

AKTIVITAS ANALGESIK PATCH TRANSDERMAL EKSTRAK ETANOL BUAH *PIPER NIGRUM L* DENGAN BEBERAPA PENINGKAT TRANSPOR PADA MENCIT

ANALGESIC ACTIVITY OF TRANSDERMAL PATCH ETHANOL EXTRACT PIPER NIGRUM L FRUCTUS WITH SOME ENHANCERS ON MICE

Lucia Hendriati^{1*}, Iwan Sahrial Hamid², Teguh Widodo¹, Regiskha Hermandanie Surya¹, Alif
Ekacahya Wahyudi¹, Dwi Damayanti Rasdianto¹

¹ Fakultas Farmasi Universitas
Katolik Widya Mandala,
Surabaya

² Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga,
Surabaya

Submitted: 19-09-2021

Revised: 02-02-2021

Accepted: 15-03-2021

Corresponding author:
luciahendriati@gmail.com

ABSTRAK

Buah lada hitam (*Piper nigrum L*) dengan senyawa berkhasiat piperin diketahui memiliki efek analgesik. Ekstrak etanol *Piper nigrum L* diformulasikan dalam bentuk patch transdermal untuk mengurangi efek samping pemberian analgesik per oral. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh Na lauril sulfat, Tween 80 dan isopropil miristat sebagai peningkat transpor pada patch transdermal ekstrak etanol *Piper nigrum L*. Pengujian efek analgesik dilakukan pada mencit dengan metode geliat setelah mencit diinduksi dengan asam asetat. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah geliat dan jumlah makrofag yang diperoleh dari cairan peritoneal mencit setelah akhir percobaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Piper nigrum* dalam sediaan patch transdermal memiliki efek analgesik. Penggunaan enhancer Na lauril sulfat 5%, Tween 80 5% dan isopropil miristat 6% dapat meningkatkan efek analgesik patch transdermal ekstrak buah lada hitam pada mencit.

Kata kunci: *Piper nigrum*, analgesik, transdermal, peningkat transpor

ABSTRACT

Piper nigrum L fructus with active compound piperin had been known have an analgesic effect. Ethanol extract of Piper nigrum formulated to transdermal patch to reduce side effect of analgesic oral. The aim of this research was to know the effect of sodium lauryl sulphate, Tween 80, isopropyl myristate as enhancer of transdermal patch ethanolic extract of Piper nigrum L. Analgesic effect of Piper nigrum L. carried out by writhing method after acetic acid induction in mice. Parameters used were the number of writhing and macrophage from peritoneal fluid of mice at the end of this study. Based on this study, ethanol extract of Piper nigrum had an analgesic effect. The used of sodium lauryl sulphate 5%, Tween 80 5%, isopropyl myristate 6% as enhancer increased the analgesic effect of Piper nigrum L.

Keywords: *Piper nigrum*, analgesic, transdermal, enhancer

1. PENDAHULUAN

Lada hitam (*Piper nigrum L*) di banyak negara digunakan sebagai penyedap dan pemberi aroma pada masakan. Beberapa senyawa yang terdapat dalam buah lada hitam antara lain asam askorbat, asam miristat, asam palmitat, champene, carvacrol, metil eugenol, alkaloid piperin, minyak atsiri, resin, piperidin dan pati. Komponen buah lada hitam dengan kadar terbesar adalah piperin (Singh et al., 2014; Meghwal et al, 2012; Tasleem et al., 2014).

Secara tradisional, lada hitam umumnya digunakan sebagai analgesik dan anti-inflamasi (Nahak & Sahu, 2011). Pada uji aktivitas analgesik lada hitam secara per oral dengan metode geliat, dosis ekstrak etanol lada 30 mg/kgBB, 50 mg/kgBB dan 70 mg/kgBB, menunjukkan efek analgesik yang sangat baik pada semua dosis dimana dosis 70 mg/kgBB menunjukkan efek analgesik maksimal (Bukhari et al., 2013). Penelitian lain menyebutkan, pengujian efek analgesik piperin yang diisolasi dari ekstrak etanol buah lada hitam dengan kadar 10 dan 15

mg/kgBB, terbukti piperin memiliki efek analgesik pada tikus yang diuji dengan metode geliat (Tasleem *et al.*, 2014).

