

**AKTIVITAS *SELF-NANOEMULSIFYING DRUG DELIVERY SYSTEM*
(SNEDDS) PIROKSIKAM TERHADAP EKSPRESI TNF- α PADA LAMBUNG
TIKUS BETINA GALUR *WISTAR***

***Activity of Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) of Piroxicam
on TNF- α Expression in Gastric of Wistar Rats***

Nurul Wakidah

Universitas Ahmad Dahlan

Corresponding author's e-mail: nurulwakidah9@gmail.com

ABSTRAK

Piroksikam merupakan obat yang bersifat asam dan banyak terdeposit pada lambung dapat menyebabkan erosi. Erosi pada mukosa atau submukosa lambung merupakan kejadian yang harus dihambat. Salah satu parameter pada kejadian inflamasi adalah ekspresi TNF- α . Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pembentukan SNEDDS piroksikam terhadap aktivitas anti inflamasi dengan parameter ekspresi TNF- α .

Penelitian ini menggunakan tikus putih betina galur *Wistar* dengan berat 100-150 gram sebanyak 30 ekor. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok 1 adalah kelompok kontrol aquades, kelompok II adalah basis, kelompok III adalah kelompok SNEDDS Piroksikam, kelompok IV adalah kelompok PVP 1%, kelompok V adalah kelompok asam oleat, serta kelompok VI adalah kelompok suspensi piroksikam. Tikus diberi perlakuan, kemudian ditunggu 5 jam, setelah itu tikus dikorbankan dan diambil organ lambung untuk dilakukan pengujian imunohistokimia terhadap ekspresi TNF- α . Data yang diperoleh adalah persen ekspresi TNF- α yang dianalisis menggunakan uji *one way* ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil uji imunohistokimia menunjukkan ekspresi TNF- α kelompok SNEDDS berbeda signifikan dengan suspensi piroksikam. Persentase penghambatan ekspresi TNF- α dari SNEDDS piroksikam sebesar 54,14%.

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa sediaan *Self Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) piroksikam dapat menurunkan ekspresi TNF- α dibanding kelompok suspensi piroksikam. Persen penghambatan ekspresi TNF- α dari SNEDDS piroksikam sebesar 54,14%.

Kata kunci: *Piroksikam, SNEDDS, Ulkus peptik, Imunohistokimia, Ekspresi TNF- α*

ABSTRACT

Piroxicam is an acidic drug and many of them are deposited in the stomach which can cause erosion. Erosion of the gastric or submucosal mucosa is an event that must be inhibited. One parameter in the inflammatory event is the $\text{tnf-}\alpha$ expression. The purpose of this study was to determine the effect of the formation of SNEDDS piroxicam on anti-inflammatory activity in $\text{TNF-}\alpha$ expression.

This study used 30 female white wistar rats with a weight of 100-150 grams. Rats were divided into 6 groups. Group 1 was aquadest control group, group II was base, group III was SNEDDS Piroxicam group, group IV was 1% PVP group, group V was oleic acid group, and group VI was the piroxicam suspension group. Rats were treated, then waited for 5 hours, after which rats were sacrificed and gastric organs were taken for immunohistochemical testing of $\text{TNF-}\alpha$ expression. The data obtained were percent of $\text{TNF-}\alpha$ expression analyzed using one way ANOVA test with 95% confidence level.

Immunohistochemical test results showed the $\text{TNF-}\alpha$ expression of the SNEDDS group was significantly different from the piroxicam suspension. The percentage inhibition of $\text{TNF-}\alpha$ expression from pyroxicam SNEDDS was 54.14%.

Based on the research it can be concluded that the preparation of Pyroxicam *Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)* can reduce $\text{TNF-}\alpha$ expression compared to the piroxicam suspension group. Percent inhibition of $\text{TNF-}\alpha$ expression from pyroxicam SNEDDS was 54.14%.

