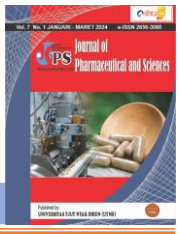
Journal of Pharmaceutical and Sciences
Electronic ISSN: 2656-3088 DOI: https://doi.org/10.36490/journal-jps.com
Homepage: https://journal-jps.com



ORIGINAL ARTICLE JPS. 2026, 9(4), 3291-3299

Permeability Test of Asiaticoside Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems (SNEDDS) Formulation from Pegagan Leaves *(Centella asiatica L.)* Ethanolic Extract Using Everted Gut Sac Method

Uji Permeabilitas Formulasi *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems* (SNEDDS) *Asiaticoside* Ekstrak Etanol Daun Pegagan *(Centella asiatica L.)* dengan Metode Usus Terbalik

Tri Buana Tungga Dewi [a], Gunawan Setiyadi [a]*

[a] *Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia.*

Corresponding Authors: gunawan.setiyadi@ums.ac.id

Abstract

Asiaticoside is an active compound in pegagan leaves (*Centella asiatica L.)* with low solubility and a relatively high molecular weight, which may limit its absorption. This study aimed to determine the effect of a Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) on the permeability of asiaticoside from the ethanolic extract of pegagan leaves using everted gut sac method. The study used 10 male rats divided into two groups: extract with SNEDDS and extract without SNEDDS. The concentration of asiaticoside in the serosal fluid was determined using high-performance liquid chromatography. The permeability coefficient was 3.13×10^{-3} cm/min in the SNEDDS group and 0.74×10^{-3} cm/min in the group without SNEDDS, with an enhancement ratio of 3.97. The lag time was 18.17 minutes for the SNEDDS group and 22.42 minutes for the group without SNEDDS. Data were analyzed using the Shapiro–Wilk normality test, followed by non-parametric tests. However, the Mann–Whitney test results indicated no significant difference between the SNEDDS group and the extract-only group regarding permeability or lag time ($p > 0.05$). These non-significant results were likely due to high inter-individual variability among the test animals and the relatively small sample size. Thus, while the SNEDDS system showed a descriptive trend toward increased permeability and reduced lag time for asiaticoside, this effect was not supported by statistically significant evidence under the conditions of this study.

Keywords*: *Centella asiatica L., Intestinal Permeability, High-Performance Liquid Chromatography, Nanoemulsion, Drug Absorption

Abstrak

Asiaticoside merupakan senyawa aktif daun pegagan (*Centella asiatica L.)* yang memiliki kelarutan rendah dan bobot molekul relatif tinggi sehingga dapat membatasi absorpsinya. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) terhadap permeabilitas *asiaticoside* ekstrak etanol pegagan menggunakan metode usus terbalik. Penelitian dilakukan pada 10 ekor tikus putih jantan yang dibagi menjadi kelompok ekstrak dengan SNEDDS dan ekstrak tanpa SNEDDS. Kadar *asiaticoside* pada cairan serosal ditentukan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi. Hasil penelitian menunjukkan nilai permeabilitas kelompok SNEDDS sebesar $3{,}13 \times 10^{-3}$ cm/menit, sedangkan kelompok tanpa SNEDDS sebesar $0{,}74 \times 10^{-3}$ cm/menit, dengan enhancement ratio sebesar 3,97. Nilai *lag time* kelompok SNEDDS sebesar 18,17 menit dan kelompok tanpa SNEDDS sebesar 22,42 menit. Data dianalisis menggunakan uji normalitas Shapiro–Wilk, kemudian dilanjutkan dengan uji nonparametrik. Namun, hasil uji Mann–Whitney menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok SNEDDS dan ekstrak tanpa SNEDDS pada parameter permeabilitas maupun *lag time* ($p > 0{,}05$). Hasil yang tidak signifikan tersebut diduga disebabkan oleh tingginya variabilitas antarindividu pada hewan uji, serta jumlah sampel yang relatif kecil. Dengan demikian, sistem SNEDDS menunjukkan kecenderungan meningkatkan permeabilitas dan penurunan *lag time* asiaticoside secara deskriptif, tetapi efek tersebut belum didukung oleh bukti statistik yang signifikan pada kondisi penelitian ini.

Kata Kunci: Centella asiatica, Permeabilitas Intestinal, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, Nanoemulsi, Absorpsi Obat

Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International (CC BY-NC-SA 4.0) License

https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i4.1854

Article History:
Received: 24/07/2026,
Revised: 28/09/2026,
Accepted: 28/09/2026,
Available Online: 16/10/2026.