Pada penelitian lain, piperin dilaporkan dapat bertindak sebagai peningkat penetrasi (*enhancer*) pada penghantaran curcumin secara transdermal. Selain meningkatkan fluks curcumin, fluks piperin pada permeasi *in vitro* juga meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi piperin sebagai peningkat penetrasi (Jantar *et al.*, 2018). Hal ini menunjukkan bahwa penetrasi piperin secara per kutan cukup baik sehingga piperin dapat dijadikan kandidat obat pada penghantaran transdermal.

Penggunaan rute transdermal memiliki keuntungan yaitu menurunkan fluktuasi kadar obat dalam darah dan menurunkan efek samping obat. Akan tetapi adanya stratum korneum pada kulit menyebabkan hambatan bagi absorpsi obat transdermal. Salah satu metode untuk meningkatkan jumlah obat terabsorpsi dengan menggunakan peningkat transpor. Peningkat transpor yang lazim digunakan adalah surfaktan. Secara umum, surfaktan meningkatkan penetrasi obat dengan beberapa mekanisme antara lain: meningkatkan fluiditas lipid, berinteraksi dengan keratin, mengubah permeabilitas kulit dengan beraksi pada fillamen heliks pada stratum corneum. Beberapa surfaktan yang umum digunakan antara lain adalah Na lauril sulfat, Tween 80 dan isopropil miristat (Pandey, 2014; Som *et al.*, 2012). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh beberapa peningkat penetrasi terhadap efek analgesik ekstrak etanol buah *Piper nigrum* L dalam bentuk patch transdermal.

2. METODE

Bahan

Ekstrak etanol buah *Piper nigrum* L. (Materia Medika Indonesia, Batu Malang, Jawa Timur), HPMC, natrium lauril sulfat, Tween 80, isopropyl myristat, propylenglycol, water for injection (PT. Otsuka Indonesia). Semua bahan kimia yang digunakan memiliki derajat farmasi.

Hewan Coba

Mencit jantan (*Mus musculus*) berusia antara 6-8 minggu dengan berat badan sekitar 20-30 gram (Pusat Veteriner Farma Surabaya).

Metode

Pembuatan ekstrak

Ekstrak diperoleh dari 400 g buah kering lada hitam dimaserasi dalam 2 L alkohol 60%, kemudian disaring dan dipisahkan dengan evaporator selama 2 jam hingga diperoleh ekstrak cair 65 ml.

Pembuatan patch topical ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.)

Tabel 1. Komposisi patch ekstrak etanol lada hitam (*Piper Nigrum* L.)

Komposisi	K (-)	F1	F2	F3	F4
<i>Piper nigrum</i> L. extract	-	2.8 g	2.8 g	2.8 g	2.8 g
HPMC	2%	2%	2%	2%	2%
Na lauril sulfat	-	-	5%	-	-
Tween 80	-	-	-	5%	-
Isopropyl myristat	-	-	-	-	6%
Propylenglycol	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Aquadest ad	30 ml	30 ml	30 ml	30 ml	30 ml

Kontrol (+): Paracetamol p.o dengan dosis 500 mg/kgBB

Formula patch transdermal ekstrak buah *Piper nigrum* sesuai dapat dilihat pada Tabel 1. HPMC dilarutkan dalam air dan didiamkan selama 24 jam, kemudian ditambahkan berturut turut propilenglikol, ekstrak *Piper nigrum* L, enhancer dan water for injection. Larutan dituang

ke dalam cawan petri dan didiamkan selama 24 jam hingga seluruh gelembung udara tidak ada. Larutan dioven pada suhu 40°C selama 48 jam. Lembaran patch dipotong 1 x 1 cm untuk ditempel pada punggung mencit.

