

EVALUASI WAKTU RETENSI SECARA *EX VIVO* DAN *IN VIVO* FORMULA GEL MUKOADHESIF SENYAWA FUCOIDAN® MELALUI SISTEM PENGHANTARAN RUTE VAGINAL

EX VIVO AND IN VIVO RETENTION TIME EVALUATION OF FUCOIDAN® MUCOADHESIVE GEL FORMULA THROUGH VAGINAL ROUTE DELIVERY SYSTEM

ANWAR SAM
N012211049



SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023

EVALUASI WAKTU RETENSI SECARA *EX VIVO* DAN *IN VIVO* FORMULA GEL MUKOADHESIF SENYAWA FUCOIDAN® MELALUI SISTEM PENGHANTARAN RUTE VAGINAL

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

ANWAR SAM

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

LEMBAR PENGESAHAN

EVALUASI WAKTU RETENSI SECARA *EX VIVO* DAN *IN VIVO* FORMULA GEL MUKOADHESIF SENYAWA FUCOIDAN® MELALUI SISTEM PENGHANTARAN RUTE VAGINAL

Disusun dan diajukan oleh

ANWAR SAM

NIM N012211049

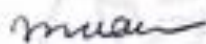
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Magister Program Studi Magister Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Pada tanggal

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



Prof. Dr. rer-nat. apt. Marianti A. Manggau
NIP. 19670319 199203 2 002

Pembimbing Pendamping



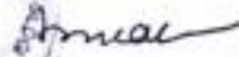
apt. Andi Dian Permana, M.Si., Ph.D.
NIP. 19890205 201212 1 003

Ketua Program Studi Magister Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi



apt. Muhammad Aswad, M.Si., Ph.D.
NIP. 19800101 20031 2 1004

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. rer-nat. apt. Marianti A. Manggau
NIP. 19670319 199203 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Anwar Sam
NIM : N012211049
Program studi : Farmasi
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul “Evaluasi Waktu Retensi Secara *Ex Vivo* dan *In Vivo* Formula Gel Mukoadhesif Senyawa Fucoidan[®] Melalui Sistem Penghantaran Rute Vaginal” adalah tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain bahwa tesis yang saya tulis ini benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan tesis hasil ini karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 2023
Yang menyatakan,

Anwar Sam
N012211049

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Sang Pencipta alam raya Allah SWT. yang telah memberikan petunjuk dan nikmat kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis berupa tesis ini. Puji shalawat salam tetap terlimpahkan kepada pendidik agung, pendidik utama, pendidik umat manusia, Muhammad SAW yang telah memberikan pencerahan pikiran melalui Al Qur'an sebagai hudan li nas rahmatan lil alamin. Beliaulah pendidik teragung bagi seluruh alam semesta.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini banyak kendala dalam tahap pencapaiannya, namun keberhasilan penulis tidak terlepas dari jasa, bantuan, dan dorongan semua pihak sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Tesis ini disusun untuk melengkapi tugas dan memenuhi syarat-syarat guna memperoleh gelar magister farmasi di fakultas farmasi universitas hasanuddin. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu dalam penyelesaian tugas ini.

Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. rer-nat. Marianti A. Manggau, Apt. selaku pembimbing utama dan Andi Dian Permana S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah banyak memberi masukan, arahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan tesis ini.

2. Prof. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt., Firzan Nainu, M.Biomed., Ph.D., Apt., dan Dr. Risfah Yulianty, M.Si., Apt. selaku tim Komisi Penguji yang telah memberikan banyak kritik dan saran yang sangat membantu dalam penyusunan tesis ini.
3. Dekan, Wakil Dekan, Ketua Prodi, Bapak-Ibu dosen, serta seluruh civitas Akademika Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memaksimalkan sarana dan prasana kampus, serta memberikan fasilitas kepada penulis selaku peserta didik selama menempuh pendidikan.
4. Kepada Lembaga DAAD (Deutscher Akademischer Austauschdienst) yang telah memberikan beasiswa pendidikan magister hingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
5. Kepada kepala laboratorium dan laboran laboratorium Fakultas Farmasi UNHAS, atas segala bantuan dalam pelaksanaan penelitian tesis ini.
6. Rekan-rekan magister pascasarjana angkatan 2021 yang telah banyak membantu, memberikan motivasi serta dorongan kepada penulis sehingga penelitian ini bisa terselesaikan.
7. Semua pihak lain yang telah membantu selama proses penyelesaian tesis yang tidak penulis sebutkan satu persatu

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk menciptakan karya yang lebih bermutu. Semoga karya tulis ini

dapat memberi manfaat bagi seluruh pembaca, untuk kemajuan dan pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, Juni 2023

Anwar Sam

ABSTRAK

Anwar Sam “Evaluasi Waktu Retensi Secara *Ex Vivo* Dan *In Vivo* Formula Gel Mukoadhesif Senyawa Fucoidan[®] Melalui Sistem Penghantaran Rute Vaginal”