QR access this Article

Pendahuluan

Pegagan *(Centella asiatica (L.) Urb.)* merupakan salah satu tanaman obat yang banyak digunakan di berbagai negara. Tanaman ini dikenal sebagai *gotu kola* atau *Indian pennywort* dalam bahasa Inggris, sedangkan di Indonesia dikenal dengan nama pegagan [1]. *Asiaticoside* merupakan salah satu senyawa triterpenoid glikosida yang terdapat dalam ekstrak tanaman pegagan [2]. Daun pegagan mengandung *asiaticoside* dalam jumlah yang relatif tinggi dan telah banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional, terutama untuk penyembuhan luka dan perbaikan fungsi kulit, serta diketahui memiliki efek antiinflamasi [3,4]. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian oral *asiaticoside* ekstrak daun pegagan pada tikus berpotensi membantu pengelolaan diabetes melalui mekanisme peningkatan sekresi insulin dan pencegahan kerusakan sel pankreas akibat hiperglikemia [5]. Namun, *asiaticoside* memiliki sifat fisikokimia yang dapat menjadi kendala dalam penghantaran secara oral berupa bobot molekul yang besar, yaitu 959,12 g/mol serta sifatnya yang polar [6]. Karakteristik *asiaticoside* tidak memenuhi kriteria *drug-likeness* suatu senyawa untuk penggunaan oral berdasarkan aturan Lipinski *"Rule of Five"* yaitu bobot molekul ≤500 g/mol, jumlah *hydrogen bond acceptor* ≤10, *hydrogen bond donor* ≤5, dan LogP ≤5 [7]. Bobot molekul yang besar dan polaritas yang tinggi dapat membatasi kemampuan *asiaticoside* untuk melewati membran biologis, sehingga dapat berpotensi menghambat absorpsi oral serta pengembangan *asiaticoside* dalam suatu formulasi [6]. Oleh karena itu, diperlukan sistem penghantaran obat yang dapat meningkatkan kelarutan, disolusi, dan permeabilitas *asiaticoside* untuk mendukung absorpsinya secara oral. Salah satu pendekatan yang dapat digunakan adalah *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS).

SNEDDS merupakan sistem penghantaran obat berbasis lipid berupa campuran isotropik yang terdiri atas minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan yang secara spontan membentuk emulsi berukuran nano ketika berinteraksi dengan fase air, dengan ukuran droplet umumnya berkisar antara 20–200 nm [8]. SNEDDS digunakan sebagai pendekatan formulasi untuk obat yang memiliki kelarutan rendah karena mampu memperbaiki kelarutan serta laju disolusi obat, mempertahankan obat dalam keadaan terlarut, serta meningkatkan permeabilitas dan absorpsi sehingga berpotensi meningkatkan bioavailabilitas obat [9]. Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sistem nanoemulsi dapat digunakan untuk mengatasi keterbatasan formulasi senyawa hidrofobik pada kombinasi nanoemulsi basis gel [10]. Selain itu, penggunaan SNEDDS sebagai sistem penghantaran berbasis lipid dilaporkan memiliki potensi untuk digunakan pada senyawa yang larut dalam air [11].

Uji permeabilitas adalah suatu metode pengujian untuk mengevaluasi kemampuan dan laju suatu obat dalam melewati membran biologis, khususnya pada membran usus, yang dapat menggambarkan kemampuan obat untuk mengalami absorpsi [12]. Penggunaan sediaan nanopartikel dapat meningkatkan bioavailabilitas karena kandungan minyak dan surfaktan dalam formulasi dapat meningkatkan permeabilitas suatu obat [13]. Parameter utama yang diukur termasuk koefisien permeabilitas dan *lag time*, digunakan untuk menilai efektivitas penyerapan [13]. Penelitian ini bertujuan untuk menguji dan mengevaluasi pengaruh formulasi SNEDDS terhadap koefisien permeabilitas (Pm) dan *lag time* pada *asiaticoside* ekstrak etanol daun pegagan dibandingkan dengan ekstrak tanpa SNEDDS berdasarkan pengukuran menggunakan metode usus terbalik. Dengan memahami dan mengevaluasi permeabilitas membran terhadap suatu obat, dapat terancang formulasi obat yang lebih baik serta meningkatkan efektivitasnya, sehingga diharapkan dapat memberikan kontribusi besar dalam pengembangan terapi yang lebih aman dan efektif.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Pada penelitian ini digunakan beberapa alat diantaranya yaitu, HPLC UV-Vis (Vanquish Thermo Scientific™), kolom Purospher® STAR RP-18 endcapped (5 µm) Hibar® RT 150-4.6, *centrifuge* (Eppendorf™ 5430 Microcentrifuge), perangkat alat uji permeabilitas metode usus terbalik tabung Crane and Wilson 1958 modifikasi Yuwono 1987, *water baths* (Memmert) dan sonikator (Branson). Adapun bahan yang digunakan untuk analisis antara lain, marker standar analisis *asiaticoside* (Solarbio), *acetonitrile* HPLC *grade* (Merck), *water* HPLC *grade* (Fisher), cairan serosal NaCl 0,9%, cairan mukosal usus buatan (AIF) yang terdiri dari serbuk $MgCl_2$ p.a. (Merck), $CaCl_2$ p.a. (Merck), NaCl p.a. (Merck), $NaHCO_3$ p.a. (Merck), KCl p.a. (Merck) dan akuades [14]. Tikus putih jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan 200-300 gram.

Sampel

Sampel yang digunakan adalah formulasi *asiaticoside* ekstrak etanol daun pegagan dan formulasi *asiaticoside* ekstrak etanol daun pegagan dalam SNEDDS yang telah dilaporkan sebelumnya [15]. Komponen SNEDDS dipilih dari formula terbaik terdiri dari minyak kedelai, Tween 20 (Sigma Aldrich) dan PEG 400 (Sigma Aldrich) dengan perbandingan 5:4:1 [15].

Persiapan Hewan Uji

Sebanyak 10 ekor tikus putih jantan galur Wistar yang telah di aklimatisasi selama 7 hari dengan berat badan antara 180-300 g dialokasikan secara *arbitrarily* ke dalam dua kelompok perlakuan (n=5), yaitu kelompok perlakuan ekstrak etanol daun pegagan dengan SNEDDS dan ekstrak etanol daun pegagan tanpa SNEDDS [14].

Persetujuan Etik

Penelitian ini telah memenuhi prinsip etik sesuai dengan Deklarasi Helsinki 1975, Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) dan World Health Organization (WHO) tahun 2016. Persetujuan etik *(Ethical Clearance)* telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta, diterbitkan pada tanggal 13 Januari 2026 No.6082/A.1/KEPK-FKUMS/I/2026.

