

SKRIPSI

**EFEKTIVITAS NIOSOM ASAM URSOLAT DENGAN
PELAPISAN KITOSAN UNTUK PENCEGAHAN
KERUSAKAN HATI PADA MENCIT YANG DIINDUKSI
N-NITROSODIETHYLAMINE**



AMELIA ANNEKE FARADISA

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN ILMU KEFARMASIAN
SURABAYA**

2022

Lembar Pengesahan

**Efektivitas Niosom Asam Ursolat Dengan Pelapisan Kitosan
Untuk Pencegahan Kerusakan Hati Pada Mencit Yang
Diinduksi N-Nitrosodiethylamine**

SKRIPSI

**Dibuat untuk Memenuhi Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
2022**

Oleh:

**AMELIA ANNEKE FARADISA
NIM. 051811133039**

**Skripsi ini telah disetujui
tanggal 16 Agustus 2022
oleh:**

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,


apt. Andang Miatmoko, M.Pharm.Sci., Ph.D
NIP.1985100220081210001


Prof. Dra.apt. Esti Hendradi, M.Si., Ph.D.
NIP. 195711141987032001

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Amelia Anneke Faradisa

NIM : 051811133039

adalah mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa saya tidak melakukan tindakan/kegiatan plagiasi dalam menyusun Naskah Tugas Akhir/Skripsi dengan judul:

Efektivitas Niosom Asam Ursolat dengan Pelapisan Kitosan untuk Pencegahan Kerusakan Hati pada Mencit yang Diinduksi N-Nitrosodiethylamine

Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan/atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana semestinya.

Surabaya, 14 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan,



Amelia Anneke Faradisa
NIM. 051811133039

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Amelia Anneke Faradisa

NIM : 051811133039

Menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Efektivitas Niosom Asam Ursolat dengan Pelapisan Kitosan untuk Pencegahan Kerusakan Hati pada Mencit yang Diinduksi N-Nitrosodiethylamine

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang – Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana semestinya.

Surabaya, 14 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan,



Amelia Anneke Faradisa
NIM. 051811133039

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. Karena atas segala berkah, rahmat, dan nikmatnya, penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul **“EFEKTIVITAS NIOSOM ASAM URSOLAT DENGAN PELAPISAN KITOSAN UNTUK PENCEGAHAN KERUSAKAN HATI PADA MENCIT YANG DIINDUKSI N-NITROSODIETHYLAMINE”** ini dengan sebaik – baiknya.

Dalam penyusunannya penulis mendapatkan banyak bimbingan serta dorongan penuh cinta dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan kali ini penulis ingin mengucapkan terimakasih yang setulus – tulusnya dan sedalam-dalamnya kepada :

1. apt. Andang Miatmoko, Ph.D. selaku dosen pembimbing utama yang senantiasa meluangkan waktunya untuk membimbing dengan sabar, penuh perhatian, memberikan nasihat serta motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Prof. Dra.apt. Esti Hendradi, M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing serta yang senantiasa memberikan bimbingan, dukungan, motivasi, dan berbagai pengalaman baru kepada penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
3. Prof. Dr. apt. Retno Sari, M.Sc. dan Dr. apt. Noorma Rosita, MSi selaku dosen penguji yang telah memberi arahan dan masukan mengenai perbaikan skripsi ini.
4. apt. Bambang Subakti Zulkarnain S.Si., M.Clin.Pharm selaku dosen wali yang selalu memberikan bimbingan, nasihat, motivasi dan bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan pendidikan di Farmasi.
5. Prof. Junaidi Khotib, S.Si, M.Kes., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh pendidikan program sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
6. Prof. Dr. M. Nasih, S.E., MT., Ak., CMA., selaku rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas kepada penulis selama mengikuti program sarjana dan selama melakukan penelitian ini.
7. Bapak Anang Fatoni dan Ibu Ike Widiyanti selaku orang tua penulis, M. Muhtadin dan Inayah Arthamevia selaku adik penulis serta keluarga besar penulis yang selalu

memberikan doa, dukungan, bimbingan, dan motivasi untuk penulis sehingga dapat menyelesaikan perkuliahan ini dengan baik

