

Aktivitas Anti-Angiogenik Alpukat dan Minyak Sawit dalam Nanoemulgel Melalui Uji Membran Korioallantoik

Putri Giri Anjani ¹, Hariyadi Dharmawan Syahputra^{2*}, Edy Fachrial³, Reghita Claudia Manalu⁴, Iksen⁵

¹Sarjana Farmasi Klinis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia

²Departemen Farmasi Klinis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia

³Departemen Biomedis, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Gigi, Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia

⁴Departemen Kedokteran, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Gigi, Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia

⁵Departemen Farmasi, Fakultas Teknologi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Senior Medan, Medan, Indonesia

hariyadidharmawansyahputra@unprimdn.ac.id

ABSTRACT

Angiogenesis is a fundamental hallmark of cancer progression and metastasis, and it could be prevented through chemomedication or natural products. Natural lipid-based bioactive incorporated into advanced drug delivery system have gained increasing attention for their full potential to modulate tumor/cancer associated angiogenesis. Avocado oil and crude palm oil are rich in bioactive lipid fraction with reported antioxidant and antiproliferative properties; however their comparative antiangiogenic efficacy when formulated as nanoemulgel systems remains unexplored. This study aimed to comparatively evaluate the antiangiogenic activity of avocado oil and crude palm oil bioactive compound formulated in nanoemulgel using Chorioallantoic Assay Membrane as model. Avocado and crude palm oil formulated in nanoemulgel drug delivery systems with high emulsification and gel incorporation. Physicochemical properties from nanoemulgel gave a good results in stability especially in F5 with particle size of 280 nm and optimum viscosity to be 16.652 mPas at 100 rpm. The appearance of the formula was yellowish white with expectable pH range from 5.3 to 6.3. The optimal formulation has good spreadability coefficient and, good antiangiogenic activity also measured in decrease of blood vessel count around 34.5% and erythrocyte presents in endothelium. This study report the antiangiogenic effect of from natural lipid based bioactive such as avocado oil and crude palm oil have a potential candidate for future anti cancer therapy.

Keywords : Anti Angiogenic, Crude Palm Oil, Avocado Oil, Nano Emulgel, Chorioallantoic Assay Membrane.

ABSTRAK

Angiogenesis adalah ciri khas mendasar dari perkembangan dan metastasis kanker, dan dapat dicegah melalui kemoterapi atau produk alami. Bioaktif berbasis lipid alami yang dimasukkan ke dalam sistem penghantaran obat canggih telah mendapatkan perhatian yang semakin meningkat karena potensi penuhnya untuk memodulasi angiogenesis yang terkait dengan tumor/kanker. Minyak alpukat dan minyak sawit mentah kaya akan fraksi lipid bioaktif dengan sifat antioksidan dan antiproliferasi yang dilaporkan; namun, efikasi antiangiogenik komparatif mereka ketika diformulasikan sebagai sistem nanoemulgel masih belum dieksplorasi. Studi ini bertujuan untuk mengevaluasi secara komparatif aktivitas antiangiogenik dari minyak alpukat dan senyawa bioaktif minyak sawit mentah yang diformulasikan dalam nanoemulgel menggunakan Chorioallantoic Assay Membrane sebagai model. Alpukat dan minyak sawit mentah diformulasikan dalam sistem penghantaran obat nanoemulgel dengan emulsifikasi tinggi dan inkorporasi gel. Sifat fisikokimia dari

nanoemulgel memberikan hasil yang baik dalam stabilitas terutama pada F5 dengan ukuran partikel 280 nm dan viskositas optimum sebesar 16,652 mPas pada 100 rpm. Penampilan formula berwarna putih kekuningan dengan rentang pH yang diharapkan antara 5,3 hingga 6,3. Formulasi optimal memiliki koefisien penyebaran yang baik dan aktivitas antiangiogenik yang baik juga diukur dengan penurunan jumlah pembuluh darah sekitar 34,5% dan eritrosit yang berada dalam endotelium. Laporan studi ini melaporkan efek antiangiogenik dari bioaktif berbasis lipid alami seperti minyak alpukat dan minyak sawit mentah yang memiliki potensi sebagai kandidat untuk terapi anti kanker di masa depan.

