

Formulation and evaluation of SNEDDS (Self Nano-emulsifying Drug Delivery System) of papaya leaf extracts (*Carica papaya L.*) as an analgesic

Formulasi dan evaluasi SNEDDS (*Self Nanoemulsifying Drug Delivery System*) ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) sebagai analgesik

Bambang Hernawan Nugroho*, Shesanthi Citrariana, Ita Nurma Sari, Reny Nadya Oktari, Munawwarah

Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Islam Indonesia

*Corresponding author. Email: bambang.hernawan@uui.ac.id

Abstract

Background: SNEDDS was chosen because of the ability to increase the absorption of drugs with low water solubility such as active substances derived from plant extraction.

Objectives: This study aimed to create an innovative dosage by utilizing new drug delivery systems in the form of SNEDDS (Self Nano-emulsifying Drug Delivery System) using the active substances of papaya leaf extract (*Carica Papaya L.*) that is efficacious as an anti-inflammatory.

Methods: SNEDDS of Papaya (*Carica papaya* extract L.) was prepared through the high-energy method. Dried papaya leaves were macerated using 96% ethanol, and the extract was then evaporated using a rotary evaporator to obtain viscous extract. Four formulations of SNEDDS were produced with isopropyl myristate as the oil phase, PEG 400 as the surfactant, and tween 80 as the co-surfactant. The evaluation included particle size, % transmittance, and freeze-thaw cycles. In vivo SNEDDS anti-inflammatory activity was tested in balb-c mice induced with 1% acetic acid and then compared with mefenamic acid (NSAIDs).

Results: The test results showed that all of the formulations had a particle size of <200nm and >90% transmittance. The SNEDDS anti-inflammatory activity test in vivo indicated that the percent inhibition of pain in SNEDDS of papaya leaf extract reached 94.55%.

Conclusion: The SNEDDS formula of papaya leaf extract marked by F4 could fulfill the criteria of good stability parameters with the smallest particle size of 77.1 nm. The percent of pain inhibition of SNEDDS papaya leaf extract in balb-c mice induced by acetic acid was 94.55%.

Keywords: SNEDDS, *Carica Papaya L.*, analgesic

Intisari

Latar belakang: SNEDDS dipilih karena dapat meningkatkan absorpsi obat yang memiliki kelarutan rendah didalam air seperti zat aktif yang berasal dari ekstrak tanaman.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk membuat suatu inovasi sediaan obat dengan memanfaatkan sistem penghantaran obat baru yang berupa *Self Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) menggunakan zat aktif ekstrak daun pepaya (*Carica Papaya L.*) yang berkhasiat sebagai analgesik.

Metode: SNEDDS ekstrak daun pepaya (*Carica Papaya L.*) dibuat dengan metode high energy. ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi daun yang telah dikeringkan menggunakan etanol 96% kemudian ekstrak diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak pekat dan ditambahkan kedalam formulasi. Sediaan SNEDDS dibuat 4 formula dengan fase minyak isopropil miristat, surfaktan PEG 400, dan kosurfaktan tween 80 menggunakan teknik *high energy*. Evaluasi terhadap sediaan berupa ukuran partikel, persen transmittan, dan *freeze thawing*. Formulasi SNEDDS yang memiliki kesesuaian parameter evaluasi akan dilakukan pengujian terhadap aktivitas analgesiknya secara in vivo menggunakan mencit galur balb-c yang diinduksi asam asetat 1% kemudian hasil uji dibandingkan dengan aktivitas analgesik asam mefenamat

Hasil: Hasil uji memperlihatkan bahwa semua formula memiliki ukuran partikel <200nm dan persen

transmitan >90%. Hasil uji aktivitas analgesik SNEDDS secara *in-vivo* menunjukkan bahwa persen inhibisi nyeri rata-rata SNEDDS ekstrak daun pepaya adalah 94,55%.

Kesimpulan: Formula SNEDDS ekstrak daun pepaya dari F4 memenuhi parameter stabilitas yang baik dengan ukuran partikel yang paling kecil yaitu 77,1 nm. Persen inhibisi nyeri dari SNEDDS ekstrak daun pepaya pada mencit galur balb-c yang diinduksi asam asetat adalah 94,55%.