8. Mbak Devy Maulidya dan Berlian yang telah banyak memberikan bantuan, masukan, motivasi, dan tempat berbagi keluh kesah selama pengerjaan penelitian ini.
9. Bapak Dwi, Bu Nawang, Pak Iwan, dan Mas Eko yang telah banyak membantu peneliti dalam mengerjakan penelitian di laboratorium.
10. Teman seperjuangan skripsi Nio Lipo 2022 (Jauhar, Syarifah, Kevin, Earline, Clarissa) serta teman-teman skripsi di KBK Farmasetika dan Farmasi Klinis yang selalu memberikan dukungan, bantuan dan kerjasama dalam menyelesaikan penelitian ini.
11. Hanie Salim, Rimawati, Alfina Fikri, Rosida Tsani, Faizah Maulida dan beberapa sahabat seperjuangan saya yang telah menemani suka duka selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
12. Dyna Mellania, Nadya Eka, Yohana Putri, Kirana Islamaya, dan Ni'matul Maullah, serta teman-teman Supermassive yang senantiasa menghibur, memberikan semangat dan dukungan kepada penulis.
13. Teman – teman kelas C 2018 yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah menemani selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
14. Serta semua pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini

Akhir kata penulis panjatkan doa kehadirat Allah SWT semoga ilmu dan pengalaman baru yang telah penulis peroleh dalam proses pengerjaan skripsi ini dapat bermanfaat bagi diri sendiri dan juga orang lain. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dalam bidang kefarmasian.

Penulis

RINGKASAN

EFEKTIVITAS NIOSOM ASAM URSOLAT DENGAN PELAPISAN KITOSAN UNTUK PENCEGAHAN KERUSAKAN HATI PADA MENCIT YANG DIINDUKSI N-NITROSODIETHYLAMINE

Amelia Anneke Faradisa

Asam ursolat (AU) merupakan asam karboksilat triterpen pentasiklik yang memiliki berbagai aktivitas farmakologi antara lain sebagai antikanker, hepatoprotektif, antiangiogenesis, induksi apoptosis, antioksidan dan antiinflamasi. Namun, penggunaan AU secara peroral memiliki keterbatasan sebab AU termasuk golongan senyawa BCS (*Biopharmaceutics Classification System*) kelas IV yakni senyawa yang memiliki kelarutan dan permeabilitas yang buruk sehingga diperlukan sistem penghantaran obat yang dapat meningkatkan kelarutan dan disolusi senyawa tersebut. Niosom adalah sistem vesikular bilayer yang tersusun dari surfaktan non ionik dan kolesterol dalam fasa air. Penelitian sebelumnya telah membuktikan penggunaan niosom dapat meningkatkan bioavailabilitas obat yang termasuk golongan BCS kelas IV. Pelapisan kitosan diketahui dapat membuka *tight junction* pada sel epitel dan memungkinkan transport obat dengan mudah melalui jalur paraseluler dan juga memiliki sifat *mucoadhesive* sehingga memberi pelepasan dan penyerapan yang terkontrol di saluran cerna.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas niosom asam ursolat dengan pelapisan kitosan sebagai pencegahan kerusakan hati pada model mencit yang diinduksi *N-Nitrosodiethylamine* ditinjau dari parameter kadar SGOT dan SGPT serta histopatologi hati. Untuk membuat model kerusakan hati digunakan senyawa *N-Nitrosodiethylamine* dengan dosis 25 mg/kgBB yang diberikan secara intraperitoneal seminggu sekali sebanyak 4 kali.

Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal, kontrol negatif, suspensi AU, niosom asam ursolat (Nio-AU), dan niosom asam ursolat dengan pelapisan kitosan (Nio-AU-CS). Kelompok normal dan kontrol negatif diberikan PBS pH 7,4 dan kelompok yang lain diberikan sediaan dengan dosis setara 11 mg AU / kgBB secara per oral pada tujuh dan tiga hari sebelum induksi NDEA kemudian dilanjutkan seminggu sekali bersamaan dengan induksi NDEA pada dosis 25 mg/kgBB intraperitoneal hingga 4 minggu berikutnya. Kemudian pada minggu ke-5 dilakukan

pembedahan untuk diambil darah dan organ hati, limpa, jantung, paru-paru serta ginjal. Selanjutnya untuk sampel darah dilakukan analisis uji kadar SGOT dan SGPT dan sampel organ hati dilakukan uji histopatologi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelapisan kitosan pada Nio-AU (Nio-AU-CS) menunjukkan peningkatan ukuran partikel dari $211,7 \pm 1,7$ nm menjadi $257,4 \pm 4,3$ nm. Selain itu, juga terjadi peningkatan PDI dari $0,337 \pm 0,018$ menjadi $0,393 \pm 0,021$. Pada parameter ζ -potensial, pelapisan kitosan juga dapat mengubah muatan dari niosom AU yang awalnya $-26,6 \pm 0,2$ mV menjadi $-24,1 \pm 0,4$ mV. Hasil pengamatan evaluasi induksi NDEA menunjukkan kelompok kontrol negatif menghasilkan selisih berat badan paling rendah walau tidak signifikan. Selain itu, terdapat penurunan rata-rata berat relatif organ liver. Penurunan berat liver mungkin disebabkan karena adanya degenerasi hati akibat induksi NDEA. Pada penelitian ini, mencit yang diinduksi NDEA tidak menunjukkan perbedaan berat limpa relatif dibandingkan dengan kelompok normal.

Hasil pengukuran kadar SGOT dan SGPT dalam serum pada kelompok kontrol negatif (masing-masing sebesar $217,25 \pm 73,86$ U/L dan $79,25 \pm 32,66$ U/L) lebih tinggi dibanding kelompok normal ($160 \pm 34,01$ U/L dan $46,75 \pm 7,27$ U/L). Hal ini menandakan pemberian induksi NDEA 25 mg/kgBB sebanyak 4 kali pada kelompok kontrol negatif dapat menimbulkan kerusakan hati yang ditandai dengan meningkatnya kadar SGOT dan SGPT dalam serum darah. Selain itu, pada uji kadar SGOT didapatkan penurunan kadar yang signifikan pada kelompok Nio-AU ($114,25 \pm 17,11$ U/L) dan Nio-AU-CS ($87,75 \pm 14,52$ U/L) dibandingkan kontrol negatif ($217,25 \pm 73,86$ U/L). Pada uji SGPT juga didapatkan penurunan kadar pada kelompok Nio-AU ($35,35 \pm 9,43$ U/L) dan Nio-AU-CS ($38,25 \pm 13,94$ U/L) dibandingkan kontrol negatif ($79,25 \pm 32,66$ U/L). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian Nio-AU dan Nio-AU-CS telah mampu memberikan efek hepatoprotektif dengan menurunkan pelepasan SGOT dan SGPT ke dalam darah dibanding suspensi AU ($284,00 \pm 41,13$ U/L dan $103,25 \pm 37,19$ U/L). Diketahui bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada kadar SGOT dan SGPT antara kelompok suspensi AU dibanding kelompok kontrol negatif. Hal ini dimungkinkan terjadi karena pemberian AU pada dosis sebesar 11 mg/kgBB kurang efektif jika diberikan dalam bentuk suspensi. Dengan penggunaan niosom, hal ini dapat mengatasi masalah kelarutan obat yang rendah dalam air dan menurunkan dosis obat yang dibutuhkan.

Pada uji histopatologi, kelompok kontrol negatif yang mendapat induksi NDEA terlihat mulai ada kerusakan jaringan hati ditandai adanya inti hiperkromatin, ukuran inti

membesar dan pleomorfisme yang mengarah pada perkembangan kanker hati namun masih berada pada tahapan inisiasi. Pada kelompok suspensi AU terlihat masih belum ada perbaikan yang signifikan dibanding kelompok kontrol negatif. Sedangkan pada kelompok Nio-AU mulai tampak arsitektur hepar yang normal namun masih terjadi peradangan pada duktus biliverus. Pada kelompok Nio-AU-CS semakin terlihat adanya perbaikan dengan semakin menurunnya peradangan pada duktus biliverus dan juga menurunnya pleomorfisme dan pembesaran inti sel hepatosit.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat dapat meningkatkan efektivitas asam ursolat sebagai pencegahan kerusakan hati ditinjau dari parameter histopatologi jaringan hati yang relatif normal dan penurunan kadar serum SGOT dan SGPT. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan menggunakan dosis asam ursolat yang berbeda yang menghasilkan efek baik dalam sediaan niosom maupun suspensi sehingga dapat dibandingkan perbedaan efektivitasnya antara niosom AU serta niosom AU dengan pelapisan kitosan terhadap suspensi AU.