Pembuatan Formulasi Ekstrak Etanol Daun Pegagan

Daun pegagan *(Centella asiatica L.)* dikeringkan dalam oven (Memmert) dengan suhu 35–40°C selama dua hari, selanjutnya dihaluskan menggunakan blender untuk memperoleh serbuk simplisia [15]. Sebanyak 250 g serbuk simplisia direndam dalam 2,5 L etanol 96% untuk proses ekstraksi selama tiga hari, kemudian dilakukan remaserasi selama tiga hari [15]. Hasil maserasi selanjutnya disaring menggunakan kertas saring dengan corong Buchner. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator (Heidolph L-4000) untuk menghilangkan pelarut, selanjutnya dilakukan pengentalan menggunakan tangas air hingga diperoleh ekstrak yang lebih kental [15].

Pembuatan Formulasi SNEDDS Ekstrak Etanol Daun Pegagan

Ekstrak daun pegagan sebanyak 200 mg dicampurkan ke dalam lima mililiter SNEDDS yang terdiri dari komponen minyak kedelai, Tween 20, dan PEG 400 dengan perbandingan 5:4:1 yang telah dioptimasi pada penelitian sebelumnya [15]. Campuran kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex* selama 5 menit dan dilanjutkan dengan proses sonikasi selama 5 menit. Selanjutnya, campuran didiamkanselama 5 menit hingga suhu air mencapai 45°C. Tahapan tersebut dilakukan sebanyak tiga kali [15].

Penetapan Kadar

Dibuat larutan stok *asiaticoside* konsentrasi 10 mg/mL dari standar primer 5 mg dilarutkan dengan 0,5 mL DMSO. Dilakukan pengenceran bertingkat dari larutan stok hingga diperoleh seri konsentrasi 0,39; 0,781; 1,5625; 3,125; 6,25 ppm menggunakan pelarut *acetonitril*;air (60:40) yang telah di *degass*. Larutan kemudian disaring menggunakan filter PTFE 0,2 µm [15]. Pembuatan kurva baku dilakukan dengan menginjeksikan 10 µL seri konsentrasi standar dengan HPLC reversed-phase menggunakan kolom RP-18, pelarut acetonitril:air (60:40), kecepatan alir 1 mL/menit, dan deteksi UV pada 214 nm [15]. Data luas area yang diperoleh dianalisis regresi linear sebagai untuk mendapatkan persamaan kurva baku [15].

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

100 mg ekstrak pegagan tanpa SNEDDS, dilarutkan menggunakan pelarut metanol p.a. hingga 10 mL dan disonikasi selama 10-15 menit agar terlarut sempurna [15]. Selanjutnya, lima mililiter SNEDDS ekstrak pegagan disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 3 mL supernatan dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan pelarut [15]. Masing-masing diinjeksikan ke dalam HPLC. Konsentrasi yang dihasilkan kemudian dikonversi menjadi kadar *asiaticoside* ekstrak dengan SNEDDS dan ekstrak tanpa SNEDDS.

Validasi Metode

Dilakukan validasi metode menggunakan standar *asiaticoside* dalam spike cairan serosal NaCl 0,9% dengan mengambil 50 µL cairan serosal dimasukkan ke dalam larutan standar *asiaticoside* sebanyak 200 µL pada masing-masing seri konsentrasi [16]. Campuran tersebut selanjutnya divortex pada kecepatan 3000 rpm selama 1 menit, dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit untuk mengendapkan protein. Larutan kemudian disaring menggunakan filter PTFE 0,2 µm. Preparasi spike tersebut kemudian dijadikan sampel dalam proses validasi metode yang mencakup parameter spesifitas, linearitas, LOD/LOQ, akurasi, dan presisi.

Uji Permeabilitas Dengan Metode Usus Terbalik

Uji permeabilitas dilakukan dengan metode usus terbalik. Tikus dipuasakan selama 24 jam dengan diberi minum [14]. Tikus kemudian dilakukan eutanasia dengan metode dislokasi servikal untuk memastikan kematian dengan tidak adanya denyut jantung dan refleks [17]. Kemudian dilakukan pembedahan perut sepanjang linea media hingga di atas diafragma [14]. Usus diambil dari segmen jejunum, dipotong usus 15 cm di bawah pilorus dan 20 cm di bawahnya dipotong untuk uji dan dibagi 2 sepanjang 10 cm [14]. Usus dibalik menggunakan batang plastik sehingga bagian mukosal berada di luar, kemudian dibersihkan dengan cairan NaCl 0,9% [14]. Ujung usus di pasangkan pada alat dan diikat dengan benang [14].

Sebanyak 1,5 mL cairan NaCl 0,9% diisikan ke dalam usus melalui kanula [14]. Rangkaian usus dimasukkan ke dalam tabung yang berisi cairan mukosal (AIF) 75 mL [14]. Sistem diinkubasi di dalam tangas air pada suhu 37^{0}C. Selama percobaan, oksigen dialirkan ke dalam cairan mukosal melalui pipa dengan kecepatan 100 gelembung per menit. Seluruh bagian usus dijaga agar terendam dalam cairan mukosal [14]. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil 1 mL cairan serosal dari alat ke tabung mikro, kemudian diisi kembali usus dengan 1 mL cairan serosal [14]. Cairan serosal diambil pada menit ke 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 dan 120 [14]. Sampel diputar 10.000 rpm selama 10 menit untuk mengendapkan partikel. Pengambilan sampel dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta pada bulan Juli 2026. Sampel kemudian disaring menggunakan filter membran PTFE dan diinjeksikan ke sistem HPLC.