Kata kunci : Anti-angiogenik, Minyak Sawit Mentah, Minyak Alpukat, Nano-emulgel, Uji Membran Korioalantois

PENDAHULUAN

Melalui pengiriman oksigen dan nutrisi, angiogenesis patologis memainkan peran penting dalam perkembangan, progresi, dan penyebaran metastasis tumor, memungkinkan jaringan ganas yang berproliferasi untuk berkembang biak dengan cepat. Pendekatan terapeutik terkait angiogenesis kini sangat penting untuk onkologi kontemporer. Namun, resistensi farmakologis, efek sitotoksik selektif, atau terapi yang mahal sering dikaitkan dengan obat anti-angiogenik. Akibatnya, menemukan senyawa alami bioaktif dengan sifat anti-angiogenik dan menggabungkannya ke dalam metode pengiriman obat mutakhir yang meningkatkan bioavailabilitas dan spesifisitas target sangat penting. Perawatan seluler dan biomolekuler menargetkan berbagai target, termasuk faktor adhesi, faktor pertumbuhan, dan kemokin. Target terapeutik anti-angiogenik yang paling umum meliputi antibodi monoklonal dan penghambat tirosin kinase yang menargetkan jalur Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Terapi-terapi ini dibatasi oleh beberapa kekurangan, termasuk efek samping, resistensi obat yang didapat, kekambuhan tumor, dan biomarker, yang telah mendorong penelitian berkelanjutan tentang mekanisme aktivasi angiogenesis tumor dari faktor nuklir eritroid 2-terkait (Nrf2) dan retikulum endoplasma. Sementara itu, minyak alpukat yang mengandung sejumlah besar cis verbenol berpotensi bertindak sebagai uji angiogenetik (Dinkova-Kostova & Copple, 2023; Fristiohady *et al.*, 2025; Lin *et al.*, 2023; Syahputra *et al.*, 2022).

Meskipun memiliki potensi biologis untuk aktivitas anti-angiogenik, produk alami lipofilik dibatasi oleh kelarutan dalam air yang

buruk, stabilitas, dan penetrasi jaringan. Untuk mengatasi tantangan ini, penelitian ini menggunakan gel nano-emulsi sebagai sistem penghantaran yang sedang berkembang untuk meningkatkan penghantaran obat-obatan lipofilik, terutama dalam aplikasi kulit, di mana peningkatan penetrasi kulit akan bermanfaat dalam melawan melanoma kulit. Meskipun minyak alpukat dan minyak sawit mentah menunjukkan aktivitas anti-angiogenik, keduanya dapat bekerja bersama untuk meningkatkan stabilitas gel nano-emulsi (Gupta *et al.*, 2024; Timur, 2023).

Studi ini berinovasi dalam memanfaatkan potensi komponen bioaktif alpukat dan minyak sawit mentah secara efektif dalam bentuk gel nano-emulsi untuk aktivitas anti-angiogenik. Dengan menjembatani kesenjangan dalam pengobatan herbal dengan pengiriman obat yang canggih. Formula optimal menunjukkan ukuran nanopartikel yang tepat diikuti dengan karakterisasi sifat fisikokimianya. Kemudian dilakukan uji histopatologi pada Chorioallantoic Assay Membrane (CAM). Selanjutnya, investigasi molecular docking dan analisis prediksi target untuk lebih memahami mekanisme anti-angiogenik di pembuluh darah (Dhayer *et al.*, 2024).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Minyak sawit mentah dan minyak alpukat yang digunakan diperoleh dari oleokimia (Bratachem), sedangkan eksipien lainnya disediakan dari Laboratorium Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia. Studi embrio ayam untuk metode CAM menggunakan embrio ayam berumur 5

hari setelah pembuahan dari unggas yang berlokasi di Brastagi, Sumatera Utara.

Formulasi nanoemulgel dari alpukat dan minyak sawit

Tabel 1. Komposisi dari formulasi nanoemulgel

Bahan	F1	F2	F3	F4	F5
Minyak sawit	0	15	0	15	5
Minyak alpukat	0	0	15	5	15
Basis gel	60 g	60 g	60 g	60 g	60 g
Tween 80	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Methyl paraben (Nipagin)	0.1 g	0.1 g	0.1 g	0.1 g	0.1 g
Propyl paraben (Nipasol)	0.1 g	0.1 g	0.1 g	0.1 g	0.1 g
Aquadest	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL

Carbopol 940 digunakan sebagai formula gel dasar dengan konsentrasi 2%. Untuk fase emulsi, Tween 80 dimasukkan ke dalam fase minyak untuk berfungsi sebagai pengemulsi terhadap formula berbasis air. Untuk meningkatkan penetrasi ke dalam pembuluh darah, emulsi tersebut dikenai gelombang ultrasonik dengan frekuensi 0 selama 30 menit untuk meningkatkan ukuran nanopartikel dengan bathosonik (Branson). Setelah campuran homogen diperoleh, masing-masing menjalani uji karakterisasi fisikokimia selama 3 bulan berturut-turut (Donthi dkk., 2023).

