harapan yang dipanjatkan di tempat yang jauh ini.

Dalam menyusun dan menyelesaikan skripsi ini, penulis juga sangat membutuhkan kerjasama, bantuan, bimbingan, pengarahan, petunjuk, saran-saran, dan dukungan dari berbagai pihak. Terima kasih penulis hanturkan kepada :

1. Dr. drh. Dwi Kesuma Sari, APVet selaku Ketua Prodi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
2. drh. Fika Yuliza Purba, M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Program Pendidikan Profesi Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
3. Prof. Andi Dian Permana, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. sebagai dosen pembimbing yang telah memberi banyak arahan dan masukan.
4. Teman-teman penelitian PKM, Hanin, Syafika, Vani dan Jeane.
5. Bapak/Ibu dosen pengajar prodi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas semua ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
6. Teman-teman dari angkatan 2020 Cione, Kelompok 13 Bedah Veteriner terima kasih telah menjadi bagian dari cerita penulis dengan berbagai kebersamaan. Mari kita lebih bersemangat untuk perjalanan-perjalanan menjemput gelar berikutnya.
7. Kepada semua pihak yang telah berkontribusi, terima kasih telah menjadi bagian penting dalam perjalanan saya dalam menempuh pendidikan ini

Kepada semua yang telah disebutkan diatas, semoga Tuhan membalas segalanya dengan balasan yang lebih dari kalian berikan. Penulis telah berusaha memberi yang terbaik dalam menyelesaikan skripsi ini. Namun, penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat digunakan dan dimanfaatkan sebagaimana mestinya.



Makassar, 10 juni 2024

## ABSTRAK

AHMAD MAULANA. **Pengembangan Sediaan Nanoemulsi Dietilkarbamazin untuk Meningkatkan Efektivitas Terapi Filariasis Limfatik.** (dibimbing oleh Andi Dian Permana).

**Latar Belakang.** Dietilkarbamazin (DEC) merupakan obat lini pertama untuk pengobatan penyakit kaki gajah (Filariasis Limfatik). Namun, sifat hidrofilik dan nilai lipofilisitas rendah DEC membuat kadar DEC yang mencapai sistem limfatik sebagai tempat cacing filaria dewasa berkembang menjadi rendah. Oleh karena itu, untuk meningkatkan efektivitasnya, perlu dikembangkan formula nanoemulsi dietilkarbamazin tipe air dalam minyak. Nanoemulsi menjadi sistem yang paling tepat dalam memperbaiki penghantaran dietilkarbamazin karena tingginya nilai lipofilisitas fase minyak yang digunakan dalam emulsi. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan formula nanoemulsi dietilkarbamazin tipe air dalam minyak untuk meningkatkan penghantaran ke sistem limfatik. **Metode.** Pengembangan formula nanoemulsi dietilkarbamazin dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi minyak kelapa murni, tween@80, span@80 dan gliserin. Sediaan nanoemulsi yang diperoleh selanjutnya dievaluasi tipe emulsi, ukuran partikel, morfologi globul, pelepasan in vitro, permeasi dan retensi ex vivo, aktivitas hemolisis, serta iritasi dan histopatologi. **Hasil.** Formula 3 dengan ukuran partikel 84,7 nm memenuhi persyaratan penghantaran limfatik. Formula stabil secara fisik dengan dietilkarbamazin terenkapsulasi sempurna dalam nanoemulsi. Pelepasan dietilkarbamazin terkontrol selama 8 jam dan meningkatkan retensi di jaringan intestinal secara ex vivo. Kadar dietilkarbamazin permeasi melebihi konsentrasi minimum efektif membunuh cacing filaria. Formula tidak memiliki aktivitas hemolisis dan tidak mengiritasi jaringan usus. **Kesimpulan.** Formula nanoemulsi tipe air dalam minyak berpotensi meningkatkan penghantaran dietilkarbamazin ke sistem limfatik untuk mengobati limfatik filariasis.

**Kata kunci :** nanoemulsi; dietilkarbamazin, limfatik, ex vivo permeasi



## ABSTRACT

AHMAD MAULANA. **Development of Diethylcarbamazine Nanoemulsion to Enhance the Effectiveness of Lymphatic Filariasis Therapy.** (supervised by Andi Dian Permana).