Dibimbing oleh Marianti A. Manggau dan Andi Dian Permana

Fukoidan merupakan senyawa yang diisolasi dari *Macrocystis pyrifera* dan berpotensi sebagai kandidat dalam pengobatan kanker serviks. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan yang telah dikembangkan dalam bentuk hidrogel *in situ* berbasis poloxamer untuk sistem pengiriman obat melalui rute vaginal agar dapat terlokalisasi pada organ target yang dievaluasi melalui waktu retensi pada pengujian *in vivo*. Hidrogel *in-situ* dikembangkan dalam lima formulasi berbeda, yang masing-masing terdiri dari variasi konsentrasi polimer Pluronic[®] F127 dan F68 (F1-F5). Suhu pembentukan gel antara F1 - F5 berkisar diantara 27 hingga 77°C. Model hewan *ex vivo* digunakan untuk menyelidiki lebih lanjut profil permeasi dan retensi obat pada jaringan vagina dari formulasi gel termosensitif yang dikembangkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa komponen fukoidan yang terdeposisi pada jaringan vagina adalah sebesar $1,052 \pm 0,127$ mg, $0,889 \pm 0,179$ mg, $0,668 \pm 0,136$ mg, $0,207 \pm 0,057$ mg, dan $0,102 \pm 0,039$ mg yang secara berturut-turut diperoleh dari F1 hingga F5. Selanjutnya, pada evaluasi waktu permeasi, kelima formulasi hanya dapat mencapai media (terpermeasi) setelah 8 jam pengamatan. Evaluasi waktu retensi secara *in vivo*, menunjukkan bahwa F1 dan F2 tidak menunjukkan adanya fukoidan yang terdeposisi, sebab viskositas dan sifat bioadhesifnya yang lebih rendah, sementara itu F3, F4, dan F5 menunjukkan jumlah fukoidan yang terdeposisi lebih besar. Jumlah fukoidan yang paling banyak terdeposisi diperoleh pada F3 sebesar $24,115 \pm 4,842$ µg setelah 8 jam pengamatan. Kesimpulannya, viskositas dan daya lekat sediaan dipengaruhi oleh rasio Pluronic[®] F127 dan F68 sehingga mampu menghasilkan formula gel *in situ* termosensitif yang dapat dipertahankan lebih lama pada jaringan dan meningkatkan pelepasan obat, serta menurunkan eliminasi intravaginal.

Kata kunci: Fukoidan; kanker serviks; studi retensi; Gel termosensitif, Pengiriman Intravaginal.

ABSTRACT

Anwar Sam “*Ex Vivo* and *In Vivo* Retention Time Evaluation of Fucoidan Isolated From *Macrocystis Pyrifera* Through A Thermosensitive Gel System In The Vaginal Route”

Supervised by Marianti A. Manggau and Andi Dian Permana

Fucoidan is a compound isolated from *Macrocystis pyrifera* and known as the potential candidates in the treatment of Cervical Cancer. This research aimed to examine the ability of preparations that have been developed in the form of poloxamer-based *in situ* hydrogels for vaginal drug delivery system so that they can be localized to the targeted organs as evaluated through the *in vivo* retention capacities. The *in situ* hydrogel was developed in five different formulations, each comprised of various concentrations of the polymers Pluronic® F127 and F68 (F1 - F5). Gelling temperatures of each formulations were distinct and ranged from 27 to 77 ° C. *Ex vivo* animal models were used to further investigate the permeation and vaginal retention properties of these hydrogel formulations. The results displayed that the fucoidan were retained excellently on the vaginal tissue with the amount of fucoidan deposited for F1 to F5 were 1.052 ± 0.127 mg, 0.889 ± 0.179 mg, 0.668 ± 0.136 mg, 0.207 ± 0.057 mg, and 0.102 ± 0.039 mg, respectively. Furthermore, in the evaluation of permeation time, all of the formulations could only reach the (permeated) media after 8 hours of observation. When evaluated *in vivo*, the amount of fucoidan from F1 and F2 that was released in rat vagina did not show any deposited fucoidan, due to their lower viscosity and bioadhesive properties, meanwhile F3, F4, and F5 showed a greater amount of fucoidan deposited. The highest amount of fucoidan deposited was obtained in F3 of 24.115 ± 4.842 µg after 8 hours of observation. In conclusion, the viscosity and adhesiveness of the preparations were affected by the ratio of Pluronic® F127 and F68 which contributed to the successful formulation of thermosensitive *in situ* hydrogel which could be maintained longer in the tissues and increased drug release, as well as decreased intravaginal elimination.

Keywords: Fucoidan; Cervical cancer; Retention study; Thermosensitive gel, Intravaginal Delivery.

DAFTAR ISI

Tesis	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iii
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. URAIAN UMUM ALGA	6
B. KANDUNGAN KIMIA ALGA COKELAT	7
C. FUKOIDAN	8
D. KANKER SERVIKS	9
E. VAGINA	11
F. GEL MUKOADHESIF	13
G. URAIAN BAHAN	15
H. KERANGKA TEORI	19
I. KERANGKA KONSEP	20
BAB III METODE PENELITIAN	21
A. RANCANGAN DAN LOKASI PENELITIAN	21
B. ALAT DAN BAHAN	21
C. METODE KERJA	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
A. Formulasi Gel Termosensitif Fukoidan	35
B. Evaluasi Gel Termosensitif Fukoidan	35

BAB V PENUTUP	57
A. Kesimpulan	57
B. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	69