Analisa Data

Pengolahan data permeabilitas dilakukan berdasarkan hasil analisis HPLC-UV. Luas area puncak *asiaticoside* dikonversi menjadi konsentrasi (C_s) menggunakan persamaan regresi linear kurva baku, yaitu

$$C_s = \frac{(y - b)}{a} \qquad (1)$$

dengan y sebagai luas area, a sebagai slope, dan b sebagai intercept [14]. Jumlah kumulatif *asiaticoside* yang berpermeasi (Q) dihitung dengan memperhitungkan pengambilan sampel secara berkala menggunakan persamaan,

$$Q_n = C_n V_r + V_s \sum_{i=1}^{n-1} C_i \qquad (2)$$

dengan V_r sebagai volume kompartemen serosal dan V_s sebagai volume sampel yang diambil [14]. Luas permukaan usus (A) dihitung menggunakan persamaan,

$$A = \pi d L \qquad (3)$$

dengan d sebagai diameter usus dan L sebagai panjang usus [14]. Selanjutnya rasio Q/A dari masing-masing replikasi hewan uji pada setiap kelompok diplot terhadap waktu dan dianalisis dengan regresi linear pada bagian kurva baku yang linear [14]. Koefisien permeabilitas (Pm) dihitung berdasarkan perbandingan slope terhadap konsentrasi awal donor (Cg) menggunakan persamaan,

$$Pm = \frac{slope}{Cg} \qquad (4)$$

sedangkan *lag time* dihitung berdasarkan persamaan,

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

$$t_{lag} = -\frac{intercept}{slope} \qquad (5)$$

Nilai P_m dinyatakan dalam cm/menit dan *lag time* dalam menit [14]. Data hasil penelitian dari kedua kelompok uji (n=5), selanjutnya dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS versi 26.0 (tahun 2019) dengan pengujian normalitas uji Shapiro-Wilk dan uji homogenitas. Data yang memenuhi asumsi distribusi normal dan homogenitas dianalisis lebih lanjut menggunakan *Independent sample t-test*, sedangkan data yang tidak memenuhi asumsi normalitas dianalisis menggunakan uji non-parametrik Mann-Whitney pada tingkat signifikansi 95% ($p < 0,05$).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Penetapan Kadar Ekstrak dan SNEDDS Ektrak dengan Kurva Baku Standar *Asiaticoside*

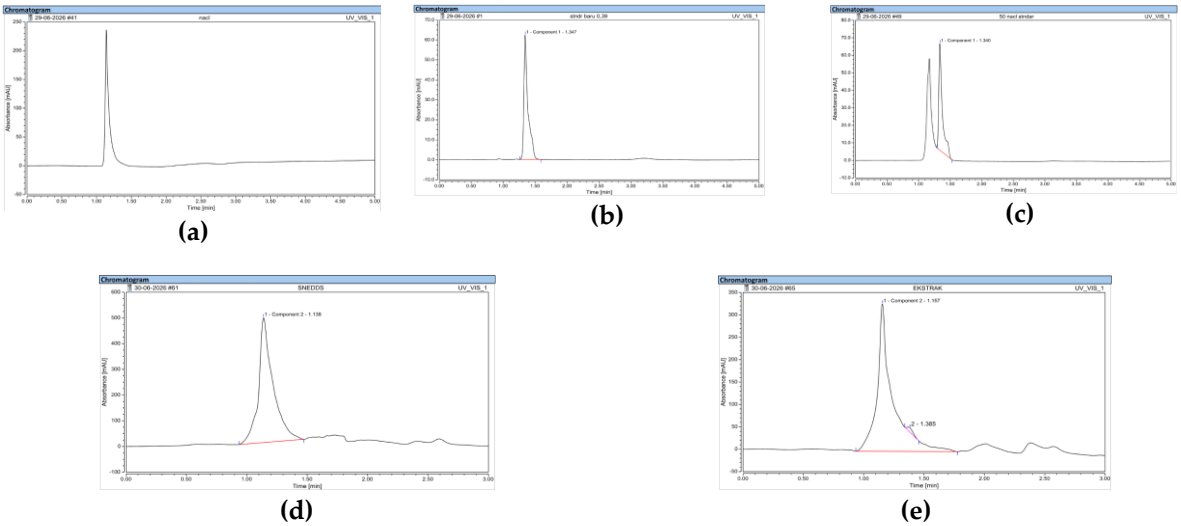
Penetapan kadar menggunakan kurva baku standar *asiaticoside* dalam 100 mg ekstrak daun pegagan menunjukkan kadar sebesar 0,03 ± 0,001 mg (0,0266% b/b, n=3) dan kadar *asiaticoside* dalam 1 mL SNEDDS adalah sebesar 0,12 ± 0,009 mg (4,033 ppm, n=3).

Pembuatan Kurva Baku Analisis Spike *Asiaticoside* dalam Cairan Serosal NaCl 0,9%

Kurva baku area *asiaticoside* standar dalam spike larutan serosal NaCl 0,9% dibuat untuk menetapkan kadar asiaticoside terabsorpsi dan larut dalam cairan serosal (NaCl 0,9%) pada kompartemen akseptor pada percobaan uji permeabilitas dengan metode usus terbalik. Aspek yang divalidasi adalah spesifisitas, linieritas, akurasi, presisi, *limit of detection* (LOD) dan *limit of quantitation* (LOQ).