**Background.** Diethylcarbamazine (DEC) is the first-line drug for the treatment of elephantiasis (lymphatic filariasis). However, the hydrophilic nature and low lipophilicity of DEC cause the levels of DEC reaching the lymphatic system, where filarial worms develop, to be low. Therefore, to increase its effectiveness, it is necessary to develop a water-in-oil nanoemulsion formulation of diethylcarbamazine. Nanoemulsions are the most appropriate system to improve the delivery of diethylcarbamazine due to the high lipophilicity of the oil phase used in the emulsion.

**Objective.** This study aimed to develop a water-in-oil nanoemulsion formulation of diethylcarbamazine to enhance its delivery to the lymphatic system. **Method.** The development of the diethylcarbamazine nanoemulsion formulation was carried out by varying the concentrations of virgin coconut oil, Tween®80, Span®80, and glycerin. The obtained nanoemulsion formulations were then evaluated for emulsion type, particle size, globule morphology, in vitro release, ex vivo permeation and retention, hemolytic activity, irritation, and histopathology. **Results.** Formula 3 with a particle size of 84.7 nm met the requirements for lymphatic delivery. The formula was physically stable with diethylcarbamazine perfectly encapsulated in the nanoemulsion. The release of diethylcarbamazine was controlled for 8 hours and increased its retention in the intestinal tissue ex vivo. The permeated concentration of diethylcarbamazine exceeded the minimum effective concentration for killing filarial worms. The formula did not exhibit hemolytic activity and did not irritate the intestinal tissue. **Conclusion.** The water-in-oil nanoemulsion formulation has the potential to enhance the delivery of diethylcarbamazine to the lymphatic system for the treatment of lymphatic filariasis.

**Keywords:** nanoemulsion; diethylcarbamazine, lymphatic, ex vivo permeation.



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
PENGEMBANGAN SEDIAAN NANOEMULSI DIETILKARBAMAZIN UNTUK MENINGKATKAN EFEKTIVITAS TERAPI FILARIASIS LIMFATIK.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA .....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH .....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
Adapun tujuan dari penelitian ini, yaitu: .....	2
1.4 Manfaat Penelitian .....	2
1.5 Hipotesis .....	2
1.6 Tinjauan Pustaka .....	2
1.6.1 Filariasis Limfatik .....	2
1.6.2 Dietilkarbamazin .....	3
1.6.3 Nanoemulsi.....	3
<b>BAB II METODE PENELITIAN.....</b>	<b>5</b>
2.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	5
2.2 Jenis Penelitian .....	5
2.3 Alat dan Bahan .....	5
2.3.1 Alat.....	5
2.3.2 Bahan.....	5
2.4 Metode.....	5
2.4.1 Pembuatan Formula Nanoemulsi .....	5
2.4.2 Uji Tipe Emulsi .....	6
2.4.3 Ukuran Partikel .....	6
2.4.4 Morfologi Globul Nanoemulsi .....	6
Jji <i>In Vitro</i> .....	7
Jji <i>Ex Vivo</i> .....	7
Jji Hemolisis .....	7
Jji Iritasi dan Histopatologi .....	8
Analisis Data.....	8
<b>PEMBAHASAN.....</b>	<b>9</b>
Nanoemulsi Dietilkarbamazin.....	9



3.2	Ukuran Partikel dan Morfologi Nanoemulsi .....	9
3.3	Uji Pelepasan <i>In Vitro</i> .....	10
3.4	Uji Pelepasan <i>Ex Vivo</i> .....	10
3.5	Uji Hemolisis .....	11
3.6	Uji Iritasi Histopatologi Mukosa Usus dan Lambung Tikus .....	12
<b>BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>13</b>
4.1	Kesimpulan .....	13
4.2	Saran .....	13
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>14</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>17</b>