Kata kunci : SNEDDS, Carica Papaya L., analgesik

1. Pendahuluan

Inflamasi merupakan peradangan yang berasal dari reaksi cedera dan terjadi karena adanya invasi yang berkaitan dengan pembengkakan serta rasa sakit. Prostaglandin merupakan mediator utama pada proses terjadinya peradangan, mediator ini muncul dan menyebabkan beberapa reaksi seperti vasodilatasi, edema, kemerahan, dan nyeri (Barkley, 2014). Terapi yang sering digunakan dalam mengatasi inflamasi adalah NSAID (Non Steroid Anti-Inflammation Drugs) seperti asetosal, asam mefenamat, natrium diklofenak (Meliala & Pinzon, 2007). Namun, penggunaan NSAID dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan beberapa efek samping seperti efek kardiovaskular (Badan POM RI, 2013) dan gastrointestinal (Waranugraha, *et al.*, 2010).

Daun pepaya (*Carica papaya L.*) telah banyak diuji secara praklinik memiliki aktivitas analgesik karena mengandung senyawa flavonoid yang dapat menghambat enzim siklooksigenase pada proses pembentukan prostagladin (Mikaili, *et al.*, 2012). Daun pepaya dipilih karena mengandung *Total Flavonoid Content* yang lebih tinggi dibandingkan buah dan bijinya (Yusha'u, M., dkk., 2009). Flavonoid selain berfungsi sebagai analgesik juga berperan dalam proteksi terhadap penyakit kardiovaskular dan perubahan gastrointestinal karena aktivitasnya sebagai antioksidan (Cano & Castell, 2016). Penelitian terdahulu menggunakan ekstrak daun pepaya sebagai analgesik, namun memerlukan dosis yang cukup besar untuk menghasilkan efek yang optimal (Afrianti, *et al.*, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan sebuah sediaan baru dari ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L.*) berupa SNEEDS yang memanfaatkan sistem nano-partikel untuk dapat meningkatkan absorpsi dan ketersediaan hayati obat di dalam tubuh terutama untuk obat-obat yang memiliki kelarutan rendah di dalam air (Nasr, *et al.*, 2016). Senyawa bahan alam memiliki kelarutan rendah dalam air karena proses ekstraksinya menggunakan pelarut organik yang cenderung non-polar seperti heksan, kloroform, dan etanol. Dengan meningkatkan absorpsi dan ketersediaan hayati dari obat maka dapat pula meningkatkan efektifitas terapinya (Zhang, *et al.*, 2011).

2. Metode penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Particle Size Analyzer* (Horiba SZ 100Z), *Probe Ultrasonic* (Biologics) dan spektrofotometer UV-Vis U-2810 (Hitachi).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isopropyl miristat, asam asetat, etanol 96% (Merk p.a), Na CMC (Colorcon), tween 80, propilen glikol, asam mefenamat (Bratachem)

2.1. Pembuatan ekstrak daun pepaya

Daun pepaya segar yang diperoleh dari perkebunan pepaya Jalan Kaliurang km 12, Sleman, Yogyakarta pada bulan Mei-Juni 2016. Ditimbang sebanyak 3 kg dicuci dan dikeringkan dengan oven selama 24 jam, kemudian diserbuk menggunakan blender. Simplisia serbuk kemudian dimaserasi menggunakan etanol 96% selama 24 jam. Hasil maserasi kemudian di *rotary evaporator* dan dikeringkan pada *waterbath* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak daun pepaya yang kental.

2.2. Formulasi SNEDDS ekstrak daun pepaya

Ekstrak kental daun pepaya dilarutkan dalam propilen glikol, kemudian ditambahkan *isopropyl myrystate*, diaduk selama 15 menit. Dicampurkan PEG 400 dan Tween 80 diaduk selama 10 menit. Ekstrak daun pepaya pada fase minyak kemudian dicampurkan pada larutan surfaktan dan kosurfaktan dengan pengadukan menggunakan ultrasonik selama 2 menit dengan intensitas energi 40%.

Table 1. Formulasi SNEEDS ekstrak daun pepaya (Singh, *et al.*, 2010)

Bahan	F1	F2	F3	F4
Isopropil miristat (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5
Propilen glikol (ml)	1	1	1	1
PEG 400 (ml)	2	2,5	3	3,5
Tween 80 (ml)	2	1,5	1	0,5
Ekstrak Daun Pepaya (mg)	150	150	150	150

2.3. Uji ukuran partikel dan persen transmitan SNEDDS ekstrak daun pepaya

SNEDDS ekstrak daun pepaya didispersikan dalam akuabides dengan perbandingan 1:250, kemudian larutan nanoemulsi hasil dispersi dibaca ukuran partikelnya pada *Particle Size Analyzer* (PSA). Persen transmitan dievaluasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 650 nm.