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Variasi perbandingan fenol 5% dan asam sulfat pengukuran visibel	22
Tabel 2. Variasi konsentrasi fukoidan dengan ditambahkan fenol 5% dan asam sulfat pengukuran visible	23
Tabel 3. Pengenceran bertingkat fukoidan dengan ditambahkan fenol 5% dan asam sulfat pengukuran visible	23
Tabel 4. Formula gel termosensitif-mukoadhesif Fukoidan	27
Tabel 5. Hasil uji viskositas gel termosensitif Fukoidan	44
Tabel 6. Hasil uji permeasi gel termosensitif fukoidan	50
Tabel 7. Data lag time	50
Tabel 8. Data fluks	51
Tabel 9. Hasil uji retensi gel termosensitif fukoidan pada hewan coba	55
Tabel 10. Persamaan Kurva Baku fukoidan dalam aquadest	70
Tabel 11. Persamaan Kurva Baku fukoidan dalam cairan vagina buatan	72
Tabel 12. Persamaan Kurva Baku fukoidan dalam jaringan vagina	73
Tabel 13. Data pengukuran suhu gelas	74
Tabel 14. Data pengukuran pH	75
Tabel 15. Data pengukuran daya sebar	76
Tabel 16. Data pengukuran viskpsitas pada suhu dingin	77
Tabel 17. Data pengukuran viskpsitas pada suhu kamar	77
Tabel 18. Data pengukuran viskpsitas pada suhu fisiologis vagina	77
Tabel 19. Data pengukuran rheologi	78
Tabel 20. Data pengukuran mukoadesif	80
Tabel 21. Hasil uji permeasi formula 1	81
Tabel 22. Hasil uji permeasi formula 2	83
Tabel 23. Hasil uji permeasi formula 3	85
Tabel 24. Hasil uji permeasi formula 4	87
Tabel 25. Hasil uji permeasi formula 5	89
Tabel 26. Hasil uji retensi ex vivo	91
Tabel 27. Hasil uji retensi in vivo F1	93
Tabel 28. Hasil uji retensi in vivo F2	93
Tabel 29. Hasil uji retensi in vivo F3	94
Tabel 30. Hasil uji retensi in vivo F4	94
Tabel 31. Hasil uji retensi in vivo F5	95

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur fukoidan (Jeon et al., 2011)	9
Gambar 2. Saluran genital wanita (Ma et al., 2020)	12
Gambar 3. Mukosa vagina (Rodriguez-Garcia et al., 2021)	12
Gambar 4. Mekanisme mukoadhesif (De Araújo Pereira & Bruschi, 2012)	14
Gambar 5. Struktur Pluronic® (Russo and Villa, 2019)	15
Gambar 6. Mekanisme gelasi Pluronic® (Russo and Villa, 2019)	16
Gambar 7. Struktur HPMC (Rowe et al., 2009)	17
Gambar 8. Struktur Kimia Gliserin	17
Gambar 9. Struktur DMDM Hidantoin (Liebert, 1988)	18
Gambar 10. Uji kekuatan mukoadhesif gel termosensitif fukoidan	30
Gambar 11. Penampakan secara visual pada suhu dingin 4°C (1),	36
Gambar 12. Diagram hasil uji pH (Rata-rata ± SD, n=3)	37
Gambar 13. Diagram hasil uji pH (Rata-rata ± SD, n=3)	39
Gambar 14. Diagram hasil Pengukuran Daya Sebar (Rata-rata ± SD, n=3)	41
Gambar 15. Diagram hasil uji Bioadesif (Rata-rata ± SD, n=3)	42
Gambar 16. Diagram hasil uji Viskositas (Rata-rata ± SD, n=3)	43
Gambar 17. Diagram hasil uji Rheologi (Rata-rata ± SD, n=3)	46
Gambar 18. Hasil uji ekstrudabilitas gel (Rata-rata ± SD, n = 3)	47
Gambar 19. Hasil Uji Permeasi ex-vivo(Rata-rata ± SD, n=3)	48
Gambar 20. Diagram hasil uji Retensi Ex Vivo (Rata-rata ± SD, n=3)	52
Gambar 21. Diagram hasil uji Retensi In Vivo (Rata-rata ± SD, n=3)	54
Gambar 22. Kurva baku fukoidan dalam air	70
Gambar 23. Panjang gelombang maksimum fukoidan dengan penambahan variasi fenol dan asam sulfat	71
Gambar 24. Panjang gelombang maksimum fukoidan dengan penambahan variasi fukoidan dengan penambahan fenol dan asam sulfat	71
Gambar 25. Panjang gelombang maksimum fukoidan pengenceran bertingkat dengan penambahan fenol dan asam sulfat	71
Gambar 26. Persamaan kurva baku fukoidan dalam cairan vagina buatan	72
Gambar 27. Persamaan kurva baku fukoidan dalam jaringan vagina	73

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Penelitian	69
Lampiran 2. Persamaan Kurva Baku fukoidan dalam aquadest	70
Lampiran 3. Panjang gekombang maksimum Fukoidan dengan variasi fukoidan, fenol 5%, dan asam sulfat.	71
Lampiran 4. Persamaan kurva baku fukoidan dalam cairan vagina buatan	72
Lampiran 5. Persamaan kurva baku fukoidan dalam jaringan vagina	73
Lampiran 6. Data Uji Suhu Gelasi	74
Lampiran 7. Data pengukuran pH	75
Lampiran 8. Data pengukuran daya sebar	76
Lampiran 9. Data Uji Viskositas	77
Lampiran 10. Data Uji reologi	78
Lampiran 11. Data Uji mukoadesif	80
Lampiran 12. Data uji permease ex vivo	81
Lampiran 13. Data uji retensi ex vivo	91
Lampiran 14. Data uji retensi in vivo	92
Lampiran 15. Hasil Analisis Statistik dengan SPSS	96