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## DAFTAR TABEL

**Tabel 1.** Rincian formula nanoemulsi dengan karakteristik baik . ..... 6



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Formula 1 nanoemulsi DEC tipe air dalam minyak (A). formula 2 nanoemulsi DEC tipe air dalam minyak (B). Formula 3 nanoemulsi DEC tipe air dalam minyak (C). Formula 4 nanoemulsi DEC tipe air dalam minyak (D). Formula 5 nanoemulsi DEC tipe air dalam minyak (E). Formula 3 nanoemulsi DEC tipe air dalam minyak (F).....	9
<b>Gambar 2.</b> Morfologi globul nanoemulsi (A). Ukuran partikel formula nanoemulsi dietilkarbamazin tipe air dalam minyak (B). .....	10
<b>Gambar 3.</b> Pelepasan <i>In vitro</i> nanoemulsi DEC tipe air dalam minyak dan larutan kontrol.....	10
<b>Gambar 4.</b> <i>Ex vivo</i> retensi DEC di jaringan usus dari nanoemulsi tipe air dalam minyak dan larutan kontrol (A). <i>Ex vivo</i> permeasi DEC di jaringan usus dari nanoemulsi tipe air dalam minyak dan larutan kontrol (B).....	11
<b>Gambar 5.</b> Uji hemolisis formula 3 nanoemulsi DEC tipe air dalam minyak dan larutan kontrol (A) (Rata-rata $\pm$ SD, n = 3). Foto sampel uji hemolisis (B).....	12
<b>Gambar 6.</b> Profil histopatologi jaringan usus tikus setelah pemberian oral air (A), formula blank (B), dan formula DEC (C). Profil histopatologi jaringan lambung tikus setelah pemberian oral air (D), formula blank (E), dan formula DEC (F).....	12



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Formulasi Nanoemulsi .....	17
<b>Lampiran 2.</b> Uji Tipe Emulsi .....	18
<b>Lampiran 3.</b> Uji In Vitro .....	19
<b>Lampiran 4.</b> Uji Ex Vivo Permeasi dan Retensi .....	20
<b>Lampiran 5.</b> Uji Hemolisis .....	21
<b>Lampiran 6.</b> Uji Iritasi dan Histopatologi .....	22
<b>Lampiran 7.</b> Persetujuan Etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan FK-UH.....	23
<b>Lampiran 8.</b> Publikasi Jurnal Formulasi di <i>Journal of the Indian-Chemical Society</i> ..	24



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) mengategorikan filariasis limfatik sebagai salah satu penyakit tropis terabaikan. Padahal lebih dari 120 juta orang di 80 negara di dunia terinfeksi filariasis limfatik dan lebih dari 1 miliar orang berisiko tertular infeksi penyakit ini. Pada tahun 2018, terdapat 10.681 kasus filariasis limfatik yang tersebar di Indonesia (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, 2019). Seseorang yang terkena filariasis limfatik dapat mengalami malformasi permanen pada beberapa bagian tubuh serta menyebabkan disabilitas permanen. Filariasis juga dapat menyerang hewan, seperti sapi, kambing, anjing dan kucing. Pada hewan ternak, filariasis dapat menurunkan produksi susu, daging, wool, serta kemampuan reproduksi. Sementara pada hewan peliharaan, filariasis dapat menyebabkan masalah pada jantung, paru-paru, sistem limfatik, penderitaan, hingga kematian jika tidak diobati (Lee dan Ryu, 2019).

Filariasis merupakan penyakit yang terjadi pada sistem limfatik karena penularan oleh nyamuk yang membawa cacing filarial. Perkembangan klinis filariasis dibagi menjadi 2 fase yaitu fase dini dan fase lanjut. Pada fase lanjut, terdapat kerusakan saluran, kerusakan kelenjar, serta kerusakan katup saluran limfa. Kerusakan sistem limfatik ini berdampak pada penurunan kemampuan sistem limfatik dalam mengalirkan cairan limfa dari kulit dan jaringan ke kelenjar limfa dan menyebabkan limfedema. Kondisi ini diperparah dengan adanya infeksi bakteri dan jamur berulang sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan stadium limfedema yang sebelumnya berupa pembengkakan hilang timbul menjadi pembengkakan tetap (Masrizal, 2012).