2.4. Uji stabilitas SNEDDS ekstrak daun pepaya

Uji stabilitas SNEDDS dilakukan menggunakan metode *freeze thawing*. Seluruh formula dari SNEDDS ekstrak daun pepaya diambil sebanyak 5,5 ml diletakan pada flakon dan disimpan pada

suhu -4°C selama 24 jam, kemudian disimpan lagi pada suhu ruang selama 24 jam, dan pada suhu 40°C selama 24 jam kemudian SNEDDS disentrifugasi 4000 rpm selama 5 menit selama 4 minggu.

2.5. Uji aktivitas analgesik SNEDDS ekstrak daun pepaya

Aktivitas analgesik SNEDDS ekstrak daun pepaya dilakukan menggunakan hewan uji berupa mencit balb-c. Protokol percobaan telah disetujui oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran dan Kesehatan Universitas Islam Indonesia no 2/A/IV/16. Hewan percobaan diperoleh dari laboratorium farmakologi Universitas Islam Indonesia. Hewan uji diaklimatisasi selama 1 minggu, kemudian dipuaskan selama 8 jam disertai dengan pemberian minum sebelum dilakukan pengujian. Hewan uji dibagi menjadi 3 kelompok secara acak dan setiap kelompoknya sebanyak 3 ekor mencit yang terdiri dari:

- 1) Kelompok 1: kelompok mencit diberikan suspensi Na.CMC 0,5%, lalu diberi asam asetat 1% secara i.p sebanyak 10 ml/kg BB.
- 2) Kelompok 2: kelompok mencit yang diberi SNEDDS ekstrak daun pepaya dosis 80 mg/kg BB mencit lalu diberi asam asetat 1% secara i.p sebanyak 10 ml/kgBB.
- 3) Kelompok 3: kelompok mencit yang diberi asam mefenamat dosis 65 mg/kg BB lalu diberi asam asetat 1% secara i.p sebanyak 10 ml/kg BB.

Setelah 30 menit kemudian kepada semua kelompok, dihitung jumlah geliat mencit yang terjadi setiap 5 menit selama 1 jam. Kekuatan aktivitas analgetik dihitung berdasarkan kemampuan hambatan sampel terhadap penurunan geliat hewan percobaan (% inhibisi nyeri). Persen inhibisi nyeri diperoleh menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi nyeri} = \frac{G_n - G_s}{G_s} \times 100 \%$$

Keterangan : Gn : Geliat kontrol negatif
Gs : Geliat setelah pemberian SNEDDS/analgesik

3. Hasil dan pembahasan

3.1. Hasil uji ukuran partikel dan persen transmitan

Hasil pengujian ukuran partikel menunjukkan bahwa F4 memiliki ukuran partikel yang paling kecil <100 nm yakni 77,1 nm sedangkan F2 memiliki transmitan yang paling tinggi yaitu 98,010%. Ukuran partikel nanoemulsi yang baik berada pada kisaran 20-200 nm, semakin kecil ukuran partikel dari suatu zat aktif pada sediaan SNEDDS akan semakin meningkatkan stabilitas dan persebarannya dalam media disolusi (Mou, *et al.*, 2008; Porter, *et al.*, 2008). Hal ini terlihat pada F4 yang memiliki nilai polidispersi indeks yang lebih kecil yaitu 0,416 dibandingkan dengan formula

lainnya. Persen transmitan menunjukkan kejernihan dari larutan SNEDDS yang telah didispersikan sehingga ketika diberikan sinar maka larutan SNEDDS akan meneruskan sinar tersebut. Parameter dari persen transmitan yang baik yakni >90% (Abdalla, *et al.*, 2008). Semua formula SNEDDS ekstrak daun pepaya menunjukkan nilai persen transmitan yang baik sehingga ketika terdispersi pada mediumnya akan membentuk suatu larutan yang jernih.