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Fukoidan adalah senyawa turunan alami yang ditemukan pada berbagai spesies alga coklat (*Phaeophyceae*) yang telah mendapat perhatian karena sifat antikanker yang dimilikinya. Fukoidan adalah molekul polisakarida sulfat, dan merupakan bagian dari dinding sel alga (Synytsya et al., 2010). Berdasarkan struktur dan kandungan senyawanya, fukoidan adalah polisakarida kompleks (Cui et al., 2020; Cumashi et al., 2007) dan sifat bioaktifnya memiliki aktivitas imunomodulasi, anti-inflamasi, antitumor dan antioksidan (Fitton et al., 2019).

Pada penelitian dengan hewan coba, tikus dapat bertahan dengan dosis berulang 10 mg/kg fukoidan, dan obat tersebut menunjukkan antitumor dengan menghambat pertumbuhan tumor sebesar 33% dan aktivitas antimetastatik sebesar 29% (Hifney et al., 2016). Injeksi intraperitoneal dan/atau pemberian fukoidan melalui makanan, *gavage*, injeksi subkutan, dan injeksi intravena juga telah diteliti (Lin, Y et al. 2020; Turner, P et al 2011; Azuma, K et al 2012; Manikan dan, R. Et al. 2020; Zhang, W. et al. 2021).

Penelitian yang dilakukan oleh Deepika, et.al. (2019), menggunakan flavonoid rutin yang dikomplekskan secara non-kovalen dengan fukoidan menunjukkan potensi kemopreventif setelah diuji pada sel HeLa yang mampu mengganggu regulasi siklus sel dan memiliki kemampuan untuk menginduksi

apoptosis seluler melalui fragmentasi inti sel, pembentukan ROS, dan potensi hilangnya mitokondria. Uji viabilitas sel in vitro menunjukkan bahwa kompleks ini biokompatibel pada sel normal, dengan uji hemolisis yang tidak melepaskan hemoglobin dari sel darah merah.

Polisakarida dengan berat molekul rendah sebagai fukoidan memiliki efisiensi absorpsi yang baik sehingga berkontribusi terhadap penetrasinya ke dalam sel (Zuo et al., 2015). Viskoelastisitas dinamis fukoidan turun secara linier dengan kenaikan suhu. Pada konsentrasi yang tinggi (1,5%) dalam larutan, fukoidan mampu menunjukkan sifat adhesi dan keterikatan dengan permukaan bahan yang lain akibat kemampuannya untuk bergerak dibawah gaya geser dan sudut angular . Nilai viskoelastisitas dinamis yang tinggi pada kisaran pH yang besar menunjukkan bahwa molekul fukoidan stabil dalam kondisi garam, asam, dan basa (Tako, 2020).

Pengujian secara in vitro dan in vivo dilakukan dan mengkonfirmasi sifat antitumor pada fukoidan dan efek anti-metastasis dalam perkembangan kanker (Nagamine et al., 2020). Namun demikian, perbandingan data yang tersedia belum cukup memadai karena heterogenitas polisakarida yang rumit memiliki pengaruh terhadap kondisi pengumpulan dan pemrosesan data, serta kurangnya analisis dengan menggunakan produk murni yang telah distandarisasi (Anaska, et al. 2019). Dengan demikian, penelitian ini dapat dijadikan acuan untuk mengembangkan formulasi fukoidan terhadap kanker serviks.

Pada pengobatan kanker serviks, pemilihan rute pemberian dan jenis sediaan merupakan faktor yang sangat penting. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa rute vagina merupakan rute yang paling sesuai untuk menghantarkan obat ke target pada penyakit kanker serviks. Rute ini memiliki berbagai keuntungan, seperti area permukaan yang luas, kaya suplai darah, permeabilitas tinggi, dapat meningkatkan bioavailabilitas obat, menghindari *first pass metabolism*, meminimalkan efek samping yang terjadi, dan cara penggunaan yang mudah jika dibandingkan dengan injeksi yang memerlukan bantuan tenaga kesehatan (Sahoo et al., 2013).

Gel merupakan salah satu bentuk sediaan vagina yang beredar. Namun, bentuk ini memberikan rasa kurang nyaman saat proses aplikasi yang berdampak pada kepatuhan pasien dalam terapi. Untuk meningkatkan kenyamanan pasien dan memperoleh pelepasan obat secara berkelanjutan, sediaan diformulasikan dalam bentuk gel *in situ* (Majeed & Khan, 2019). Hidrogel adalah formulasi tiga dimensi yang terbuat dari polimer hidrofilik dengan struktur dan sifat yang sesuai. Formulasi hidrogel yang dilakukan dengan menggabungkan fukoidan dengan kitosan memiliki kelebihan untuk menyerap eksudat dan memberikan kelembaban yang cukup baik serta rasio pengembangan (*swelling*) yang lebih tinggi (Sezer et al., 2008). Interaksi elektrostatik antar polimer berpengaruh nyata terhadap kekerasan gel, yang meningkat dengan meningkatnya konsentrasi fukoidan (Sezer et al., 2008).