1) Spesifisitas

Spesifitas dilakukan dengan membandingkan kromatogram blank cairan serosal (NaCl 0,9%), *asiaticoside* standar, *asiaticoside* standar dalam spike cairan serosal (NaCl 0,9%), SNEDDS ekstrak etanol daun pegagan dan ekstrak etanol daun pegagan untuk memastikan tidak ada interferensi pada waktu retensi *asiaticoside*. Kromatogram menunjukkan adanya puncak *asiaticoside* pada waktu retensi yang sesuai, sementara pada kromatogram blanko cairan serosal tidak memperlihatkan adanya puncak yang mengganggu pada waktu retensi tersebut **Gambar *1***. Berdasarkan hasil tersebut, tidak terdapat interferensi pada komponen matriks terhadap puncak *asiaticoside*, sehingga metode memenuhi parameter spesifisitas dan dapat dilanjutkan ke tahap validasi berikutnya.



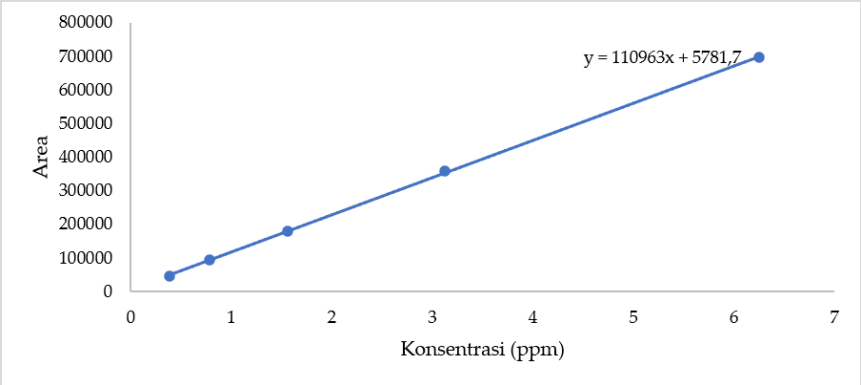
Gambar 1. Kromatogram HPLC dari **(a)** Blank Cairan Serosal (NaCl 0,9%), **(b)** *Asiaticoside* Standar 0,39 ppm, **(c)** *Asiaticoside* Standar 0,39 ppm dalam Spike Cairan Serosal (NaCl 0,9%), **(d)** SNEDDS Ekstrak Etanol Daun Pegagan dan **(e)** Ekstrak Daun Pegagan.

2) Linearitas

Linearitas dilakukan dengan 3 replikasi dan dinyatakan diterima apabila $R^2 \geq 0,99$ yang menandakan bahwa metode dapat diterapkan untuk berbagai konsentrasi analit. Hasil persamaan kurva baku pada rentang

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

konsentrasi 0,39; 0,781; 1,5625; 3,125; 6,25 ppm menghasilkan harga koefisien regresi sebesar 0,9998 dan diperoleh persamaan $y = 110963x + 5781{,}7$ seperti tercantum pada ***Gambar 2***, sehingga persamaan tersebut dinilai memenuhi kriteria untuk digunakan dalam analisis penetapan kadar *asiaticoside* dalam sampel.



Gambar 2. Kurva Baku Standar *Asiaticoside* dalam Spike NaCl 0,9%. (n=3).

3) Akurasi

Akurasi dilakukan dengan tiga level yaitu *low*, *mid* dan *high*. Presentase target 100% diambil dari titik tengah atas konsentrasi yaitu 3,125 ppm. Masing-masing level diinjeksikan ke sistem HPLC sebanyak 3 replikasi. Area yang diperoleh kemudian dihitung kadar terukur untuk memperoleh nilai %recovery. Pada konsentrasi rendah diperoleh nilai recovery sebesar 100,05%, pada konsentrasi tengah diperoleh recovery sebesar 101,79% dan pada konsentrasi tinggi sebesar 99,60%. Hasil %recovery pada ketiga tingkat konsentrasi tersebut menunjukkan bahwa metode memiliki tingkat akurasi yang baik karena seluruh nilai berada dalam rentang keberterimaan (98–102%).

4) Presisi

Presisi dinyatakan sebagai harga simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV) dari seri kadar *asiaticoside* yang dihitung dengan memasukkan area ke dalam kurva baku. Harga simpangan baku relatif (RSD) yang didapatkan adalah 0,20% (%RSD ≤2%), lebih kecil dari 2/3 x Nilai Horwitz (1,01%) sehingga kurva baku memenuhi syarat presisi.

5) *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantitation* (LOQ)

LOD dan LOQ ditentukan berdasarkan standar deviasi respons (σ) dan slope (S) dari kurva baku. Nilai LOD dihitung menggunakan rumus,

$$LOD = 3{,}3\sigma/S \qquad (6)$$

sedangkan nilai LOQ dihitung menggunakan rumus,

$$LOQ = 10\sigma/S \qquad (7)$$

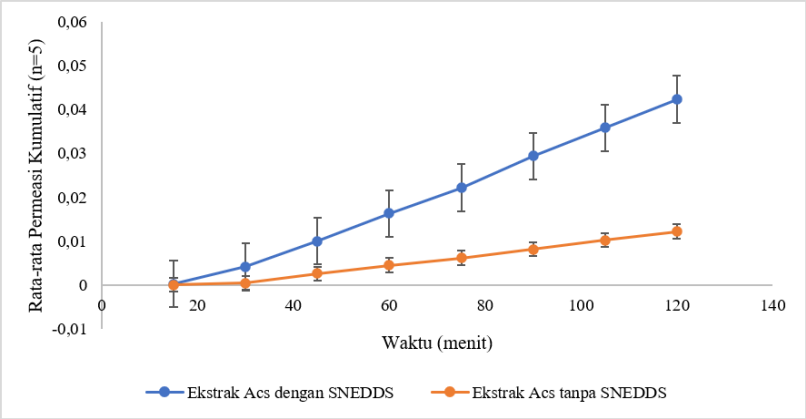
Harga LOD hasil perhitungan adalah 0,1232 ppm, lebih kecil daripada kadar terkecil yang digunakan dalam kurva baku yaitu 0,39 ppm. Sementara, harga LOQ hasil perhitungan adalah 0,3733 ppm lebih kecil daripada kadar terkecil yang digunakan dalam kurva baku. Maka, kurva baku dapat digunakan.