Evaluasi mutu fisik sediaan patch

Evaluasi mutu fisik sediaan meliputi aerasi, tekstur permukaan, kerutan, warna, kejernihan, ketahanan lipat dan moisture content. Uji ketahanan lipat dilakukan dengan cara berulang kali melipat *patch* dengan ukuran film (2 cm x 2 cm) di tempat yang sama sampai patah atau dilipat 300 kali secara manual. Jumlah lipatan di tempat yang sama tanpa menyebabkan film patah adalah nilai daya tahan lipat (Garala et al., 2009). Uji kandungan air dilakukan dengan cara film ditimbang secara individual dan disimpan dalam desikator yang mengandung *silica* pada suhu kamar selama 24 jam. Persentase kadar air dihitung sebagai perbedaan antara berat awal dan akhir sehubungan dengan bobot akhir. Syarat kandungan air yang dikehendaki yaitu 1–10 % (Garala et al., 2013).

Adaptasi hewan coba

Mencit berjumlah 24 ekor yang belum pernah digunakan pada penelitian sebelumnya, diambil dengan sistem acak dengan cara diundi, sehat, dan mempunyai aktivitas normal. Sebelum digunakan dalam penelitian, mencit tersebut diadaptasikan selama 2 minggu dengan kondisi sama dengan perlakuan. Hewan dinyatakan sehat dan dapat digunakan untuk penelitian apabila tidak menunjukkan gejala-gejala sakit dan penurunan berat badan tidak lebih dari 10% berat awal. Mencit dipuaskan selama 12 jam dengan tetap diberikan air minum sebelum percobaan.

Uji analgesik

Mencit diinduksi dengan asam asetat 0,1 ml secara intraperitoneal sehingga timbul respons motorik berupa geliat (*writhing*). *Patch* sesuai formula (F1-F4 dan kontrol negatif) ditempelkan pada perut mencit yang telah dicukur bulunya. Pada kelompok kontrol positif, mencit mendapatkan parasetamol secara per oral. Mencit diamati selama 6 jam dan dihitung jumlah geliat setiap 15 menit.

Pengambilan cairan peritoneum dan sampel makrofag

Mencit yang telah di euthanasia diletakkan dalam posisi terlentang, kulit bagian perut dibuka dan dibersihkan dengan alkohol 70% kemudian disuntikkan 1 ml aquadest ke dalam rongga peritoneum, abdomen mencit dipijat kemudian rongga peritoneal dibuka dan cairan peritoneum mencit diambil. Cairan peritoneum yang diperoleh digunakan sebagai apusan makrofag yang akan diamati (Zhang et al., 2008).

Penentuan jumlah makrofag

Penentuan jumlah makrofag dilakukan dengan membuat apusan cairan peritoneal, preparat diwarnai dengan *wright stain* dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan dilakukan perhitungan makrofag (Zhang et al., 2008).

Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengamatan jumlah geliat dan makrofag yang telah teramati diuji dengan metode statistik parametrik. Analisa data dilakukan dengan analisa varian (ANOVA) dengan menggunakan uji fisher. Apabila terdapat perbedaan bermakna ($p \leq 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan. Analisis data dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS versi 16.0.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil evaluasi penampilan fisik *patch* masing-masing formula meliputi aerasi, tekstur permukaan, kerutan, warna, kejernihan, ketahanan lipat dan kadar air dapat dilihat pada Tabel 2. Secara umum, uji mutu fisik sediaan patch telah memenuhi persyaratan.

Tabel 2. Evaluasi sediaan *patch* ekstrak etanol lada hitam (*Piper nigrum* L.).

Parameter	K (-)	F1	F2	F3	F4
Aerasi	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Tekstur	Halus	Halus	Halus	Halus	Halus
Kerutan	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Warna	Bening	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat
Kejernihan	<i>Transparant</i>	<i>Translucent</i>	<i>Translucent</i>	<i>Translucent</i>	<i>Translucent</i>
Folding endurance	>300	>300	>300	>300	>300
Moisture content (%)	7.36 ± 0.25	4.36 ± 1.76	6,18 ± 3,48	5.3 ± 2.04	2.9 ± 0.4
Bobot/cm2 (g)	0.029 ± 0.001	0.031 ± 0.002	0,042± 0,005	0.033± 0.003	0.035 ± 0.005
Ketebalan (mm)	0.44 ± 0.012	0.50 ± 0.005	0,58± 0,009	0.50 ± 0.004	0.51 ± 0.007