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi Pluronic F127 dan F68 dalam formulasi sediaan gel termosensitif terhadap karakteristik gel yang terbentuk?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi Pluronic F127 dan F68 dalam formulasi sediaan gel termosensitif terhadap profil permease dan retensi obat secara *ex vivo* pada jaringan vagina?
3. Bagaimana pengaruh konsentrasi Pluronic F127 dan F68 dalam formulasi sediaan gel termosensitif terhadap profil retensi melalui pengujian secara *in vivo* melalui rute intravaginal?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi Pluronic F127 dan F68 dalam formulasi sediaan gel termosensitif terhadap karakteristik gel yang terbentuk sehingga menghasilkan karakteristik hasil evaluasi yang baik.
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi Pluronic F127 dan F68 dalam formulasi sediaan gel termosensitif terhadap profil permease dan retensi obat secara *ex vivo* pada jaringan vagina.
3. Mengetahui pengaruh konsentrasi Pluronic F127 dan F68 dalam formulasi sediaan gel termosensitif terhadap profil retensi melalui pengujian secara *in vivo* melalui rute intravaginal.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan landasan yang kuat dalam pengembangan ilmu pengetahuan dibidang kesehatan, khususnya dalam mengetahui potensi pengembangan rute formula dari senyawa herbal yang menggunakan sistem penghantaran vaginal untuk menghasilkan sediaan yang lebih efektif dan efisien.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. URAIAN UMUM ALGA

Alga merupakan salah satu komoditas unggulan yang kaya nutrisi dan senyawa bioaktif potensial untuk kesehatan manusia (Brown *et al.* 2014). Alga secara tradisional saat ini masih digunakan sebagai makanan dan obat-obatan di China, Jepang, dan Korea (Druehl, 2013). Alga menghasilkan senyawa fitokoloid yang diekstraksi untuk digunakan dalam industri makanan, kosmetik, dan medis (Browdy *et al.*, 2012).

Alga terbagi menjadi mikroalga dan makroalga. Mikroalga adalah spesies uniselular atau multiselular sederhana yang tumbuh secara cepat, dapat bertahan hidup pada kondisi dan lingkungan dengan tekanan ekstrim seperti panas, dingin, anaerob, tekanan osmotik, dan paparan radiasi ultraviolet (UV). Sedangkan, makroalga umumnya hidup pada habitat laut yang merupakan spesies multiselular, namun tidak memiliki akar, batang atau daun yang nyata tetapi memiliki thaloid atau stipe yang fungsinya menyerupai akar dan batang (Baweja *et al.*, 2016).

Alga lebih menguntungkan daripada tanaman dari segi produktivitas, tidak adanya variasi musiman, lebih mudah diekstraksi, dan bahan mentah yang berlimpah dan mudah ditemui. Makroalga terbagi menjadi tiga berdasarkan

pigmennya, yaitu Chlorophyceae (alga hijau), Phaeophyceae (alga coklat), dan Rhodophyceae (alga merah) (Baweja et al., 2016; Giordano & Wang, 2017).

B. KANDUNGAN KIMIA ALGA COKELAT

Kandungan komponen bioaktif pada alga sangat luas sehingga sering dimanfaatkan, seperti senyawa polisakarida sulfat, fenolik, pigmen alami, serat ataupun senyawa halogen (Holdt & Kraan, 2011; Pangestuti & Kim, 2011; Sabeena Farvin & Jacobsen, 2013).

Kandungan kimia dan pigmen yang terdapat pada alga coklat merupakan hasil dari fotosintesis yang jumlahnya sangat bervariasi, tergantung pada jenis, masa perkembangan dan kondisi tempat tumbuh. Senyawa kimia yang terdapat pada alga coklat adalah fukoidan, alginat, laminaran, selulosa, manitol, dan senyawa bioaktif lainnya (Widyartini et al., 2017). Alga coklat juga dimanfaatkan dalam bidang kesehatan dan nutrisi. Polisakarida dari alga coklat, seperti fukoidan dapat menjadi bahan fungsional pada bidang kosmetika dan obat-obatan (Verma et al., 2014).

Polisakarida merupakan komponen utama dari alga (40-65% dari total massa) (Meillisa et al., 2015). Polisakarida pada alga tersusun dari hidrokoloid penyusun dinding sel dan bahan pengisi ruang antara sel (Santi et al., 2012). Polisakarida utama yang telah diteliti mempunyai aktivitas biologis (bersifat bioaktif) dalam rumput laut adalah polisakarida sulfat. Polisakarida sulfat yang terdapat pada rumput laut coklat diantaranya adalah fukoidan, laminaran, dan alginat (Wijesekara et al., 2011).

C. FUKOIDAN

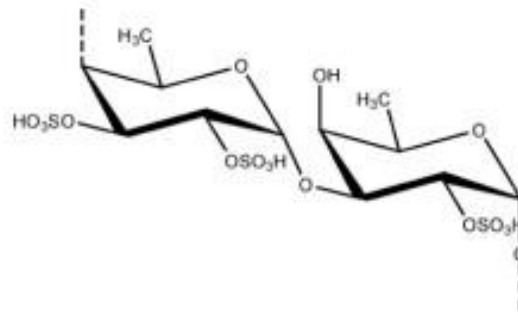
Fukoidan merupakan substansi polisakarida sulfat larut air yang ada pada alga coklat. Fukoidan merupakan kompleks grup heterogeneous polisakarida, yang berfungsi sebagai getah intraseluler. Komposisi fukoidan berbeda-beda pada setiap spesies dan letak geografisnya, walaupun spesiesnya sama (Ale & Meyer, 2013).