Salah satu obat untuk mengobati limfatik filariasis yaitu dietilkarbamazin. Namun, penggunaannya dalam sediaan tablet kurang efektif untuk membunuh cacing filarial dewasa di saluran limfatik karena sifat hidrofilik serta nilai lipofilisitasnya sebesar 0,3 membuat dietilkarbamazin sulit menembus sistem limfatik sedangkan untuk mencapai sistem limfatik diperlukan nilai lipofilisitas di atas 4,7 (Permana *et al.*, 2019). Sebelumnya, telah dikembangkan beberapa metode penghantaran obat ke sistem limfatik. Namun, penggunaan teknik dan instrumen yang canggih mengakibatkan pembuatan sediaan dietilkarbamazin sulit dilakukan di Indonesia. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan sediaan dietilkarbamazin yang mampu mencapai sistem limfatik dengan nilai lipofilisitas yang baik.

Nanoemulsi tipe air dalam minyak mampu memperbaiki penghantaran obat ke jaringan target karena tingginya lipofilisitas minyak sehingga dapat meningkatkan konsentrasi di jaringan target. Selain itu, nanoemulsi ini dibuat dengan bahan-bahan yang aman. Nanoemulsi juga telah dilaporkan dapat mempercepat penghantaran dietilkarbamazin ke sistem limfatik (Khan *et al.*, 2013). Oleh karena itu, dikembangkan formula sediaan dietilkarbamazin tipe air dalam minyak untuk membantu penghantaran obat ke sistem limfatik.



## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang dipaparkan maka rumusan masalah pada penelitian ini yaitu sifat hidrofilik dan nilai lipofilisitas dietilkarbamazin yang rendah menyebabkan kadar obat yang mencapai sistem limfatik rendah sehingga mengurangi efektivitas pengobatan filariasis.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. Mengembangkan formula nanoemulsi dietilkarbamazin tipe air dalam minyak untuk meningkatkan penghantaran dietilkarbamazin mencapai sistem limfa.
2. Melakukan karakterisasi, pengujian *in vitro*, *ex vivo*, iritasi, dan histopatologi dari nanoemulsi yang dihasilkan serta menghubungkan hasil yang diperoleh dengan potensinya untuk mengobati filariasis limfatik.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu berkontribusi dalam meningkatkan kesehatan di masyarakat, serta menjadi solusi utama dari permasalahan sistem penghantaran obat dietilkarbamazin ke sistem limfatik untuk pengobatan penyakit filariasis.

## 1.5 Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, hipotesis dari penelitian ini yaitu pengembangan formulasi nanoemulsi dietilkarbamazin tipe air dalam minyak dapat meningkatkan penargetan dietilkarbamazin ke sistem limfatik sehingga dapat meningkatkan efektivitas pengobatan filariasis.

## 1.6 Tinjauan Pustaka

### 1.6.1 Filariasis Limfatik

Filariasis Limfatik (penyakit filariasis/kaki gajah) merupakan penyebab utama terjadinya kecacatan pada negara tropis dan subtropis. Infeksi yang disebabkan oleh cacing filaria ditularkan melalui nyamuk yang mengarah pada disfungsi limfatik, pembengkakan tungkai, payudara, serta kerusakan pada alat kelamin. Kerusakan ini menyebabkan rasa sakit, cacat, stigma sosial dan ekonomi yang signifikan bagi penderitanya (Dickson *et al.*, 2018).

Perkembangan klinis filariasis secara umum dibagi menjadi 2 fase yaitu fase dini dan fase lanjut. Pada fase dini, terdapat gejala klinis akut karena adanya infeksi cacing dewasa yang bersamaan dengan infeksi bakteri dan jamur. Sedangkan pada fase lanjut, terdapat kerusakan saluran, kerusakan kelenjar, kerusakan katup saluran akan saluran limfa kecil pada kulit. Perkembangan klinis filariasis disebabkan oleh cacing filarial dewasa yang tinggal dalam saluran yang menyebabkan gangguan fungsi sistem limfa, seperti penimbunan cairan limfa, pengangkutan bakteri dari kulit, ketidakmampuan kelenjar limfa kelenjar yang masuk ke dalam kulit, serta adanya infeksi berulang serangan akut berulang (*recurrent acute attack*). Adanya infeksi limfatik berdampak pada penurunan kemampuan sistem limfatik