Table 2. Hasil Uji Ukuran Partikel dan Persen Transmitan

Formula	Ukuran Partikel (nm)	Indeks Polidispersitas	% Transmitan
F1	132,8	0,568	95,732
F2	139,3	0,580	98,010
F3	115,0	0,569	97,949
F4	77,1	0,416	94,492

3.2. Hasil Uji Stabilitas SNEDDS Ekstrak Daun Pepaya

Uji stabilitas dari SNEDDS dilakukan menggunakan metode *freeze-thawing* dengan melihat pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap pemisahan fase nanoemulsi yang terjadi. Hasil uji menunjukkan bahwa F1, F2, dan F3 tidak stabil karena mengalami pemisahan fase setelah pengujian, sedangkan untuk F4 tidak mengalami pemisahan fase setelah pengujian. Pemisahan fase ini dipengaruhi oleh kemampuan surfaktan dan kosurfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan emulsi antara fase minyak dan fase air. Semakin besar kemampuan surfaktan dan kosurfaktan dalam mengurangi tegangan antarmuka maka akan semakin membentuk nanoemulsi yang stabil (Villar, *et al.*, 2012). Proses penurunan tegangan permukaan membantu menghasilkan ukuran globul emulsi yang terbentuk, penggunaan kosurfaktan dapat meningkatkan kinerja surfaktan dalam upaya penurunan tegangan permukaan yang pada akhirnya akan memperkecil ukuran globul dari emulsi yang dihasilkan.

3.3. Uji aktivitas analgesik SNEDDS ekstrak daun pepaya

Pengujian analgesik menunjukkan bahwa jumlah geliat mencit kontrol negatif selama 60 menit adalah 235 kali, 200 kali, dan 177 kali sedangkan mencit yang diberikan SNEDDS ekstrak daun pepaya memiliki jumlah geliat selama 60 menit sebanyak 5 kali, 16 kali, dan 11 kali. Untuk mencit yang diberikan asam mefenamat tidak memperlihatkan adanya geliat.

Tabel 3. Jumlah geliat mencit

Kelompok	Mencit 1	Mencit 2	Mencit 3
Kelompok 1	235	200	177
Kelompok 2	5	16	11
Kelompok 3	0	0	0

Keterangan

Kelompok 1 : suspensi Na.CMC 0,5%

Kelompok 2 : SNEDDS ekstrak daun pepaya 80 mg/kgBB mencit

Kelompok 3 : asam mefenamat dosis 65 mg/kg BB

Hasil jumlah geliat selama 60 menit yang telah diperoleh dari masing-masing kelompok selanjutnya digunakan untuk menghitung % inhibisi nyeri dari SNEDDS ekstrak daun pepaya dan dibandingkan dengan kontrol positif yang menggunakan asam mefenamat. Hasil menunjukkan % inhibisi nyeri dari SNEDDS ekstrak daun pepaya rata-rata yaitu sebesar $94,55\% \pm 3,09$ sedangkan % inhibisi nyeri rata-rata asam mefenamat adalah $100\% \pm 0,00$.

Tabel 4. Aktivitas analgesik SNEDDS Ekstrak Daun Pepaya

Kelompok	% inhibisi nyeri	SD
Kelompok 2	94,55%	3,09
Kelompok 3	100%	0,00

Keterangan

Kelompok 1 : suspense Na.CMC 0,5%

Kelompok 2 : SNEDDS ekstrak daun pepaya 80 mg/kgBB mencit

Kelompok 3 : asam mefenamat dosis 65 mg/kg BB

Berdasarkan Tabel 4 diketahui bahwa SNEDDS ekstrak daun pepaya dengan dosis 80 mg/kgBB mencit memiliki aktivitas analgesik yang sangat poten dibanding dengan penelitian sebelumnya yang hanya menggunakan ekstrak daun pepaya saja tanpa dibuat dalam sediaan SNEDDS dengan dosis 100mg/kgBB menghasilkan % inhibisi nyeri sebesar 27,70% sedangkan efek analgesik yang optimal didapatkan pada dosis 600mg/kgBB mencit yaitu sebesar 85,10% (Afrianti, et al., 2014). Sehingga sistem penghantaran melalui sediaan SNEDDS dapat meningkatkan efektivitas dari ekstrak daun pepaya sebagai analgesik karena mampu meningkatkan absorpsinya pada saluran cerna dengan mekanisme pembentukan misel. Misel yang terbentuk dari tetesan droplet pada SNEDDS. Selain meningkatkan absorpsi dan kelarutan zat aktif juga dapat menjaga zat aktif dari adanya *first pass metabolism*. Namun, % inhibisi nyeri SNEDDS ekstrak daun pepaya masih lebih rendah dibandingkan dengan asam mefenamat dosis 65 mg/kg BB mencit.

4. Kesimpulan

Formula SNEDDS ekstrak daun pepaya yang memenuhi parameter stabilitas yang baik dan ukuran partikel yang paling kecil 77,1 nm adalah F4. Sedangkan F1, F2, dan F3 hanya memenuhi parameter ukuran partikel dan persen transmittan yang baik namun memiliki kestabilan yang tidak

cukup baik. Persen inhibisi nyeri dari SNEDDS ekstrak daun pepaya pada mencit galur balb-c yang diinduksi asam asetat adalah 94,55%.