Fukoidan adalah kelompok polisakarida sulfat yang tersusun dari L-fucose sulfat dan sebagian kecil monosakarida lainnya. Fukoidan hanya ditemukan pada alga coklat (Phaeophyta), dan tidak ditemukan pada alga lain maupun tumbuhan tingkat tinggi. Fukoidan berfungsi sebagai molekul untuk memperkuat dinding sel, hal ini berkaitan dengan pertahanan terhadap pengaruh kekeringan saat rumput laut berada di daerah pasang surut. Fukoidan dapat diekstraksi dengan menggunakan air panas maupun larutan asam. Fukoidan dapat diekstraksi dari *Sargassum*, *Undaria*, *Macrocystis*, *Cladosiphon*, *Durvillea*, *Laminaria*, dan *Ascophyllum*. Berdasarkan penelitian, fukoidan dapat diaplikasikan sebagai bahan untuk nutrasetikal dan kosmetik. Meskipun fungsi fisiologis utama fukoidan pada alga tersebut belum sepenuhnya dipahami, fukoidan diketahui memiliki banyak sifat biologis yang berpotensi untuk diaplikasikan bagi kesehatan manusia (Holdt & Kraan, 2011).

Fukoidan berwarna putih kekuningan sampai coklat muda. Warna coklat kehitaman menunjukkan adanya pigmen alga coklat, seperti fucoxanthin,

chlorophyll a dan c, beta karoten, dan violaxanthin (Saepudin et al., 2018).

Senyawa fukoidan ini memiliki struktur sebagai berikut:



Gambar 1. Struktur fukoidan (Jeon et al., 2011)

Fukoidan terdiri atas kelompok L-fucose dan sulfat, komponen monosakarida utama di antaranya adalah L-fucose-4-sulfate. Fukoidan banyak terdapat pada alga coklat dalam bentuk polisakarida heterogen. (Sinurat et al., 2016).

Fukoidan memiliki aktivitas biologis yang berpotensi digunakan sebagai pengobatan. Fukoidan diketahui memiliki aktivitas biologis melalui pengaturan proliferasi sel dan memiliki efek biologis yaitu sebagai antikoagulan, antivirus dan antikanker (Dongre, 2017; Sinurat et al., 2016).

D. KANKER SERVIKS

Serviks adalah bagian bawah dan menyempit dari uterus/rahim. Serviks membentuk saluran yang berujung pada vagina, dan bagian luar tubuh. Kanker serviks adalah pertumbuhan abnormal jaringan yang terdapat di serviks uterus (leher rahim). Dalam situasi normal, sel akan bertambah tua dan memproduksi

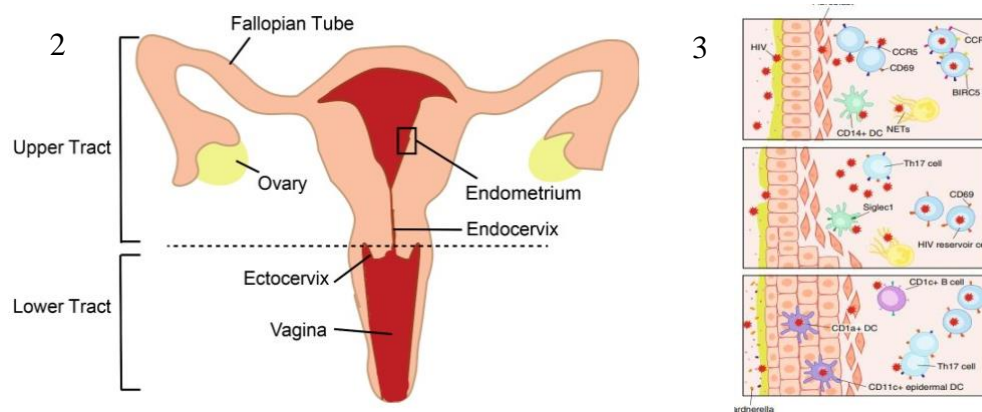
sel baru. Tetapi pada kanker, sel membelah secara tidak terkendali dan tidak menjadi tua. Apabila sel membelah secara tidak terkendali, terbentuklah tumor atau satu massa. Metastatis terjadi ketika sel sel tersebut menjadi terpisah dari massa tumor, dan dibawa ke tempat yang jauh melalui darah dan pembuluh getah bening, dan mulai tumbuh pada tempat yang diinginkan (Paula McGee, 2015).

Kanker serviks merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh HPV atau Human Papilloma Virus onkogenik, mempunyai presentase yang cukup tinggi dalam menyebabkan kanker serviks, yaitu sekitar 99,7%. Kanker serviks adalah salah satu penyakit kanker yang paling banyak terjadi pada wanita (Setiawati D, 2014). Virus HPV termasuk famili papovavirus yang merupakan suatu virus DNA. Virus ini menginfeksi membran basalis pada daerah metaplasia dan zona transformasi serviks. Setelah menginfeksi sel epitel serviks sebagai upaya untuk berkembang biak, virus ini akan meninggalkan sekuensi genomnya pada sel inang (Hera Noviana. 2012).