Keywords: Piroxicam, SNEDDS, Peptic Ulcer, Immunohistochemistry, TNF- α Expression

PENDAHULUAN

NSAIDs atau Non Steroid Anti Inflammation Drugs merupakan salah satu obat yang sering digunakan dalam mengatasi inflamasi pada pasien dengan penyakit arthritis (Lanza *et al.*, 2009) Salah satu NSAIDs yang sering digunakan adalah piroksikam.

NSAIDs merupakan obat antiinflamasi yang sering digunakan dalam penatalaksanaan nyeri muskuloskeletal, namun memiliki risiko berupa gangguan saluran cerna (ulkus peptikum), pendarahan, dan hipertensi. Selain memiliki efek sebagai antiinflamasi, NSAIDs juga memiliki efek sebagai analgesik dan antipiretik. Berdasarkan selektivitasnya terhadap COX-1 dan COX-2, NSAIDs dibagi menjadi dua jenis yaitu selektif COX-2 dan non selektif (Indonesian Rheumatology Association, 2014). NSAIDs bekerja sebagai obat antiinflamasi dengan cara menghambat enzim *cyclooxygenase* pada jalur asam arakidonat. Penghambatan tersebut mengakibatkan terjadinya penghambatan sintesis prostaglandin, tromboxan, dan prostasiklin yang merupakan mediator inflamasi (Landefeld *et al.*, 2016).

Piroksikam termasuk ke dalam obat kelas dua dalam *biopharmaceutical classification system* (BCS) yang memiliki kelarutan rendah dan permeabilitas tinggi (Blagden *et al.*, 2007). Alternatif untuk

mencegah efek samping gangguan pada gastrointestinal adalah dengan dapat dilakukan adalah mengembangkan piroksikam menjadi bentuk sediaan *self-nanoemulsifying drug delivery system* (SNEDDS) (Dewi, 2016).

Bentuk nanoemulsi dipilih karena dalam nanoemulsi terdapat kandungan minyak yang dapat membawa piroksikam yang memiliki sifat sukar larut dalam air. Keunggulan sediaan SNEDDS selain kemampuan membentuk nanoemulsi secara spontan di dalam saluran cerna adalah ukuran tetesan yang dihasilkan berukuran nanometer (Makadia *et al.*, 2013).

Obat anti inflamasi non steroid (OAINS) dapat menyebabkan luka pada lambung melalui dua cara, yaitu iritasi topikal dari jaringan epitel dan menghambat sintesis prostaglandin yang merupakan faktor dominan terjadinya ulkus gaster (Anonim, 2008; Dipiro, *et al.*, 2005; Febrianti, 2013). Insidensi ulkus gaster di Indonesia akibat penggunaan obat anti inflamasi non steroid (OAINS) sebesar 46% dari total 4 juta penderita ulkus gaster (Bukhari *et al.*, 2011).

Selama fase inflamasi, mediator kimiawi akan dilepaskan secara lokal, antara lain histamin, bradikinin, prostaglandin, leukotrien dan 5-hidroksitriptamin (5HT)₇. TNF- α merupakan mediator penting pada

respon inflamasi akut terhadap bakteri Gram negatif dan mikroba lainnya, kekebalan tubuh dan apoptosis serta mempengaruhi patogenesis beberapa penyakit. Makrofag merupakan sumber utama dalam memproduksi TNF- α . Kadar TNF- α mempresentasikan tingkat keparahan inflamasi yakni, semakin tinggi kadar TNF- α maka semakin tinggi keparahan inflamasi begitupun sebaliknya, semakin rendah kadar TNF- α maka semakin rendah keparahan inflamasi dan proses penyembuhan semakin cepat (Souto, 2014).

Penelitian Wulandari (2017) telah mengetahui bahwa pengaruh SNEDDS piroksikam terhadap efek ulserogenik, namun belum diketahui mekanisme gastroprotektor dari SNEDDS melalui kemampuan antiinflamasi, oleh karena itu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui mengetahui efek SNEDDS piroksikam terhadap ekspresi TNF- α .