dalam mengalirkan cairan limfa dari kulit dan jaringan ke kelenjar limfa dan menyebabkan limfedema. Akibatnya, pada penderita limfedema, serangan akut berulang dari bakteri maupun jamur dapat menyebabkan penebalan dan pengerasan kulit, hiperpigmentasi, hiperkeratosis dan meningkatkan pembentukan jaringan ikat (*fibrose tissue formation*). Peningkatan pembentukan jaringan ikat tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan stadium limfedema yang menyebabkan pembengkakan yang sebelumnya hilang timbul menjadi pembengkakan tetap (Masrizal, 2012). Oleh karena itu, dalam terapi pengobatan limfatik filariasis penting untuk memastikan bahwa obat dikirimkan langsung ke dalam sistem limfatik untuk memperoleh terapi yang efektif.

### 1.6.2 Dietilkarbamazin

Dietilkarbamazin adalah salah satu obat lini pertama untuk pengobatan infeksi terhadap parasit *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, dan *Brugia timori* yang merupakan parasit penyebab filariasis karena obat ini memiliki efek terapeutik yang tinggi dan kurangnya toksisitas serius. Dietilkarbamazin merupakan turunan dari piperazin sintetis dan obat ini memiliki sifat hidrofilik (Katzung *et al.*, 2012). Dietilkarbamazin efektif membunuh mikrofilarial maupun cacing filarial dewasa di pembuluh darah (Permana *et al.*, 2019). Mekanisme kerja dietilkarbamazin sebagai antelmintik memiliki dua mekanisme kerja yaitu dengan cara menurunkan aktivitas otot sehingga parasit seakan-akan mengalami paralisis dan menyebabkan perubahan pada permukaan membran mikrofilaria sehingga lebih mudah dihancurkan oleh sistem tubuh (Tjay dan Rahardja, 2002).

### 1.6.3 Nanoemulsi

Emulsi adalah campuran yang tidak stabil dari dua cairan yang tidak saling bercampur secara termodinamika dengan suatu emulgator yang mengikat kedua jenis cairan tersebut (Allen, 2002). Suatu emulsi terdiri dari fase dispersi, medium dispersi, dan komponen ketiga yang diketahui sebagai emulgator. Jika rasio volume fase sangat besar atau sangat kecil, maka fase yang memiliki volume lebih kecil seringkali merupakan fase terdispersi (Shebalt-Othman & Bourgeat-Lami, 2009). Jika fase minyak terdispersi dalam fase air disebut emulsi tipe minyak dalam air (M/A). Sedangkan jika fase air yang terdispersi dalam fase minyak disebut emulsi tipe air dalam minyak (A/M). Emulsi tipe A/M tidak larut dalam air, tidak dapat dicuci dengan air, mengabsorpsi air, occlusive, dan berminyak (Allen, 2002).

Nanoemulsi adalah suatu sistem partikel koloidal dengan ukuran submikron/nano yang bertindak sebagai pembawa suatu molekul obat. Nanoemulsi adalah emulsi yang tidak dapat saling bercampur. Nanoemulsi tipe air dalam minyak adalah emulsi dengan tetesan air kecil yang terdispersi dalam media berminyak atau emulsi lipofilik. Nanoemulsi memiliki ukuran dalam rentang 10 – 100 nm (McClements, 2018). Nanoemulsi tipe air dalam minyak adalah emulsi dengan ukuran globul nanometrik dimana penggunaan emulsi globul terdispersi dalam fase minyak (Aulton dan Taylor, 2017). Emulsi tipe air dalam minyak merupakan sistem yang paling tepat dalam





memperbaiki penghantaran obat ke sistem limfatik karena tingginya lipofilisitas minyak yang digunakan dalam fase minyak sebagai fase luar emulsi. Selain itu, nanoemulsi dapat dibuat dengan metode yang sederhana dibanding sediaan yang telah diteliti sebelumnya. Nanoemulsi merupakan salah satu jenis emulsi yang memiliki ukuran globul mencapai kurang dari 500 nm (Aboofazeli, 2010). Sediaan nanoemulsi juga dapat meningkatkan permeabilitas dan retensi di jaringan target (Jiang *et al.*, 2013). Nanoemulsi juga telah dilaporkan dapat mempercepat absorpsi di sistem limfatik (Khan *et al.*, 2013).



## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Juni – Agustus 2021. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasetika dan Laboratorium Biofarmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

#### 2.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan mengembangkan formula sediaan nanoemulsi dietilkarbamazin untuk meningkatkan penghantaran obat secara sistemik ke sistem limfatik.

#### 2.3 Alat dan Bahan

##### 2.3.1 Alat

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu beker, botol cokelat, cawan porselen, *centrifuge*, erlenmeyer, gelas ukur, kertas perkamen, kompor listrik, *magnetic stirrer*, membran dialisis *Spectra-por*, mikroskop elektron transmisi, pipet tetes, sendok stainless, sendok tanduk, spatel, spektrofotometer FTIR, spektrofotometer UV-Vis, *stopwatch*, termometer, timbangan, *ultra turrax*, vial, viskometer Brookfield, *vortex*, wadah serbuk, dan *water bath*.

##### 2.3.2 Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu aluminium foil, aquadest, dietilkarbamazin, gliserin, kalium karbonat, kalium klorida, magnesium klorida, minyak kelapa murni, minyak zaitun, natrium klorida, PBS (*Phosphate Buffered Saline*), *purified water*, reagen *folin-ciocalteu* (FC) *soy lecithin*, Span® 80, dan Tween® 80.

#### 2.4 Metode

##### 2.4.1 Pembuatan Formula Nanoemulsi

Formula Nanoemulsi dibuat dengan menggunakan metode homogenisasi sederhana. Komposisi formula nanoemulsi yang akan dibuat terdiri dari minyak, aquades, dan emulgator berupa tween® 80 dan span® 80, serta gliserin. Pembuatan nanoemulsi dilakukan dengan metode homogenisasi spontan dilakukan dengan mencampurkan span® 80 ke dalam minyak VCO sebagai fase minyak dan mencampurkan tween® 80, gliserin, dan dietilkarbamazin ke dalam air sebagai fase



fase dipanaskan hingga mencapai suhu 80°C, lalu dicampur ke fase air ke dalam fase minyak sambil di homogenisasi dengan *Turrax* pada 3000 rpm selama 15 menit. Selanjutnya, formula nanoemulsi diuji kestabilannya dengan menggunakan *centrifuge* selama 15 menit. Penggunaan *ultra turrax* dalam pembuatan nanoemulsi dapat meningkatkan ukuran partikel emulsi menjadi lebih kecil (Ulayya *et al.*, 2018). Penelitian yang telah dilakukan oleh Qonita *et al.* (2022), terdapat 6

formula nanoemulsi dengan karakteristik yang baik. Rincian 6 Formula nanoemulsi terdapat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rincian formula nanoemulsi dengan karakteristik baik (Qonita *et al.*, 2022).

Formula	DEC	VCO	Air	Tween 80	Span 80	Gliserin
1	1%	60%	60%	10%	10%	10%
2	1%	60%	60%	12%	8%	10%
3	1%	60%	60%	8%	12%	10%
4	1%	55%	55%	12.5%	12.5%	10%
5	1%	55%	55%	15%	10%	10%
6	1%	55%	55%	10%	15%	10%

### 2.4.2 Uji Tipe Emulsi

Uji tipe emulsi dilakukan dengan metode uji pewarnaan menggunakan Sudan III serta uji konduktivitas. Nanoemulsi tipe air dalam minyak akan berwarna merah pada uji pewarnaan dan lampu mati pada uji konduktivitas. Formula nanoemulsi yang telah dibuat didiamkan terlebih dahulu selama 15 menit, kemudian 5 ml dari formula ditempatkan pada vial kemudian ditambahkan 3-5 tetes Sudan III. Jika larutan berubah warna menjadi merah terwarnai oleh Sudan III maka tipe nanoemulsi yang terbentuk adalah nanoemulsi tipe air dalam minyak (Gurpreet and Singh, 2018).