Uji Keasaman dan penampilan fisik dari nanoemulgel

Penampilan fisik formulasi diperiksa pada Suhu dan Tekanan Ruangan (RTP) selama 2 bulan pada suhu 25 ± 2 °C, keasaman diukur dengan pH meter digital (Hanna HI98107) sebanyak tiga kali untuk setiap formulasi dan nilai rata-rata yang digunakan sebagai acuan (Kaur dkk., 2010).

Uji viskositas dari nanoemulgel

Viskositas untuk setiap formulasi yang berbeda dianalisis menggunakan viskometer digital. Sampel ditempatkan dalam gelas beker untuk setiap formula, dengan spindel nomor 4 dijatuhkan tegak lurus di tengah gelas beker. Viskositas ditentukan pada 50 rpm. Tiga kali pembacaan rata-rata dipertimbangkan untuk setiap pengukuran (Kaur dkk., 2010).

Uji kemampuan penyebaran dari nanoemulgel

Uji daya sebar untuk setiap formulasi yang berbeda dianalisis dengan dua slide kaca yang berbeda (7,5 x 2,5 cm). Di atas slide kaca pertama ditempatkan 1 gram nanoemulgel, dan slide kaca kedua diletakkan di atas slide kaca pertama. Selanjutnya, beban 100 gram diletakkan di atas slide kaca kedua (Kaur dkk., 2010).

Nanoemulgel particle size test

Setelah diperoleh formula yang stabil, pengujian pengukuran ukuran partikel dilakukan di Pusat Pengembangan Nanoteknologi Universitas Sumatera Utara, Medan. Pengujian dilakukan dengan menggunakan alat pengukur ukuran partikel (FRITSCH; Nano Tec/ Micro Tec plus) untuk kontrol kualitas. Suhu diatur pada suhu ruangan, dan volume 5 ml dituangkan ke dalam alat tersebut (Savale K.S., 2015).

Persiapan embrio ayam

Sebanyak 50 butir telur fertil berumur 5 hari setelah pembuahan yang dikumpulkan dari unggas di Berastagi dibersihkan dan disimpan dalam kondisi aseptik. Rongga udara dikeringkan untuk mengurangi jumlah albumin agar embrio ayam dapat bergerak ke atas. Embrio disimpan dalam lingkungan inkubator terkontrol selama 2 hari lagi dengan larutan buffer fosfat yang diinduksi lebih lanjut untuk meningkatkan kemajuan angiogenesis pembuluh darah. CAM diberi penisilin-streptomisin 10% untuk mencegah kerusakan akibat pertumbuhan mikroorganisme (Villanueva & Sikora, 2022).

Uji antiangiogenik

Pengujian dilakukan selama inkubasi hari ke-10. Desain disusun untuk kelompok perlakuan sebagai berikut. Kelompok yang terdiri dari setiap formula diuji pada embrio ayam dan dipelihara dalam inkubator selama 72 jam pada suhu 38°C. Preparat histologi mikroskopis (Sun dkk., 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

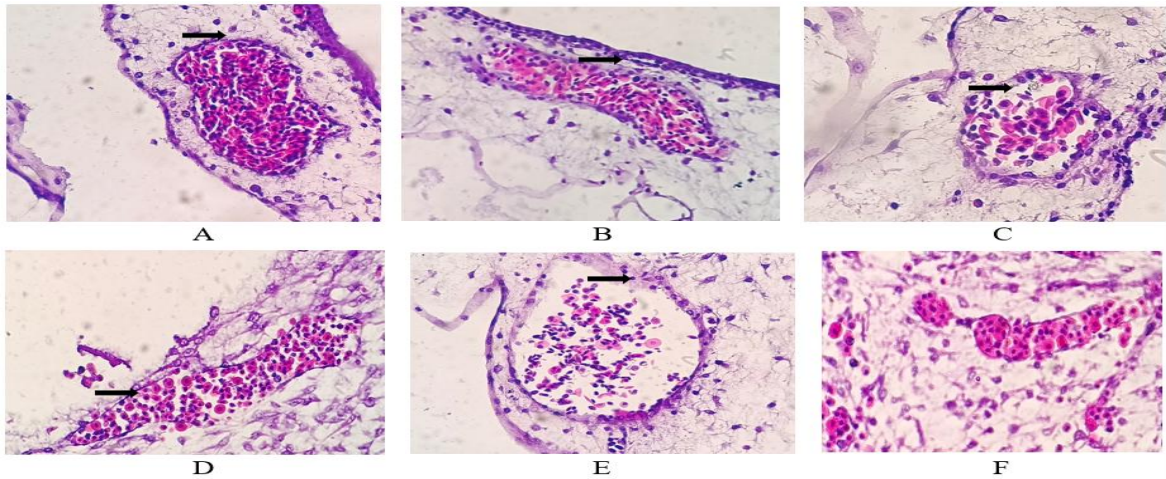
Berbagai konsentrasi minyak alpukat dan minyak sawit diuji dalam penelitian ini dengan konsentrasi yang bervariasi dalam setiap formula terhadap embrio ayam. Sebelum mengalami penghambatan pembuluh darah, setiap formula harus mencapai kondisi stabilitas yang tepat selama dan setelah