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain *post test desain*. Penelitian eksperimental ditujukan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat. Tahap pertama hewan uji diberikan perlakuan dengan pemberian aquades, asam oleat, SNEDDS piroksikam,

suspensi, PVP 1%, dan basis piroksikam. Tahap kedua hewan uji dimatikan 5 jam setelah perlakuan dan diamati lambungnya.

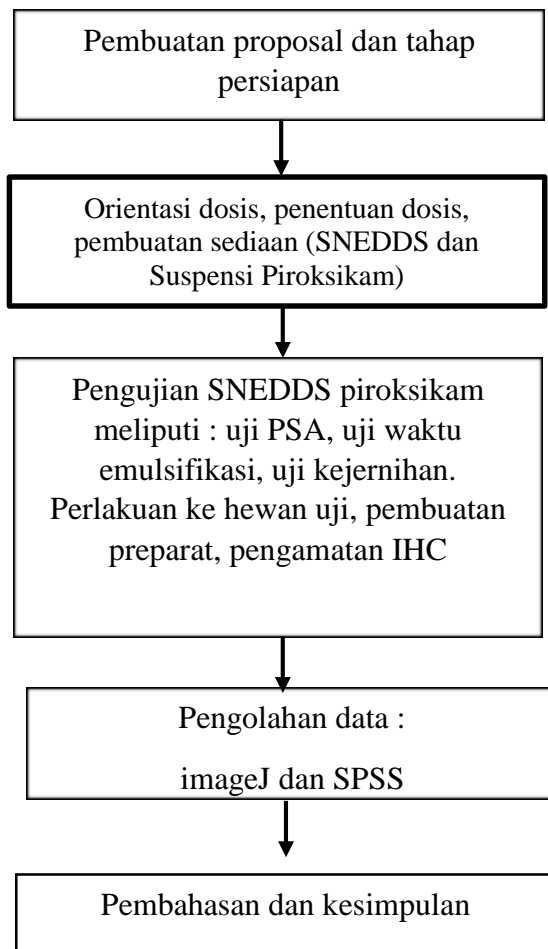
B. Alat dan Bahan yang digunakan

Bahan kimia yang digunakan adalah piroksikam diperoleh dari PT Indofarma; asam oleat diperoleh dari Laboratorium Formulasi dan Teknologi Sediaan Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan; Tween 80 yang diperoleh dari Bratachem; PG (*Propylene glycol*) yang diperoleh dari Bratachem; *Polyvinylpirolidone* (PVP) diperoleh dari PT Indofarma; formalin teknis 10% dan aquades yang diperoleh dari Laboratorium Formulasi dan Teknologi Sediaan Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan; dan NaCl 0,9% (Otsuka).

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih betina galur *Wistar* dengan berat 100-150 gram, yang diperoleh dari Laboratorium Terpadu Universitas Gadjah Mada.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *digital camera*, spuit, jarum, suntik oral (sonde), sonikator merek Elmasonic, vortex merek *Thermo Scientific*, alat-alat gelas (*pyrex*), timbangan tikus (OHAUS), neraca analitik (OHAUS), *magnetic stirrer*, alat bedah milik Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, mikroskop dan optilab milik Laboratorium Patologi dan Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, serta aplikasi ImageJ.

C. Prosedur Penelitian



D. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa hasil uji karakteristik SNEDDS piroksikam dan pengukuran persen ekspresi TNF- α yang dianalisis secara statistik dengan melakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas dilakukan dengan uji *Shapiro Wilk* untuk mengetahui distribusi data, sedangkan uji homogenitas dilakukan dengan *Levene Test* untuk mengetahui homogenitas dari data yang dihasilkan. Apabila data hasil penelitian terdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dapat di

uji menggunakan *One Way ANOVA* dengan taraf kepercayaan masing-masing 95%. Jika hasil ANOVA menunjukkan hasil berbeda bermakna maka perlu dilakukan uji LSD untuk memastikan perlakuan yang berbeda bermakna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan melalui *Ethical clearance* yang disetujui oleh komisi etik Universitas Ahmad Dahlan dengan nomor ref : 011702019. Jumlah hewan uji yang digunakan sebagai sampel penelitian sebanyak 30 tikus.