### 2.4.3 Ukuran Partikel

Ukuran partikel diukur dengan Instrumen Malvern Zetasizer. Untuk mengukur ukuran partikel menggunakan Malvern Zetasizer, pertama-tama sampel formulasi nanoemulsi didispersikan ke dalam air suling dua kali distilasi hingga homogen dan digunakan segera. Selanjutnya, instrumen Malvern Zetasizer diatur pada mode pengukuran ukuran partikel menggunakan *photon correlation spectroscopy* (PCS). Sampel dispersi dimasukkan ke dalam kuvet khusus dan diletakkan pada Malvern Zetasizer yang telah diatur. Pengukuran dilakukan dengan merekam fluktuasi intensitas hamburan cahaya dari partikel yang bergerak secara Brownian. Data yang dihasilkan berupa histogram distribusi lebar garis yang terkait dengan ukuran partikel rata-rata dalam nanometer (nm) (Gurpreet and Singh, 2018).

### 2.4.4 Morfologi Globul Nanoemulsi

Morfologi globul nanoemulsi diidentifikasi dengan menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM). Nanoemulsi yang akan dianalisis dipreparasi dengan meneteskan beberapa tetes sampel nanoemulsi atau suspensi nanopartikel yang



ngan liofilisasi ke dalam akuades. Kemudian, larutan tersebut berlubang (*holey film grid*) dan diimobilisasi. Kelebihan larutan dengan cara menyerapnya menggunakan tisu. Selanjutnya, warnai (*staining*) dengan pewarna yang sesuai. Sampel yang dianalisis dimasukkan ke dalam TEM dan dianalisis pada tegangan berkas elektron ditransmisikan menembus sampel yang berupa si antara berkas elektron dengan sampel akan menghasilkan

elektron yang tidak terhambur (*unscattered*), elektron yang terhambur secara elastis, dan elektron yang terhambur secara tidak elastis. Elektron-elektron tersebut dikendalikan oleh lensa elektromagnetik untuk membentuk citra dengan kontras amplitudo, kontras fasa, difraksi elektron, atau citra bayangan dengan tingkat kegelapan yang bergantung pada kerapatan elektron yang tidak terhambur. Dengan menggunakan mode pencahayaan terang (*bright field*) pada pembesaran tinggi dikombinasikan dengan mode difraksi, ukuran dan bentuk globul nanoemulsi dapat diidentifikasi (Gurpreet and Singh, 2018).

#### 2.4.5 Uji In Vitro

Pelepasan secara in vitro dietilkarbamazin dari nanoemulsi dilakukan dengan menggunakan metode dialisis. Penelitian dilakukan dengan menggunakan obat yang murni dan nanoemulsi yang mengandung DEC (Das *et al.*, 2012). Pengujian In Vitro dilakukan dengan memodifikasi botol Duran yang diisi PBS sebagai media pelepasan yang ditaruh diatas *shaker* dan ditempatkan di suhu 37°C. Suhu 37°C adalah suhu uji "standar" yang diterapkan di banyak metode uji in vitro (Tietz and Klein, 2019). Sejumlah formula yang mengandung DEC 10 µg/ml ditempatkan pada membran dialisis, kemudian ditempatkan pada botol duran berisi 100 ml media PBS dengan kecepatan *shaker* 50 rpm. Setiap menit ke-15, 30, 45, jam ke-1, jam ke-8 dan jam ke-24, media PBS yang terdapat dalam duran akan dicuplik sebanyak 1 ml dan diganti dengan media PBS yang baru. Lalu kadar DEC dalam media diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Uji ini bertujuan untuk mengetahui secara in vitro pelepasan zat aktif formula obat dari bentuk sediaan menjadi bentuk terlarut (Gurpreet and Singh, 2018).