Hasil uji efek analgesik

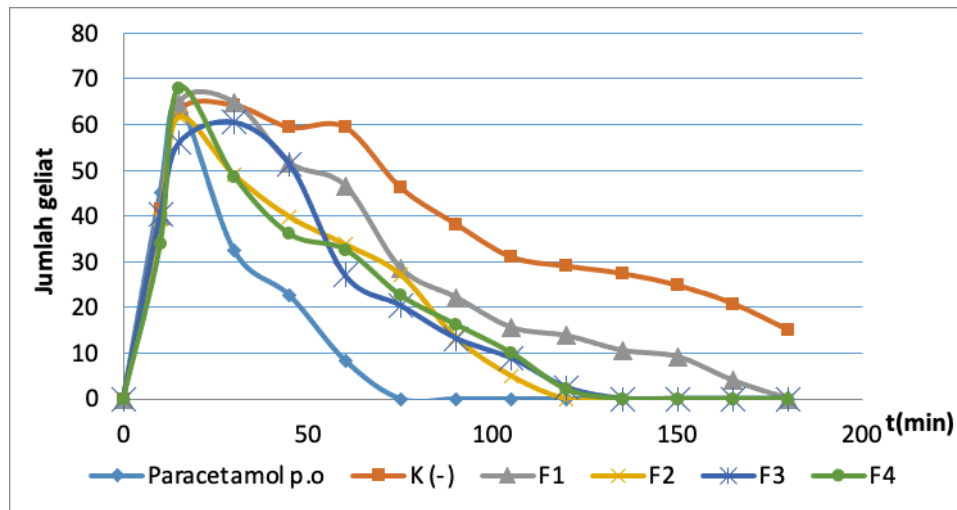
Hasil uji analgesik *patch* ekstrak etanol lada hitam dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1. Pada menit ke 15, merupakan titik awal geliat tikus setelah diinduksi asam asetat. Secara statistik, tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah geliat pada menit ke-15, menunjukkan bahwa seluruh kelompok tikus memberikan respon yang sama pada injeksi asam asetat. Pengamatan jumlah geliat selanjutnya dilakukan setiap 15 menit. Pada menit ke-30, pemberian paracetamol oral mulai menurunkan jumlah geliat tikus dan berbeda secara signifikan dengan kelompok perlakuan lainnya. Pada menit ini, mula kerja obat (*onset of action*) paracetamol oral sudah dimulai, sedangkan pada kelompok perlakuan dengan pemberian *patch* dan kontrol negatif belum dimulai. Mula kerja obat untuk *patch* transdermal ekstrak piper nigrum dimulai pada menit ke-45, baik dengan penambahan enhancer atau tanpa enhancer.

Perbedaan jumlah geliat yang tidak signifikan antara paracetamol oral dengan *patch* ekstrak lada hitam dimulai pada menit ke-120 yaitu pemberian F2 yang menggunakan enhancer Na lauril sulfat, diikuti F3 dengan enhancer Tween 80 dan F4 dengan enhancer isopropil miristat. Pada kelompok perlakuan dengan pemberian *patch* tanpa ekstrak (kontrol negatif), masih terjadi sejumlah geliat tikus hingga akhir pengamatan atau menit ke 180.