A. Pembuatan SNEDDS Piroksikam

Formula SNEDDS piroksikam yang optimum adalah dengan perbandingan asam oleat sebesar 8%, tween 80 sebesar 66%, dan propilen glikol sebesar 26%. Hasil karakteristik dari formula tersebut yaitu diperoleh nilai transmittan $97,78 \pm 0,07\%$ setelah bercampur dengan air pada panjang gelombang 650 nm, dan waktu emulsifikasi dalam akuades $38 \pm 1,52$ detik. Ukuran droplet nanoemulsi dan zeta potensial masing-masing adalah 77,2 nm dan -19,2 Mv. Droplet nanoemulsi yang dihasilkan selama 4 jam memiliki stabilitas fisik pada media akuades dan AGF (Zaerosa, 2016). Hasil pembuatan SNEDDS piroksikam secara organoleptis berupa cairan kental berwarna kuning, jernih, dengan bau dan bentuk seperti minyak.

B. Pengujian SNEDDS Piroksikam

Pengujian SNEDDS piroksikam pada penelitian ini meliputi uji PSA (*Particle Size Analyzer*), uji waktu emulsifikasi, dan uji kejernihan. Ketiga uji tersebut menunjukkan hasil yang bagus sesuai dengan syarat SNEDDS yang baik

C. Perlakuan Efek Ulserogenik pada Hewan Uji

Perlakuan efek ulserogenik terhadap piroksikam dilakukan pada tikus yang sebelumnya sudah dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok tersebut masing-masing terdiri dari 5 tikus betina galur *Wistar*. Masing-masing kelompok tersebut adalah aquadest, basis SNEDDS piroksikam, SNEDDS piroksikam, PVP 1%, asam oleat dan suspensi piroksikam.

Kelompok pertama yaitu kelompok normal atau aquades yang hanya diberi makan dan diberi minum, kelompok kedua yaitu kelompok basis SNEDDS piroksikam yang terdiri dari tween 80, PG (propilen glikol), dan asam oleat. Kelompok ketiga berisi SNEDDS piroksikam dengan dosis 20 mg/KgBB. Berikutnya kelompok 4 berisi pensuspensi piroksikam yang berisi PVP 1%, penggunaan PVP ini dipilih karena sifat bioadhesif (muko adhesif) yang rendah dibanding pensuspensi *Sodium Carboxy Methyl Cellulose* (CMC-Na) yang lebih sering digunakan sebagai pensuspensi

(Yadav *et al*, 2014). Kelompok kelima berisi asam oleat, pada kelompok ini bertujuan untuk membuktikan apakah asam oleat dapat menimbulkan tukak/ulkus atau tidak. Kelompok ke enam adalah suspensi piroksikam dengan dosis 20 mg/KgBB atau setara dengan 14 mg/mL.

Perlakuan terhadap hewan uji ini dilakukan satu hari saja, setelah pembuatan setiap sediaan, setiap sediaan disuntik oral ke hewan uji pada masing-masing perlakuan. Kemudian didiamkan 5 jam setelah perlakuan tersebut. Setelah 5 jam, tikus dikorbankan dan dibedah bagian abdomen dan diambil bagian lambung untuk dilakukan pengamatan ulserogenik.