pengamatan 2 bulan. Seperti yang terlihat pada tabel 2, setiap formula mengikuti kondisi yang tepat dengan ukuran partikel yang tepat untuk ukuran tetesan nanoemulsi di bawah 200 nm, keasaman berkisar dari 5 hingga 6 bersama dengan viskositasnya masing-masing (Bose *et al.*, 2025; Mah *et al.*, 2024).

Hasil setiap pengujian menunjukkan bahwa semua nanoemulgel menunjukkan emulsi homogen, terutama pada formula F5 yang memiliki stabilitas dan kemampuan penyebaran terbaik dibandingkan dengan F1 sebagai kontrol. Sedangkan untuk F3, menghasilkan emulsi yang tidak merata karena adanya tetesan mikro yang terlihat, menunjukkan emulsi yang relatif rendah dibandingkan dengan yang lain.

Tabel 2. Hasil Uji Stabilitas dan Karakterisasi Setelah diobservasi selama 2 bulan

Formula	Ukuran (µm)	pH	Viskositas (cPs)	Daya sebar (cm)	Warna	Homogenitas
F1	146,3	5,69	1.378	4.51	Kuning terang	Homogen
F2	159,0	6,44	1.631	3.51	Merah jingga	Homogen
F3	193,0	6,17	1.585	3.27	Jingga	Tidak homogen
F4	150,0	5,76	1.734	3.90	Kuning jingga	Homogen
F5	126,0	6,30	1.652	4.26	Merah jingga	Homogen



Gambar.1 Gambar hasil histologi dari setiap hasil aktivitas antiangiogenik pada pembuluh darah dari (A), F1; (B), F2; (C), F3; (D), F4; (E), F5; (F), kelompok kontrol untuk masing-masing formula.

Dari hasil histologis pada gambar 1, pada gambar A dan B, ketebalan endotel pembuluh darah masih ada, dengan sejumlah sel darah merah mengisi sebagian besar lumen. Pada gambar D, meskipun terjadi ruptur tetapi lumen masih dianggap penuh dengan eritrosit.

Proses anti-angiogenesis terjadi secara signifikan pada gambar C dan E karena ruptur pembuluh darah dan jumlah sel darah merah yang rendah menyebabkan penurunan proses vaskularisasi. Proses angiogenetik dapat terjadi karena kandungan minyak alpukat yang kaya

fitosterol yang dapat menekan siklus siklooksigenase 2 (COX-2) dan malondialdehid sehingga dapat menghambat proses pensinyalan endotel vaskular. Sedangkan untuk gambar A dan B, proliferasi pembuluh darah terjadi karena adanya asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) dan tokotrienol, yang akan memperbaiki dan melindungi pembuluh darah dari ruptur seperti yang terlihat pada penebalan endotel pembuluh darah (Ma *et al.*, 2022; Murray, 2024).