Tabel 3. Hasil perhitungan rerata jumlah geliat mencit

Waktu (menit ke-)	Geliat mencit (rerata) ± SD					
	K (+)	K (-)	F1	F2	F3	F4
10	45.20 ± 6,64	41.40 ± 5.41	40.00 ± 3.67	39.20 ± 4.32	40.20 ± 4.20	33.80 ± 21.81
15	64.00 ± 3.53 ^a	62.80 ± 7.12 ^a	62.80 ± 7.12 ^a	61.60 ± 4.22 ^a	56.00 ± 6.51 ^a	68.00 ± 6.78 ^a
30	32.40 ± 8.20 ^a	64.20 ± 22.20 ^b	64.80 ± 11.34 ^b	49.00 ± 2.12 ^{ab}	60.60 ± 8.82 ^b	48.60 ± 7.43 ^{ab}
45	22.60 ± 8.96	59.40 ± 17.14	51.60 ± 9.94	39.80 ± 3.56	51.40 ± 5.81	36.00 ± 6.28
60	8.40 ± 5.12 ^a	59.40 ± 10.96 ^c	46.60 ± 10.16 ^d	33.80 ± 4.32 ^c	27.00 ± 6.59 ^b	32.60 ± 6.54 ^c
75	0.00 ± 0.00	46.20 ± 9.27	28.60 ± 5.55	27.20 ± 5.22	20.40 ± 3.64	22.60 ± 7.56
105	0.00 ± 0.00	31.00 ± 8.09	15.60 ± 5.12	5.00 ± 1.87	8.80 ± 1.64	10.00 ± 6.96
120	0.00 ± 0.00 ^a	29.00 ± 8.09 ^c	13.80 ± 3.19 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	2.40 ± 2.50 ^a	2.00 ± 2.46 ^a
135	0.00 ± 0.00	27.40 ± 12.32	10.60 ± 2.79	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
150	0.00 ± 0.00	24.80 ± 9.31	9.20 ± 2.28	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
165	0.00 ± 0.00	20.80 ± 6.38	4.00 ± 1.58	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
180	0.00 ± 0.00 ^a	15.00 ± 4.47 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a

Keterangan: *Subscribe* yang berbeda menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan hanya dalam satu baris



Gambar 1. Grafik jumlah geliat mencit versus waktu

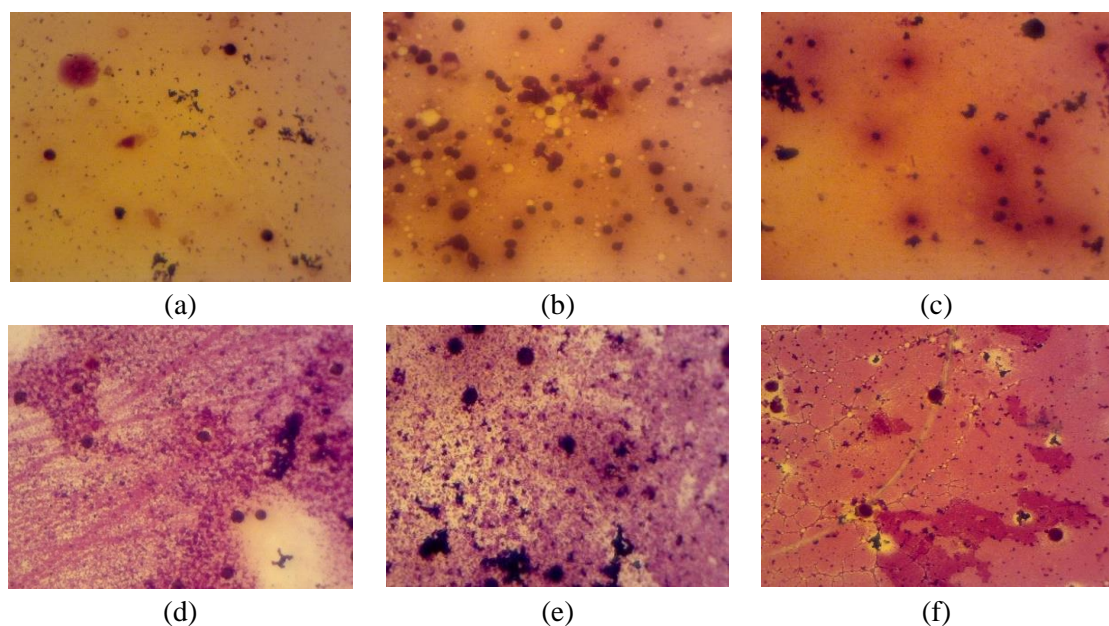
Berdasarkan data tersebut, penambahan peningkat transpor pada formula patch terbukti dapat meningkatkan efek analgesik pada hewan coba. Peningkat transpor Na lauril sulfat dapat meningkatkan efek analgesik lebih baik dibandingkan penggunaan peningkat transpor Tween 80 dan isopropil miristat. Natrium lauril sulfat merupakan surfaktan yang bersifat anionik yang cenderung lebih efektif dibandingkan peningkat transpor yang bersifat kation maupun nonionik dalam meningkatkan penetrasi molekul target ke dalam kulit, sedangkan Tween 80 dan isopropil miristat termasuk surfaktan nonionik. Peningkat transpor anionik bekerja melalui ikatan yang kuat dengan keratin dan lipid. Peningkat transpor anionik juga mengubah permeabilitas kulit dengan cara bekerja pada filamen heliks dan *stratum corneum* yang akan mengakibatkan terjadinya perpanjangan filamen dari keratin, sehingga terjadi perluasan membran yang akan meningkatnya permeabilitas (Pandey, 2014). Sedangkan peningkat transpor nonionik secara umum bekerja dengan dua cara, yaitu meningkatkan fluiditas atau mengekstrak gugus lipofilik *stratum korneum*, dan berikatan dengan filamen keratin sehingga mungkin menyebabkan gangguan dalam korneosit.