Hasil Uji Permeabilitas Formulasi dengan Metode Usus Terbalik

Uji permeabilitas dilakukan untuk mengevaluasi pelepasan in vitro dan penyerapan in vivo dari *asiaticoside* [8]. Permeabilitas *asiaticoside* dalam formulasi SNEDDS kemudian dievaluasi dengan membandingkan terhadap ekstrak tanpa SNEDDS menggunakan metode usus terbalik. Uji permeabilitas membran biologis dengan metode usus terbalik terhadap senyawa *asiaticoside* SNEDDS ekstrak etanol daun pegagan dan ekstrak etanol daun pegagan menggunakan metode usus terbalik memberikan profil permeasi *asiaticoside* melewati usus seperti terlihat pada **Error! Reference source not found.**. Pada penelitian ini, harga permeabilitas dihitung berdasarkan nilai slope kurva jumlah kumulatif *asiaticoside* terhadap waktu dibagi dengan konsentrasi *asiaticoside* di dalam kompartemen donor (Cg). Kedua profil permeasi pada ***Gambar 3*** menunjukkan hubungan yang linear di sepanjang waktu pengamatan dengan nilai koefisien determinasi (R^2) rata- rata sebesar 0,99536 ± 0,0037 pada kelompok SNEDDS ekstrak *asiaticoside* serta nilai koefisien determinasi (R^2) rata-rata sebesar 0,99138 ± 0,0088 pada kelompok ekstrak *asiaticoside* tanpa SNEDDS, sehingga seluruh

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

bagian kurva dapat digunakan dalam perhitungan permeabilitas. Harga permeabilitas dan *lag time* tercantum di ***Tabel 1***.



Gambar 3. Kurva Hubungan Rata-rata Jumlah *Asiaticoside* yang Menembus Membran Usus Tikus per cm² Terukur di Cairan Serosal Terhadap Waktu (menit) Pada Ekstrak *Asiaticoside* dengan SNEDDS dan tanpa SNEDDS (n=5). Data Disajikan Sebagai Rata-rata ± SD.

Tabel 1. Harga Rata-rata Permeabilitas Membran Biologis dan *Lag Time* ± SD (n=5).

	Rata-rata Permeabilitas (x 10^{-3}) (n=5)	***Lag Time* (n=5)**
	(cm $menit^{-1}$)	**(menit)**
SNEDDS *asiaticoside* ekstrak etanol Centella asiatica L.	3,13 ± 0,33	18,17 ± 2,52
Asiaticoside ekstrak etanol Centella asiatica L.	0,74 ± 0,03	22,42 ± 5,50

[1] Keterangan : Data disajikan sebagai rata-rata permeabilitas ± SD (n=5) dan *lag time* ± SD (n=5).

Berdasarkan hasil uji permeabilitas menunjukkan bahwa pemberian *asiaticoside* ekstrak etanol daun pegagan dalam sistem SNEDDS menghasilkan permeabilitas yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tanpa SNEDDS. Peningkatan permeabilitas ditunjukkan dengan nilai *enhancement ratio* sebesar 4,23 yang diperoleh dengan membagi nilai permeabilitas *asiaticoside* ekstrak dalam SNEDDS dengan nilai permeabilitas *asiaticoside* ekstrak tanpa SNEDDS. Hal ini menunjukkan bahwa pemuatan *asiaticoside* ke dalam SNEDDS cenderung meningkatkan permeabilitas membran usus tikus terhadap *asiaticoside*. Kenaikan permeabilitas juga diiringi dengan perbaikan *lag time.* Kelompok SNEDDS memiliki nilai *lag time* yang lebih singkat, yaitu 18,17 menit, dibandingkan kelompok ekstrak tanpa SNEDDS sebesar 22,42 menit.

Peningkatan permeabilitas pada kelompok SNEDDS berkaitan dengan karakteristik sistem SNEDDS yang mampu meningkatkan kelarutan dan proses disolusi senyawa aktif yang memiliki keterbatasan dalam kelarutan. *Asiaticoside* yang terdispersi dalam komponen minyak, surfaktan, dan kosurfaktan secara spontan membentuk droplet berukuran sangat kecil ketika kontak dengan fase air [18]. Ukuran droplet yang kecil menghasilkan luas permukaan yang lebih besar sehingga memungkinkan terjadinya kontak yang lebih luas antara senyawa aktif dengan medium [18]. Kondisi tersebut dapat meningkatkan jumlah *asiaticoside* yang tersedia dalam bentuk terdispersi pada kompartemen donor. Dengan ukuran droplet yang kecil dan luas permukaan yang besar, sistem SNEDDS berpotensi meningkatkan kontak antara pembawa dan permukaan membran, sehingga proses perpindahan *asiaticoside* menuju membran biologis dapat menjadi lebih efektif [19].