Sebagian besar faktor risiko kanker serviks akibat dari peningkatan risiko terjangkitnya HPV atau penurunan respon imun terhadap infeksi HPV (HOGI, 2018), seperti melakukan hubungan seksual usia muda, berganti-ganti pasangan (multipartner), riwayat penyakit menular seksual, penyakit immunosupresi (HIV, penggunaan obat immunosupresi), tingkat sosial ekonomi rendah, dan kebiasaan merokok (HOGI, 2018).

E. VAGINA

Saluran genital wanita terbagi menjadi 2 yaitu saluran genital bagian atas dan bagian bawah. Saluran genital atas terdiri atas *endocervix*, *endometrium*, dan *tuba fallopi*, sedangkan saluran genital bawah terdiri atas vagina dan *ectocervix* (Ma et al., 2020; Rodriguez-Garcia et al., 2021). Vagina merupakan organ reproduksi wanita yang terletak diantara rektum, uretra, dan kandung kemih. Vagina memiliki beberapa fungsi seperti tempat keluarnya darah saat menstruasi, tempat masuknya cairan seminal, dan merupakan organ dalam proses persalinan. Vagina terdiri atas dinding anterior dan posterior. Bagian anterior memiliki panjang 6 – 8 cm, sedangkan bagian posterior memiliki panjang hingga 14 cm. Diameter vagina berkisar antara 2.4-6.5 cm dan diameter terbesar terdapat pada kedalaman vagina 2-5 cm dari introitus. Dinding vagina tersusun atas lapisan *stratified squamous epithelium* yang terus beregenerasi selama masa premenopause dan memberikan lapisan perlindungan bagi vagina (Ferguson & Rohan, 2011). Saluran genital wanita dan mukosa vagina ditunjukkan pada gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Saluran genital wanita (Ma et al., 2020)
 Gambar 3. Mukosa vagina (Rodriguez-Garcia et al., 2021)

Mukosa vagina wanita terdiri atas air, musin, glukoprotein, protein plasma, enzim, asam amino, kolestrol, lipid, dan ion inorganik yang memiliki peranan penting dalam absorpsi obat serta tempat kerja obat. Pada vagina juga terdapat cairan vagina yang berasal dari sekresi kelenjar *cervical vestibular*, transudat plasma, dan cairan endometrial. Cairan vagina dapat menjadi target penghantaran obat dan pelindung vagina. Jumlah, konsistensi, dan karakteristik cairan vagina dipengaruhi oleh siklus menstuarasi dan umur (das Neves & Bahia, 2006; Rohan & Sassi, 2009). Vagina normalnya memiliki pH pada rentang 4.5-5.5. Kondisi ini diatur oleh keberadaan flora normal vagina yaitu *Lactobacillus*. Selain menjaga pH vagina, *Lactobacillus* juga berperan penting dalam mekanisme pertahanan vagina terhadap mikroorganisme patogen dengan memproduksi hidrogen peroksida dan bakteriosin untuk melindungi vagina (das Neves & Bahia, 2006).

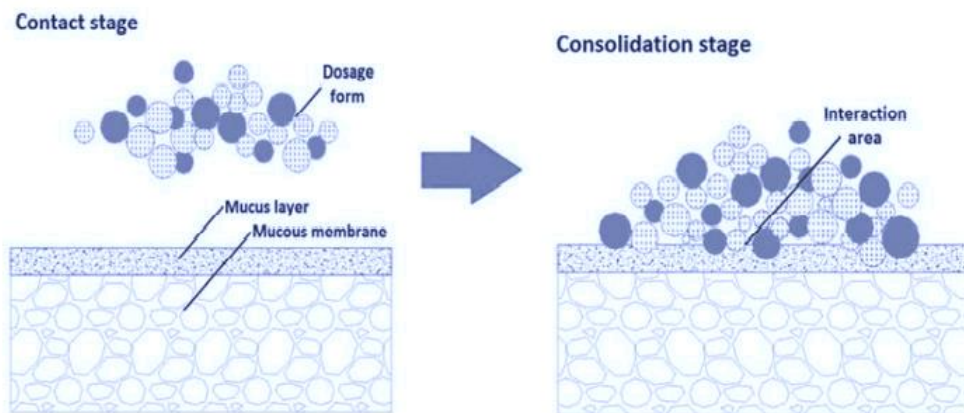
Vagina adalah salah satu rute terbaik untuk penghantaran obat. Sistem penghantaran obat secara terkontrol intravaginal adalah cara yang efektif untuk memberikan terapeutik efek lokal maupun efek sistemik (Sahoo et al., 2013). Penyerapan obat dengan rute intravaginal dapat terjadi karena mengandung pembuluh darah yang cukup banyak (El-kamel et al., 2002). Penghantaran obat melintasi membrane vagina dengan cara transelular, paraseluler, dan transport yang diperantarai oleh vesicular atau reseptor. Absorpsi obat dengan rute vagina dapat terjadi dengan larutnya obat dalam lumen vagina dan penetrasi membrane (sahoo et al., 2013). Pengujian secara *in vivo* dilakukan pada hewan coba yang berbeda untuk melihat efikasi, absorpsi, distribusi, dan retensi sediaan intravaginal (ceschel et al., 2001).