Berdasarkan gambar 1, tampak bahwa mula kerja (*onset of action*) piperin dalam sediaan patch transdermal lebih lambat dibandingkan sediaan per oral paracetamol. Sediaan per oral paracetamol menghasilkan jumlah geliat 0 pada menit ke 70, sedangkan sediaan transdermal piperin dengan peningkat transpor Na lauril sulfat pada menit ke 120 baru menghasilkan geliat yang tidak berbeda signifikan dengan paracetamol per oral. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa profil kadar obat dalam darah sediaan transdermal menyerupai obat oral lepas lambat, dimana mula kerja obat berjalan lebih lama dibandingkan dengan sediaan per oral (Yamamoto *et al.*, 2017). Berdasarkan hal ini, maka sediaan patch transdermal tidak sesuai bila diinginkan pengobatan dengan mula kerja cepat, tetapi lebih sesuai untuk pemeliharaan saja.

Hasil perhitungan rerata makrofag mencit

Hasil perhitungan rerata makrofag mencit yang telah di induksi asam asetat 1% dan diberikan perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 4. Berdasarkan pengamatan jumlah makrofag setelah menit ke 180, jumlah terbanyak terdapat pada sampel cairan peritonium dari kelompok kontrol negatif, diikuti patch lada hitam tanpa *enhancer*, patch dengan *enhancer* Tween 80 dan isopropil miristat, kemudian patch dengan *enhancer* Na lauril sulfat dan kontrol positif paracetamol per oral. Bila dibandingkan dengan kontrol negatif, pemberian ekstrak etanol lada hitam dapat menurunkan jumlah makrofag pada mencit yang di induksi dengan asam

asetat sebagai penginduksi nyeri dan zat asing pada mencit. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara jumlah makrofag pada patch dengan *enhancer* Na lauril sulfat dengan pemberian paracetamol oral. Hasil pengamatan jumlah makrofag ini sejalan dengan temuan efek analgesik pada menit ke 180.



Gambar 2. Karakteristik morfologi makrofag dari cairan peritoneum: (a) Kontrol positif; (b) kontrol negatif; (c) F1; (d) F2; (e) F3; (f) F4

Tabel 4. Perhitungan rerata jumlah makrofag

K (+)	K (-)	F1	F2	F3	F4
29,7 ± 8,1 ^a	146,9 ± 50,5 ^c	90,2 ± 27,1 ^b	39,6 ± 8,6 ^a	42,9 ± 15,2 ^{ab}	42,2 ± 11,6 ^{ab}

Keterangan: *Subscribe* yang berbeda menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan

Pemberian asam asetat sebagai induktor nyeri pada tikus sampai pada menimbulkan reaksi inflamasi lokal, Respons inflamasi ini sebagian besar didorong oleh infiltrasi makrofag yang mengekspresikan enzim cyclooxygenase-2 (COX-2). COX-2 mensintesis PGE2, dan sebagai tambahan, makrofag melepaskan berbagai sitokin dan kemo lainnya.. Tikus menunjukkan perilaku rasa sakit hipersensitif progresif dalam bentuk menggeliat mencapai maksimum sekitar 8 hari (Saleem et al., 2019).