Ucapan terima kasih

Terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Indonesia dan Universitas Islam Indonesia.

Daftar pustaka

- Abdalla, A., Klein, S., & Mäder, K., 2008. A new self-emulsifying drug delivery system (SNEDDS) for poorly soluble drugs: characterization, dissolution, in vitro digestion and incorporation into solid pellets. *Eur. J. Pharm. Sci.* (35). 457–464.
- Afrianti, R., Yenti, R., & Meustika, D. (2014). Uji aktifitas analgetik ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) pada mencit putih jantan yang di induksi asam asetat 1%. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis.* 1(1), 54-60.
- Alyn, W.J., 1999. Invitation to Organic Chemistry. Jones & Bartlett Learning. p. 283.
- Badan POM RI. 2013. Obat Anti-inflamasi Non-Steroid Dan Resiko Efek Samping Kardiovaskular. *Buletin Berita MESO.* 31(1):5.
- Barkley, T.W., 2014. Advanced Pharmacology Drugs for Inflammation, California State University, Los Angeles.
- Cano, FJP., Castell, M., 2016. Flavonoids, Inflammation and Immune System. *MDPI Nutrient Journal.* 8(1):1-4.
- Hong, J. Y., Kim, J. K., Song, Y. K., Park, J. S., & Kim, C. K. 2006. A new self-emulsifying formulation of itraconazole with improved dissolution and oral absorption. *J.Control. Release.* (110). 332–338.
- Kohli, K., Chopra, S., Dhar, D., Arora, S., & Khar, R. K., 2010. Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bioavailability. *Drug Discov.* (15). 958–965.
- Villar, A. M. S., Naveros, B. C., Campmany, A. C. C., Trenchs, M. A., Rocabert, C. B., & Bellowa, L. H. 2012. Design and optimization of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for enhanced dissolution of gemfibrozil. *International Journal of Pharmaceutics.* (431). 161-175.
- Meliala, L., Pinzon, R., 2007. Breakthrough in Management of Acute Pain. *Dexa Media.* 20(4):151-155.
- Mikaili, P., Sharifi, M., Sarahroodi, S., & Shayegh, J. 2012. Pharmacological review of medicinal trees spontaneous in Iran: A historical and modern study. *Advances in Environmental Biology.* 6(1): 165-175.
- Mou, D., Chen, H., Du, D., Mao, C., Wan, J., Xu, H., & Yang, X, (2008). Hydrogel-thickened nanoemulsion system for topical delivery of lipophilic drugs. *Int. J. Pharm.* (353). 270–276.
- Nasr, A., Gardouh, A., & Ghorab, M. (2016). Novel Solid Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (S-SNEDDS) for Oral Delivery of Olmesartan Medoxomil: Design, Formulation, Pharmacokinetic and Bioavailability Evaluation. *MDPI Pharmaceutics Journal.* 8(20):1-29.
- Porter, C.J.H., Pouton, C.W., Cuine, J. F., & Charman, W. N (2008). Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.* (60). 673–691.
- Singh, S.K., Verma, P.R.P., *et al.*, (2010). Development and characterization of a lovastatin loaded self-microemulsifying drug delivery system. *Pharm. Dev. Technol.* (15). 469–483.
- Villar, A. M. S., Naveros, B. C., Campmany, A. C. C., Trenchs, M. A., Rocabert, C. B., & Bellowa, L. H. (2012). Design and optimization of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS)

for enhanced dissolution of gemfibrozil. *International journal of pharmaceuticals*, 431(1-2), 161-175.

- Waranugraha, Y., Suryana, P., & Pratomo, B. (2010). Hubungan Pola Penggunaan OAINS dengan Gejala Klinis Gastropati pada Pasien Reumatik. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. **26**(2):107-112.
- Yusha'u, M., Onuorah, F. C., & Murtala, Y. (2009). In-Vitro Sensitivity Pattern of Some Urinary Tract Isolates to Carica Papaya Extracts. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*. **2**(2):75-78.
- Zhang, J., Peng, Q., Shi, S., Zhang, Q., Sun, X., Gong, T., & Zhang, Z. (2011). Preparation, Characterization, and In Vivo Evaluation of A Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Loaded With Morin-Phospholipid Complex. *International Journal of Nanomedicine*. **6**(1):3405-3414.