D. Pengamatan Imunohistokimia TNF- α

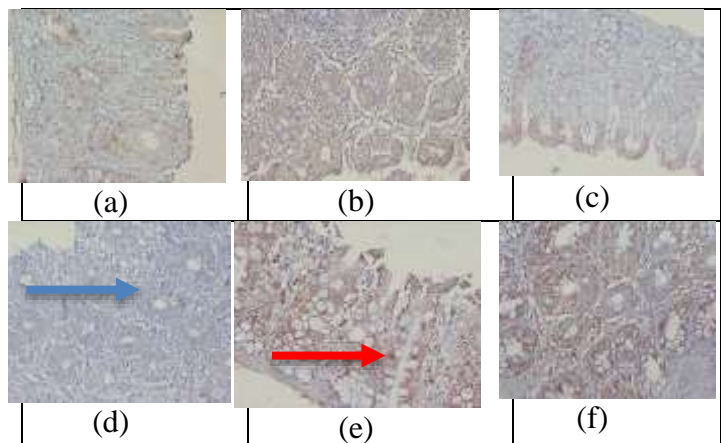
Teknik yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik imunoenzim. Maksud dari teknik ini adalah teknik yang berdasarkan ikatan enzim dengan antibodi spesifik (*enzyme-antibody-conjugated*), ikatan antienzim antibodi yang diikuti dengan enzim homolognya dan kompleks enzim-antienzim. Keseluruhan dari teknik ini digunakan secara histologi untuk visualisasi atau pelabelan spesimen jaringan dan mengetahui letak antigen. Pada teknik imunoenzim ini terdapat berbagai macam teknik yang dapat dilakukan, seperti *direct immunoenzyme staining*, *indirect immunoenzyme staining*, Teknik *enzim-antienzim*, dan teknik *avidin-biotin*. Teknik yang sering digunakan yaitu

teknik *direct immunoenzyme staining* (teknik langsung) dan *indirect immunoenzyme staining* (teknik tidak langsung) (Rahayu, 2004).

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan *indirect immunoenzyme staining* (teknik tidak langsung). Metode tidak langsung (*indirect method*) menggunakan dua macam antibodi, yaitu antibodi primer (tidak berlabel) dan antibodi sekunder (berlabel). Antibodi primer bertugas mengenali antigen yang diidentifikasi pada jaringan (*first layer*), sedangkan antibodi sekunder akan berikatan dengan antibodi primer (*second layer*). Antibodi kedua merupakan anti-antibodi primer. Pelabelan antibodi sekunder diikuti dengan penambahan substrat berupa kromogen. Kromogen merupakan suatu gugus fungsi senyawa kimiawi yang dapat membentuk senyawa berwarna bila bereaksi dengan senyawa tertentu (Adi, 2013). Antibodi primer yang digunakan adalah *Rabbit Polyclonal Antibody TNF- α* , fungsi dari antibodi primer untuk mengenali antigen yang diidentifikasi pada jaringan (Winata, 2013). Pada penelitian ini menggunakan teknik pendeteksi antigen secara imunologi yaitu ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*). Prinsip kerja teknik ini adalah dengan penambahan *second antigen-specific antibody*, atau

antibodi sekunder yang akan bereaksi dengan substrat agar menghasilkan pewarnaan (Hapsari, 2018). Dalam hal ini TNF- α akan memberikan warna coklat pada inti sel yang terekspresi.

Setelah itu dilakukan pemotretan IHC di Laboratorium FKH UGM, pemotretan dilakukan sebanyak 3 lapang pandang untuk setiap lambung dan menggunakan perbesaran 400x. Langkah selanjutnya yaitu perhitungan sel, perhitungan sel dilakukan dengan menggunakan aplikasi imageJ dengan menu IHC profiler. Pada menu IHC profiler ini dengan memasukkan gambar atau hasil pemotretan IHC dapat otomatis tersaji jumlah ekspresi TNF- α .