Hasil pemberian patch transdermal ekstrak buah lada hitam (*Piper nigrum* L) pada tikus menunjukkan pengurangan yang signifikan pada jumlah makrofag yang berarti pula penurunan COX-2 dan ekstrasel PGE2 di daerah nyeri inflamasi. Hal demikian ditunjukkan oleh berkurangnya jumlah geliat yang merupakan manifestasi klinis dari nyeri dan inflamasi. Menurunnya jumlah makrofag pada pemberian patch transdermal ekstrak etanol lada hitam menunjukkan bahwa ekstrak lada hitam dapat menurunkan radang pada tikus. Piperin memiliki efek analgesik dan antiinflamasi karena piperin menghambat aktivitas *cyclooxygenase* (COX) dan *5-lypoxygenase* terhadap asam arakidonat sehingga jumlah prostaglandin menurun (Saleem et al., 2019).

4. KESIMPULAN

Penggunaan peningkat transpor Na lauril sulfat 5%, Tween 80 5% dan isopropil miristat 6% dapat meningkatkan efek analgesik patch transdermal ekstrak buah lada hitam (*Piper nigrum* L) pada mencit dengan menggunakan metode geliat.

5. KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam pelaksanaan penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Bukhari, I. A., Alhumayyd, M. S., Mahesar, A. L., & Gilani, A. H. (2013). The analgesic and anticonvulsant effects of piperine in mice. *Journal of Physiology and Pharmacology*.
- Garala, K. C., Shinde, A. J., & Shah, P. H. (n.d.). *Formulation And In-Vitro Characterization Of Monolithic Matrix Transdermal Systems Using Hpmc/Eudragit S 100 Polymer Blends*.
- Jantarat, C., Sirathanarun, P., Boonmee, S., Meechoosin, W., & Wangpittaya, H. (2018). Effect of piperine on skin permeation of curcumin from a bacterially derived cellulose-composite double-layer membrane for transdermal curcumin delivery. *Scientia Pharmaceutica*, 86(3). <https://doi.org/10.3390/scipharm86030039>
- Kumar Singh, V., Singh, P., Mishra, A., Patel, A., & Yadav, K. K. (2014). Piperine: Delightful Surprise To The Biological World, Made By Plant “Pepper” And A Great Bioavailability Enhancer For Our Drugs And Supplements. In *Singh et al. World Journal of Pharmaceutical Research* (Vol. 3).
- Meghwal, M. (2012). Nutritional Constituent of Black Pepper as Medicinal Molecules: A Review. *Journal of Food Processing & Technology*, 01(S1). <https://doi.org/10.4172/scientificreports.129>
- Nahak, G., & Sahu, R. K. (n.d.). Phytochemical Evaluation and Antioxidant activity of Piper cubeba and Piper nigrum. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2011(08), 153–157.
- Pandey, A. (2014). Role of Surfactants as Penetration Enhancer in Transdermal Drug Delivery System. *Journal of Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research*, 02(02). <https://doi.org/10.4172/2329-9053.1000113>
- Saleem, M., Deal, B., Nehl, E., Janjic, J. M., & Pollock, J. A. (2019). Nanomedicine-driven neuropathic pain relief in a rat model is associated with macrophage polarity and mast cell activation. *Acta Neuropathologica Communications*, 7(1), 108. <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0762-y>
- Som, I., Bhatia, K., & Yasir, M. (2012). Status of surfactants as penetration enhancers in transdermal drug delivery. In *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* (Vol. 4, Issue 1, pp. 2–9). <https://doi.org/10.4103/0975-7406.92724>
- Tasleem, F., Azhar, I., Ali, S. N., Perveen, S., & Mahmood, Z. A. (2014). Analgesic and anti-inflammatory activities of Piper nigrum L. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(S1), S461–S468. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60275-3](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60275-3)
- Yamamoto, S., Karashima, M., Arai, Y., Tohyama, K., & Amano, N. (2017). Prediction of Human Pharmacokinetic Profile After Transdermal Drug Application Using Excised Human Skin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 106(9), 2787–2794. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.03.003>
- Zhang, X., Goncalves, R., & Mosser, D. M. (2008). The isolation and characterization of murine macrophages. *Current Protocols in Immunology*, SUPPL. 83, 1–18. <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1401s83>