Parameter lain yang digunakan untuk mengevaluasi proses permeabilitas pada penelitian ini adalah *lag time* yang menggambarkan waktu senyawa untuk melewati membran [14]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok SNEDDS memiliki nilai *lag time* sebesar 18,17 menit, sedangkan kelompok ekstrak tanpa SNEDDS memiliki nilai *lag time* sebesar 22,42 menit. Penurunan *lag time* sebesar 4,25 menit menunjukkan bahwa *asiaticoside* dalam sistem SNEDDS membutuhkan waktu yang lebih singkat untuk mencapai kondisi permeasi dibandingkan dengan *asiaticoside* ekstrak tanpa SNEDDS.

Hasil Analisa Data

Hasil uji normalitas menggunakan Shapiro–Wilk menunjukkan bahwa data permeabilitas dan *lag time* pada kelompok SNEDDS dan kelompok ekstrak tanpa SNEDDS memiliki nilai signifikansi $p < 0,001$. Nilai signifikansi yang kurang dari 0,05 menunjukkan bahwa data pada kedua kelompok tidak terdistribusi normal.

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

Dikarenakan data permeabilitas dan *lag time* pada kedua kelompok tidak memenuhi asumsi normalitas dan pada penelitian membandingkan dua kelompok independen, analisis dilanjutkan dengan uji nonparametrik Mann–Whitney serta dianalisis deskriptif untuk mencari nilai median dan *interquartile range* IQR [20]. Hasil uji Mann–Whitney menunjukkan nilai signifikansi permeabilitas sebesar 0.095 ($p > 0,05$) dan nilai signifikansi *lag time* sebesar 0,754 ($p > 0,05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat bukti statistik yang cukup untuk menyatakan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok SNEDDS dan kelompok ekstrak tanpa SNEDDS pada signifikansi 5%. Berdasarkan hasil analisis deskriptif, kelompok SNEDDS memiliki median permeabilitas sebesar 0,002976 dengan IQR sebesar 0,000372. Sementara itu, kelompok ekstrak tanpa SNEDDS memiliki median permeabilitas sebesar 0,000750 dengan IQR sebesar 0,000038.

Meskipun median permeabilitas kelompok SNEDDS lebih tinggi secara deskriptif, hasil uji Mann–Whitney menunjukkan bahwa bukti statistik yang diperoleh belum cukup untuk menyatakan adanya perbedaan antara kedua kelompok berdasarkan parameter permeabilitas maupun *lag time*. Kondisi ini dapat berkaitan dengan karakteristik distribusi dan variabilitas data, termasuk kemungkinan adanya penyebaran nilai yang tidak simetris [21]. Jumlah sampel yang relatif kecil, yaitu lima tikus pada setiap kelompok, dapat membatasi kemampuan analisis statistik untuk mendeteksi perbedaan antarkelompok [20]. Variasi hasil permeasi antar hewan uji dapat dipengaruhi oleh perbedaan kondisi biologis dan karakteristik jaringan usus yang digunakan dalam metode usus terbalik. Perbedaan struktur dan integritas jaringan dapat memengaruhi permeabilitas, sedangkan proses eversi usus dan kondisi selama inkubasi dapat memengaruhi integritas serta viabilitas jaringan yang dapat mempengaruhi variasi nilai permeabilitas dan *lag time* pada setiap replikasi [22,23]. Dengan demikian, hasil yang tidak signifikan perlu dipahami sebagai keterbatasan bukti untuk mendukung adanya perbedaan.

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sistem SNEDDS menghasilkan nilai koefisien permeabilitas 3,13 × 10^{-3} cm/menit dengan *lag time* 18,17 menit lebih tinggi secara deskriptif dibandingkan kelompok ekstrak tanpa SNEDDS sebesar 0,74 × 10^{-3} cm/menit dengan *lag time* 22,42 menit. Nilai *enhancement ratio* 4,23 menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan permeabilitas serta perbaikan *lag time* secara deskriptif pada *asiaticoside* setelah diformulasikan dalam sistem SNEDDS. Namun, berdasarkan hasil uji statistik belum menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok ($p > 0,05$). Hasil yang tidak signifikan dapat dipengaruhi oleh jumlah sampel yang relatif kecil serta variasi biologis dan teknis pada penggunaan jaringan usus tikus. Dengan demikian, SNEDDS memiliki potensi sebagai sistem penghantaran untuk meningkatkan permeabilitas *asiaticoside*, tetapi diperlukan penelitian lebih lanjut dengan pengendalian kondisi jaringan dan preparasi usus yang lebih ketat serta jumlah hewan uji yang memadai untuk memastikan efektivitas SNEDDS dalam meningkatkan koefisien permeabilitas *asiaticoside*.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam pelaksanaan penelitian ini. Seluruh proses penelitian, analisis data, dan penyusunan hasil dilakukan secara independen tanpa adanya kepentingan pribadi maupun pihak lain yang dapat memengaruhi hasil atau interpretasi penelitian.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta atas dukungan, fasilitas, serta kesempatan yang telah diberikan selama pelaksanaan penelitian.

Referensi

[1] Wong JH, Barron AM, Abdullah JM. Mitoprotective Effects of Centella asiatica (L.) Urb.: Anti-Inflammatory and Neuroprotective Opportunities in Neurodegenerative Disease. Front Pharmacol 2021;12:1–9. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.687935.

[2] Chairunisa U, Rosaini H, Musa ZFA, Makmur I, Eriadi A, Yetti RD. Optimization of Nanoemulsion Formula from Asiaticoside Active Compounds Using Design Expert ®13. Int J Res Publ Rev 2022;3:1046–51. https://doi.org/10.55248/gengpi.2022.3.10.44.

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

[3] Sabila CF, Muhartono. Efektivitas Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica) terhadap Penyembuhan Luka The Effectivity of Giving Gotu Kola Leaf Extract (Centella asiatica) to Wound Healing. J Agromedicine Unila 2020;7:23–8. https://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/agro/article/view/2776.