Gambar.1 Hasil Pemotretan IHC

Keterangan :

- (a) potret IHC kelompok aquadest
 - (b) potret IHC kelompok basis SNEDDS piroksikam
 - (c) potret IHC kelompok SNEDDS piroksikam
 - (d) potret IHC kelompok PVP 1%
 - (e) potret IHC kelompok asam oleat
 - (f) potret IHC kelompok suspensi piroksikam
- : tidak terekspresi TNF- α
→ : terekspresi TNF- α

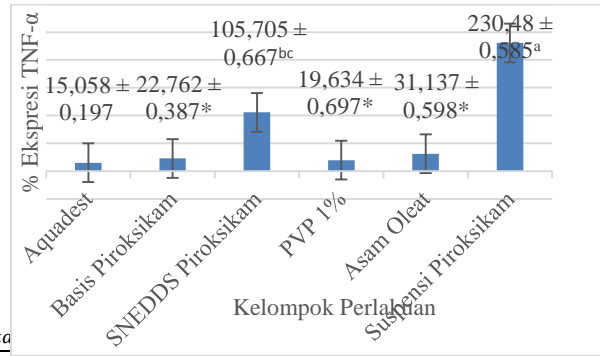
Setelah didapatkan jumlah sel pada setiap kelompok, data yang diperoleh digunakan untuk perhitungan persen inhibisi dan dianalisis menggunakan SPSS versi 16. Berikut adalah perhitungan persen inhibisi

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{rata2 kelompok suspensi piroksikam} - \text{rata2 kelompok SNEDDS piroksikam}}{\text{rata2 kelompok suspensi piroksikam}} \times 100\%$$

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{230,480 - 105,705}{230,480} \times 100\% = 54,14\%$$

Hasil analisis menggunakan SPSS versi 16 dapat dilihat pada Lampiran 6. Uji normalitas dilakukan menggunakan analisis uji *Shapiro Wilk* untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak. Nilai signifikan pada semua kelompok menunjukkan lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$) sehingga data persentase ekspresi TNF- α terdistribusi normal. Data selanjutnya diuji homogenitas menggunakan analisis uji Levene. Hasil uji menunjukkan bahwa data memenuhi homogenitas dengan nilai signifikansi 0,272 ($p > 0,05$). Oleh karena itu, dapat diuji parametrik dengan analisis *one way ANOVA* dan *post hoc Least Significant Different*.

Nilai signifikansi pada uji ANOVA yaitu 0,000 ($p < 0,005$) sehingga hasil uji menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Berikut adalah grafik nilai persen imuoreaktivitas ekspresi TNF- α pada setiap kelompok.



Gambar 2. Nilai Persen Ekspresi TNF- α ($p < 0,05$)

Keterangan : *Menunjukkan adanya perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol normal

^aMenunjukkan adanya perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok suspensi

^bMenunjukkan adanya perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok basis SNEDDS

^cMenunjukkan adanya perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok suspensi piroksikam

Berdasarkan diagram di atas, dapat dilihat bahwa ekspresi TNF- α paling tinggi ke rendah secara berurutan adalah suspensi piroksikam, SNEDDS piroksikam, asam oleat, basis, PVP 1%, dan yang paling rendah adalah pada kelompok aquadest. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pembuatan sediaan SNEDDS piroksikam terbukti dapat menurunkan ekspresi TNF- α pada kasus ulserogenik.

Pada kelompok asam oleat persentase ekspresi TNF- α mencapai 31,137%; hal ini dapat disebabkan karena menurut penelitian Mandel *et al.* (1994) mengungkapkan bahwa asam oleat tidak dapat melindungi lambung secara signifikan pada lambung yang diinduksi

dengan etanol.