ABSTRACT

THE EFFICACY OF URSOLIC ACID NIOSOMES WITH CHITOSAN LAYERS FOR PREVENTING N-NITROSODIETHYLAMINE-INDUCED LIVER DAMAGE IN MICE

Amelia Anneke Faradisa

Backgrounds: Ursolic acid (UA) is a pentacyclic triterpene carboxylic acid with various pharmacological activities, including anticancer, hepatoprotective, antiangiogenesis, apoptosis induction, antioxidant and anti-inflammatory. However, UA has poor water solubility and permeability. Niosomes have been reported to improve the bioavailability of low water-soluble drugs. This study aimed to investigate the protective effect of UA-niosomes modified with chitosan layers against liver damage induced by N-Nitrosodiethylamine (NDEA)

Methods: UA niosomes were prepared using a thin layer hydration method, then chitosan was added by vortexing the mixtures. For induction of liver damage, the mice were given NDEA intraperitoneally at a dose of 25 mg/kg body weight. During the treatment, the mice were given niosomes at a dose equivalent to 11 mg UA/kg body weight orally seven and three days before NDEA induction, then continued once a week with NDEA induction for four weeks.

Results: The results showed that adding chitosan layers increased the particle sizes, PDI, and ζ -potentials of AU niosomes. UA niosomes with chitosan coating decreased mice serum levels of SGOT and SGPT. In addition, the histopathological evaluation of liver tissue showed an improvement with decreasing inflammation in the bile ducts and decreasing pleomorphism and enlargement of hepatocyte cell nuclei in UA niosomes with the chitosan coating treated group.

Conclusions: It can be concluded that UA niosomes with chitosan coating improved the efficacy of preventive therapy of ursolic acid in liver-damaged mice model induced with NDEA.

Keywords: Preventive therapy, Ursolic Acid, Niosomes, Liver Damage, N-Nitrosodiethylamine

DAFTAR ISI

Lembar Pengesahan	ii
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN.....	vii
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN-	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kerusakan Hati.....	6
2.2 Asam Ursolat.....	7
2.3 Niosom	9
2.3.1 Kelebihan dan Kelemahan Niosom	9
2.3.2 Komponen Niosom.....	10
2.3.3 Metode Pembuatan Niosom	11
2.3.4 Aplikasi Niosom Peroral	12
2.4 Kitosan	13
2.5 Induksi NDEA.....	14
2.6 SGOT dan SGPT.....	15
2.7 Histopatologi Jaringan Hati.....	17
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....	19

3.1 Uraian Kerangka Konseptual	19
3.2 Skema Kerangka Konseptual	22
3.3 Hipotesis.....	23
BAB IV METODE PENELITIAN	24
4.1 Bahan dan Alat	24
4.1.1. Bahan	24
4.1.3. Alat	24
4.2 Variabel Penelitian	25
4.2.1 Variabel bebas	25
4.2.2 Variabel Tergantung	25
4.2.3 Variabel Terkontrol	25
4.3 Rancangan Penelitian	25
4.4 Kerangka Operasional	26
4.5 Identifikasi Bahan Baku secara Kualitatif.....	26
4.5.1 Pemeriksaan Organoleptis	26
4.5.2 Pemeriksaa Spektra Inframerah (IR)	26
4.6 Pembuatan Niosom AU.....	27
4.7 Evaluasi Sediaan	29
4.7.1 Pengukuran Ukuran Partikel.....	29
4.7.2 Pengukuran Polydispersity Index (PDI)	29
4.7.3 Pengukuran ζ -Potensial	29
4.8 Uji <i>In Vivo</i>	29
4.8.1 Uji Etik Hewan	29
4.8.2 Kriteria Hewan Coba	30
4.8.3 Perhitungan Jumlah Hewan Coba	30
4.8.4 Induksi Kerusakan hati	30
4.8.5 Pemberian Obat	31
4.8.6 Preparasi Sampel Plasma.....	31
4.8.7 Pembuatan Preparat Histopatologi Hati	31
4.8.8 Evaluasi Histopatologi Hati.....	32
4.8.9 Evaluasi kadar SGOT dan SGPT	32
4.8.10 Analisis Data	32
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	34