[4] Mardiyah S. Anti-Inflammatory Activity Of Pegagan Leaves (Centella asiatica (L.) Urban) Extract Cream. J Pharm Sci Appl 2022;4:12–8. https://doi.org/10.24843/JPSA.2022.v04.i01.p02 herbs.

[5] Fitrianda E, Sukandar EY, Elfahmi, Adnyana K. Antidiabetic Activity of Extract, Fractions, and Asiaticoside Compound Isolated From Centella Asiatica Linn. Leaves in Alloxan-Induced Diabetic Mice. Asian J Pharm Clin Res 2017;10:268–72. http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i10.20419.

[6] Wardiyah, Jufri M, Sutriyo, Mun'im A, Zulfakar MH. Developement and Optimization of Asiaticoside Nanoemulsion For by Box-Behnken Design. Farmacia 2024;72:1397–407. https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.6.19.

[7] Chrobak E, Bober-Majnusz K, Wyszomirski M, Zięba A. Aniline Derivatives Containing 1-Substituted 1,2,3-Triazole System as Potential Drug Candidates: Pharmacokinetic Profile Prediction, Lipophilicity Analysis Using Experimental and In Silico Studies. MDPI Pharm 2024;17. https://doi.org/10.3390/ph17111476.

[8] Ashfaq M, Shah S, Rasul A, Hanif M, Khan HU, Khames A, et al. Enhancement of the Solubility and Bioavailability of Pitavastatin through a Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS). Pharmaceutics 2022;14. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030482.

[9] Suyal J, Kumar B, Jakhmola V. Novel Approach Self-nanoemulsifying Drug Delivery System: A Review. Adv Pharmacol Pharm 2023;11:131–9. https://doi.org/10.13189/app.2023.110205.

[10] Wikantyasning ER, Setiyadi G, Pramuningtyas R, Kurniawati MD, Ho CY. Formulation of Nanoemulgel Containing Extract of Impatients Balsamina L. and Its Antibacterial Activity. Int J Appl Pharm 2023;15:67–70. https://doi.org/10.22159/ijap.2023v15i3.46670.

[11] Winarti L, Suwaldi, Martien R, Hakim L. Formulation of Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System of Bovine Serum Albumin Using HLB (Hydrophilic-Lypophilic Balance) Approach. Indones J Pharm 2016;27:117–27. https://doi.org/10.14499/indonesianjpharm27iss3pp117.

[12] Kus M, Ibragimow I, Piotrowska-Kempisty H. Caco-2 Cell Line Standardization with Pharmaceutical Requirements and In Vitro Model Suitability for Permeability Assays. Pharmaceutics 2023;15. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15112523.

[13] Masitoh A, Sopyan I. Formulasi Nanopartikel Tanaman Herbal untuk Terapi Kanker. Maj Farmasetika 2019;4:165–72. https://doi.org/10.24198/farmasetika.v4i5.23111.

[14] Setiyadi G. Pengembangan Nano Gamavution-0 Dengan Formulasi Self-Nanoemulifying Drug Delivery System (SNEDDS) Sebagai Kandidat Obat Antiinflamasi: Kajian In Vitro dan In Vivo. *Thesis*. Universitas Gajah Mada, 2015.

[15] Melati R, Setiyadi G. Formulation of Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) from Ethanolic Extract of Pegagan Leaves (Centella asiatica) As An Oral Antidiabetic Drug. J Pharm Sci 2025;8:2362–71. https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.

[16] Anukunwithaya T, Tantisira M, Tantisira B, Khemawoot P. Pharmacokinetics of a Standardized Extract of Centella Asiatica ECa 233 in Rats. J Med Plant Nat Prod Res 2017;83:710–7. https://doi.org/10.1055/s-0042-122344.

[17] Leary S, Pharmaceuticals F, Ridge H, Underwood W, Anthony R, Cartner S, et al. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals : 2020 Edition*. *American Veterinary Medical Association;* 2020.

[18] Buya AB, Beloqui A, Memvanga PB, Préat V. Self Nano Emulsifying Drug-Delivery Systems: From The Development To The Current Applications and Challenges in Oral Drug Delivery. Pharmaceutics 2020;12:1–52. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121194.

[19] Wang CY, Yen CC, Hsu MC, Wu YT. Self-nanoemulsifying Drug Delivery Systems for Enhancing Solubility, Permeability, and Bioavailability of Sesamin. MDPI Mol 2020;25. https://doi.org/10.3390/molecules25143119.

[20] Habibzadeh F. Data Distribution: Normal or Abnormal? J Korean Med Sci 2024;39:1–8. https://doi.org/10.3346/jkms.2024.39.e35.

[21] Sainani KL. Dealing With Non-normal Data. Am Acad Phys Med Rehabil 2012;4:1001–5. https://doi.org/10.1016/j.pmrj.2012.10.013.

[22] Costa CM, de Carvalho NM, de Oliveira DL, Madureira AR. A Critical Review on In Vitro and Ex Vivo Models of the Intestinal Epithelium of Humans and Monogastric Animals. Gastrointest Disord 2024;6:337–58. https://doi.org/10.3390/gidisord6010023.

[23] Noorman L, Van Der Hee B, Gilbert MS, De Vries S, Van Der Hoek S, Gerrits WJJ. Assessing Seromuscular Layer and Serosa Removal on Intestinal Permeability Measurements in Weaned Piglet Everted Sac Segments. J Anim Sci 2024;102. https://doi.org/10.1093/jas/skae148.

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com