#### 2.4.6 Uji Ex Vivo

Uji *ex vivo* digunakan untuk mengetahui kemampuan permeasi dari formula nanoemulsi air dalam minyak. Permeasi dari formulasi nanoemulsi diuji menggunakan mukosa usus kelinci dewasa. Mukosa usus kelinci dipotong secara longitudinal untuk menghilangkan jaringan asing dan dibilas dengan *buffer fosfat saline* (PBS) 0,9 % untuk menghilangkan lendir dan isi usus. Uji permeasi *ex vivo* dilakukan di difusi Franz cell (Sanchez *et al.*, 2019). Jaringan tersebut dipasang di antara kompartemen donor dan kompartemen reseptor difusi *Franz cell* dengan permukaan mukosa menghadap kompartemen donor. Formulasi sebanyak 10 µg/ml ditempatkan di kompartemen donor, sedangkan kompartemen reseptor diisi dengan PBS. Isi kompartemen reseptor diaduk menggunakan pengaduk magnet pada 100 rpm. Aliquot (bagian sampel) sebanyak 2 ml diambil dari kompartemen reseptor pada 0,25 h, 0,5 h, 0,75 h, 1,2,3,4,5,6,7,8 h dan diganti dengan volume sama. Sampel ini dianalisis menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dilakukan selama 8 jam (Anchan dan Koland, 2021).



dilakukan dengan menggunakan darah tikus. Sampel darah 10 menit untuk memisahkan plasma, *buffy coat* dan eritrosit.

Eritrosit lalu dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali dan diencerkan dengan PBS hingga konsentrasi akhir 10% v/v, suspensi eritrosit ini ditambahkan pada formula nanoemulsi kemudian diinkubasi selama 60 menit lalu disentrifugasi kembali dan supernatannya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Mir *et al.*, 2020).

#### 2.4.8 Uji Iritasi dan Histopatologi

Uji iritasi oral pada tikus *Rattus norvegicus* jantan dilakukan untuk mengevaluasi iritasi yang disebabkan oleh nanoemulsi yang mengandung DEC. Terdapat 3 tikus yang digunakan dan dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan berbeda. Tikus pertama diberikan sediaan nanoemulsi tipe air dalam minyak yang mengandung dietilkarbamazin, tikus kedua diberikan sediaan emulsi tipe air dalam minyak yang tidak mengandung dietilkarbamazin (blank), dan tikus ketiga diberikan air suling (akuades). Tikus dipuaskan selama 12-14 jam sebelum dimulainya percobaan dengan akses *ad libitum* ke air dan bertempat di ruangan ber-AC (Jorgensen *et al.*,2020). Tikus tersebut berusia 5-6 minggu dan beratnya  $151 \pm 21$  g pada hari penelitian. Sediaan nanoemulsi dengan DEC, emulsi tanpa DEC (blank), dan air suling diberikan secara oral kepada tikus sekali sehari selama 3 hari berturut-turut dengan dosis 6 mg/kg berat badan (Martindale,2009). Enam jam setelah perlakuan terakhir, tikus dieutanasia, hewan dikorbankan secara etis dan intestinum usus serta lambung dipotong dan dibersihkan menggunakan *buffer fosfat saline* 0,9%. Kemudian spesimen segera diawetkan dalam larutan formalin (10% b/b) untuk selanjutnya dilakukan penilaian histopatologi (Hussain *et al.*,2019). Setelah fiksasi, sampel didehidrasi dan dimasukkan ke dalam paraffin kemudian diberi pewarnaan *hematoksilin-eosin* (HE). Preparat histopatologi tersebut kemudian diamati di bawah mikroskop. Uji iritasi jaringan bertujuan untuk mengetahui kemungkinan terjadinya kelainan anatomi dan fisiologis setelah pemberian oral sediaan emulsi dengan DEC dan tanpa DEC dibandingkan dengan kelompok yang diberikan air suling dan tidak diberi perlakuan (hanya diberi pewarna).

#### 2.4.9 Analisis Data

Perhitungan mean, SD, RSD, dan RE dihitung menggunakan Microsoft® Excel® 2021 (Microsoft Corporation, Redmond, USA). Data yang ditampilkan berdasarkan mean $\pm$ SD. Semua grafik dari data yang diperoleh diolah menggunakan GraphPad Prism® versi 7 (GraphPad Software, San Diego, California, USA). Perbedaan spesifik dalam data dianalisis menggunakan IBM® SPSS® Statistics 25.0 (IBM, Armonk, New York, USA).