5.1 Hasil Analisis Kualitatif Bahan Baku	34
5.1.1 Hasil Pemeriksaan Asam Ursolat	34
5.1.2 Hasil Pemeriksaan Kolesterol.....	35
5.1.3 Hasil Pemeriksaan Span 60	36
5.1.4 Hasil Pemeriksaan Kitosan 19 cps	36
5.2 Hasil Karakterisasi Niosom AU.....	37
5.3 Hasil Evaluasi Induksi NDEA	38
5.3.1 Hasil Evaluasi Berat Badan Mencit.....	38
5.3.2 Hasil Evaluasi Penampakan Morfologi dan Berat Organ Mencit	39
5.4 Hasil Evaluasi Kadar SGOT – SGPT.....	40
5.5 Hasil Evaluasi Histopatologi Hati dan Limpa.....	42
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	44
6.1 Kesimpulan	44
6.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel IV. 1 Formulasi Niosom Asam Ursolat	27
Tabel V.1 Hasil pemeriksaan kualitatif Asam ursolat	35
Tabel V.2 Hasil pemeriksaan kualitatif Kolesterol	35
Tabel V.3 Hasil pemeriksaan kualitatif Span 60	36
Tabel V.4 Hasil pemeriksaan kualitatif Kitosan 19 cps	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Asam Ursolat	7
Gambar 2.2 Struktur Niosom	9
Gambar 2.3 Pembuatan niosom dengan metode hidrasi lapis tipis	12
Gambar 2.4 Struktur Kitosan	13
Gambar 2.5 Struktur kimia kitosan dalam pH tinggi dan pH rendah	13
Gambar 2.6 Histologi Hati Mencit Normal	17
Gambar 3.1 Skema Kerangka Konseptual	22
Gambar 4.1 Kerangka Operasional	26
Gambar 4.2 Prosedur Kerja Pembuatan Niosom	28
Gambar 4.3 <i>Timeline</i> perlakuan hewan uji	31
Gambar 5.1 Spektra inframerah bahan baku yang terdiri dari asam ursolat, span60, dan kolesterol serta sediaan niosom asam ursolat	34

DAFTAR LAMPIRAN-

Lampiran	Halaman
Lampiran-1 Sertifikat analisis Asam Ursolat	55
Lampiran-2 Sertifikat analisis Kolesterol	56
Lampiran-3 Sertifikat analisis Span60	57
Lampiran-4 Sertifikat analisis Kitosan	58
Lampiran-5 FTIR Asam Ursolat, Span60, dan Kolesterol	59
Lampiran-6 FTIR Kitosan	60
Lampiran 7- Sertifikat Kelaikan Etik	61

DAFTAR SINGKATAN

ALP	: Alkaline phosphatase
ALT	: Alanine aminotransferase
AST	: Aspartate aminotransferase
AU	: Asam Ursolat
BCS	: <i>Biopharmaceutics Classification System</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
CS	: Kitosan
GGT	: Gamma-glutamyl transferase
GPx	: <i>Glutathione peroxidase</i>
GSH	: <i>Glutathione reductase</i>
H&E	: Hematoksilin dan Eosin
IFCC	: <i>International Federation of Clinical Chemsitry</i>
MDA	: Malondialdehida
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide
NDEA	: N-diethylnitrosamine
PBS	: Phospat Buffered Saline
RAGE	: <i>Receptor for Advanced Glycation End Products</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Spesies</i>
SGOT	: <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
TNF- α	: Tumor nekrosis faktor-alpha