Alasan dibuatnya sediaan SNEDDS piroksikam yang paling utama adalah untuk mengurangi efek samping ulkus atau tukak pada lambung. Pada dasarnya, prinsip kerja sediaan SNEDDS adalah dengan ukuran molekul yang nanometer, sehingga ukuran permukaan obat akan lebih luas. Ukuran permukaan yang semakin luas akan mempercepat absorpsi piroksikam terhadap membran. Oleh karena itu diharapkan singgahnya obat di lambung akan lebih cepat, sehingga lebih cepat terserap oleh membran dan mengurangi efek samping obat. Berkurangnya efek samping dari piroksikam di sini ditandai dengan berkurangnya tukak atau ulkus pada lambung yang berbanding lurus dengan menurunnya ekspresi TNF- α sebagai parameter.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa sediaan SNEDDS piroksikam dapat menurunkan ekspresi TNF- α sebesar 54,14% dari sediaan suspensi piroksikam pada lambung tikus galur *Wistar*.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 2008, *ISO Farmakoterapi*, 428, PT. ISFI Penerbitan, Jakarta.

Blagden, N., de Matas, M., Gavan, P.T., and York, P., 2007, Crystal Engineering of Active Pharmaceutical Ingredients to Improve Solubility and Dissolution Rates, *Adv. Drug Del. Rev.*, 59(7): 617-630.

Bukhari M.H., Khalil J., Qamar S., Qamar, Z., Zahid, M. Ansari N., and Bakhshi, I.M., 2011, Comparative gastroprotective effects of natural honey, *Nigella sativa* and cimetidine against acetylsalicylic acid induced gastric ulcer in albino rats, *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, 21(3):151–156.

Dewi, E.C., 2016. Pengembangan Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Piroksikam menggunakan Fase Minyak VCO, *Skripsi*, Program Sarjana Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

Dipiro, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., and Pasey, L.M., 2005, *Pharmacotherapy : A Pathofisiologic Approach, Edisi 6*, 630-634, The MacGraw Hill Companies, Inc., New York.

Febrianti R.V., dan Wahyuningsih, I., 2013, Efek Ulserogenik dispersi padat Ibuprofen-polivinil pirolidon (PVP) pada tikus putih jantan, *Pharmaciana*, 3(2): 29-36.

Hapsari, E.A., 2018, Pengaruh Pemberian *Self Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) Piroksikam terhadap ekspresi protein COX-2 pada lambung tikus galur *Sprague dawley*. *Skripsi*. Program Sarjana. Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

Landefeld, K., Gonzales, H., and Sander, G., 2016, Hypertensive Crisis: The Causative Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, *Journal of Clinical Case Reports*, 6(7): 1-3.

Lanza, F., Chan, F., and Quigley, E., 2009, Guideline for Prevention of NSAID Related Ulcer Complications. *The American Journal of Gastroenterology*, 104: 728-738.

Makadia, H.A., Bhatt, A.Y., Parmar, R.B., Paun, J.S., Tank, H.M., 2013, Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System

(SNEDDS): Future Aspects, *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 3 (1), 21-27.

Rahayu, Y.C., Auerkari, E.I., 2004, *Tehnik Imunohistokimia sebagai Pendeteksi Spesifik Penyakit Infeksi*, Fakultas Farmasi UI, 11(2):76-82.

Souto, G.R., Celso, M.Q.J., Mauro, H.N.G.A., Fernando, O.C., Ricardo, A.M., 2014, Proinflammatory, Th1, Th2, Th17 Cytokines and Dendritic Cells: A Cross-sectional Study in Chronic Periodontitis, NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3966767/>

Winata, I.G.S., 2013, Ekspresi Protein 53 (P53) tidak berhubungan dengan stadium kanker ovarium, *Tesis*, Program Pasca Sarjana Universitas Udayana, Denpasar.

Wulandari, S., 2017, Pengaruh Pembentukan Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Piroksikam terhadap efek ulserogenik piroksikam pada tikus putih jantan galur wistar, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

Yadav, P.S., Yadav, E., Verma, A., Amin, S., 2014, Development, Characterization, and Pharmacodynamic Evaluation of Hydrochlorothiazide Loaded Self Nanoemulsifying Drug Delivery System. *Sci. World J.* 2014, e274823.

Zaerosa, N.F., 2016, Pengembangan Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Piroksikam Menggunakan Fase Minyak Asam Oleat, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