KESIMPULAN

Penggabungan minyak sawit dan alpukat ke dalam matriks nanoemulgel secara efektif menghambat sinyal angiogenik pada model CAM. Keunggulan metode nano-pengantaran berbasis lipid dalam menstabilkan fitokompound ditunjukkan oleh kemampuan formulasi untuk menghambat pertumbuhan pembuluh darah tanpa menyebabkan toksisitas sistemik. Meskipun temuan saat ini memberikan dasar farmakologis yang kuat untuk kemampuan anti-angiogeniknya, penelitian molekuler lebih lanjut diperlukan untuk menjelaskan jalur pensinyalan yang tepat yang ditargetkan oleh formulasi ini, seperti penekanan VEGF. Studi ini menekankan bagaimana minyak nabati dapat digunakan untuk menciptakan perawatan angiostatik topikal generasi berikutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Bose, D., Olorunlana, A., Abdel-Latif, R., Famurewa, A. C., & Othman, E. M. (2025). Virgin coconut oil and its lauric acid, between anticancer activity and modulation of chemotherapy toxicity: A review. *Journal of Xenobiotics*, 15(4), 126.
- Dhayer, M., Jordao, A., Dekiok, S., Cleret, D., Germain, N., & Marchetti, P. (2024). Implementing chicken chorioallantoic membrane (CAM) assays for validating biomaterials in tissue engineering: Rationale and methods. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 112(11), e35496.
- Dinkova-Kostova, A. T., & Copple, I. M. (2023). Advances and challenges in therapeutic targeting of NRF2. *Trends in Pharmacological Sciences*, 44(3), 137–149.
- Donthi, M. R., Munnangi, S. R., Krishna, K. V., Saha, R. N., Singhvi, G., & Dubey, S. K. (2023). Nanoemulgel: A novel nano carrier as a tool for topical drug delivery. *Pharmaceutics*, 15(1), 164.
- Fristiody, A., Payuhakrit, W., & Asasutjarit, R. (2025). Effect of thermoresponsive quercetin-nanoemulgel eye drop on VEGF-A-induced corneal neovascularization: In vitro and in vivo investigations. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 107968.
- Gupta, N., Gupta, G. D., Razdan, K., Albekairi, N. A., Alshammari, A., & Singh, D. (2024). Development of nanoemulgel of 5-Fluorouracil for skin melanoma using glycyrrhizin as a penetration enhancer. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 32(4), 101999.
- Kaur, L.P., Guleri, T.K. (2013). Topical gel: A Recent Approach for Novel Drug Delivery, *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Science*, 3(17):1-5.
- Lin, L., Wu, Q., Lu, F., Lei, J., Zhou, Y., Liu, Y., Zhu, N., Yu, Y., Ning, Z., & She, T. (2023). Nrf2 signaling pathway: Current status and potential therapeutic targetable role in human cancers. *Frontiers in Oncology*, 13, 1184079.
- Ma, J., Zhang, C., Liang, W., Li, L., Du, J., Pan, C., Chen, B., Chen, Y., & Wang, Y. (2022). ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids regulate the proliferation, invasion and angiogenesis of gastric cancer through COX/PGE signaling pathway. *Frontiers in Oncology*, 12, 802009.
- Mah, S. H., Sundrasegaran, S., & Lau, H. L. N. (2024). Topical Nanoemulsion Hydrogel Formulated from Supercritical Fluid Extracted Palm-Pressed Fiber Oil and Virgin Coconut Oil with Antioxidant and Antibacterial Effects. *Journal of Oleo Science*, 73(4), 489–502.
- Murray, M. (2024). Omega-3 polyunsaturated fatty acid derived lipid mediators: A comprehensive update on their application in anti-cancer drug discovery.

- Expert Opinion on Drug Discovery*, 19(5), 617–629.
- Savale, K.S. (2015). A Review-Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS), *International Journal of Research in Pharmaceutical and Nano Science*, 4(6): 385-397.
- Sun, X., Ding, Y., Yan, X., Wu, L., Li, Q., Ceng, N., Qiu, Y., Zhang, M., 2004, Angiogenic synergistic effect of basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in an in vitro quantitative microcarrier-based three-dimensional fibrin angiogenesis system, *World J Gastroenterol* 2004; 10(17): 2524-2528
- Syahputra, H. D., Masfria, M., Hasibuan, P. A. Z., & Iksen, I. (2022). In silico docking studies of phytosterol compounds selected from *Ficus religiosa* as potential chemopreventive agent. *Rasayan J Chem*, 15(2), 1080–1084.
- Timur, S. S. (2023). Anticancer potential of novel nanoemulgel formulations in melanoma. *Fabad Eczacılık Bilimler Dergisi*, 48(3), 443–458.
- Villanueva, H., & Sikora, A. G. (2022). The chicken embryo chorioallantoic membrane (CAM): A versatile tool for the study of patient-derived xenografts. In *Mammary Stem Cells: Methods and Protocols* (pp. 209–220). Springer.