F. GEL MUKOADHESIF

Gel mukoadhesif merupakan bentuk sediaan gel yang dapat melokalisasi obat pada bagian tertentu dan meningkatkan waktu tinggal obat pada mukosa (Rençber et al., 2017). Pada sediaan mukoadhesif, polimer melekat pada permukaan mukus (substrat). Polimer pembawa yang mengandung bahan terapeutik akan menempel pada mukosa yang ditargetkan untuk waktu yang lama, sehingga dapat meningkatkan permeasi dan bioavailabilitas dari sediaan yang dibuat (Subramanian, 2021).

Polimer yang ideal untuk sistem penghantaran obat mukoadhesif vagina perlu memiliki beberapa karakteristik, antara lain (De Araújo Pereira & Bruschi, 2012) :

- Bersifat non-toksik dan tidak diabsorpsi melalui membran mukosa
- Tidak mengiritasi
- Mampu membentuk ikatan non-kovalen dengan mukosa yang kuat
- Mampu melekat pada membran mukosa
- Mudah dicampur dengan bahan obat dan tidak mengganggu pelepasan obat
- Tidak mengalami dekomposisi saat penyimpanan



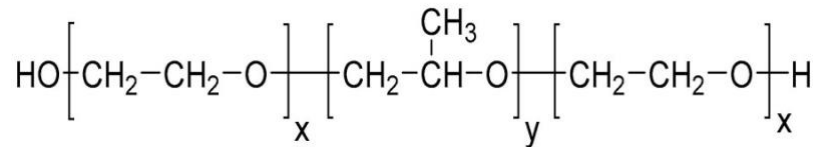
Gambar 4. Mekanisme mukoadhesif (De Araújo Pereira & Bruschi, 2012)

Mekanisme mukoadhesif terjadi melalui dua tahap, yaitu *contact stage* dan *consolidation stage*. Pada *contact stage*, formulasi mukoadhesif mulai kontak dan menyebar pada membran mukus. Pada *consolidation stage*, formula mukoadhesif kemudian berikatan dengan membran mukus melalui ikatan *van*

der Waals maupun ikatan hidrogen. Selain itu terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi sifat mukoadhesif, yakni berat molekul, kapasitas ikatan hidrogen, fleksibilitas polimer, hidrasi, dan konsentrasi polimer yang digunakan (Boddupalli et al., 2010).

G. URAIAN BAHAN

4. Pluronic



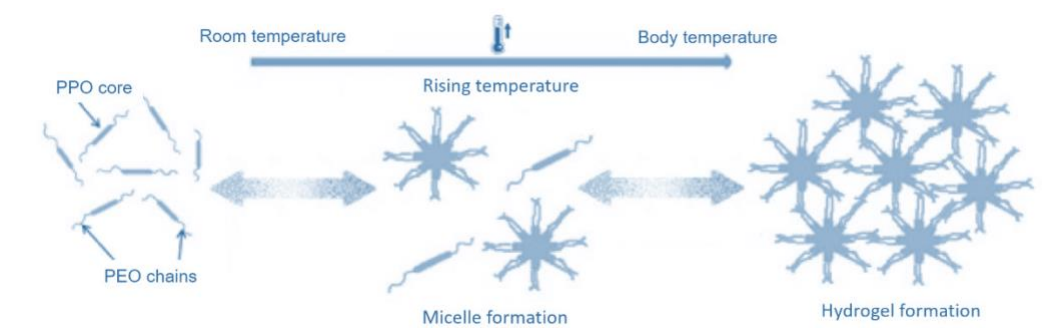
Gambar 5. Struktur Pluronic[®] (Russo and Villa, 2019)

Pluronic[®] merupakan kopolimer tri-block yang larut dalam air. Pluronic[®] terdiri atas dua monomer inti yaitu *Polyethylene Oxide* (PEO) dan *Polypropylene Oxide* (PPO). PEO bersifat hidrofilik, sedangkan PPO bersifat hidrofobik. Pluronic[®] memiliki susunan PEO-PPO-PEO. Pluronic[®] berbentuk butiran putih, seperti lilin, dan mengalir bebas. Pluronic[®] tidak memiliki rasa, tidak berbau, dan dapat larut dalam air. Pluronic[®] memiliki beberapa bentuk dan hal tersebut digunakan dalam penamaan Pluronic[®], yakni *Liquid* (L), *Paste* (P), dan *Flakes* (F). Setiap jenis Pluronic[®] memiliki rasio PEO dan PPO yang berbeda (Rowe et al., 2009; (Russo & Villa, 2019).

Pluronic[®] F127 dan F68 merupakan 2 jenis Pluronic[®] yang paling banyak digunakan dalam sistem penghantaran obat. Pluronic[®] F127 memiliki berat

molekul 12.600 dengan titik leleh 56°C. Pluronic® F127 memiliki 70% gugus PEO. Selanjutnya, Pluronic® F68 memiliki berat molekul 8400 dengan titik leleh 52°C. Pluronic® F68 memiliki 80% gugus PEO (Chen et al., 2021). Kombinasi Pluronic® F127 dan F68 dilakukan untuk memperbaiki suhu gelasi dari sediaan gel termosensitif (Al Khateb et al., 2016).

Pluronic® memiliki karakteristik termosensitif. Hal tersebut disebabkan Pluronic® dapat berubah dari molekul blok kopolimer (unimer) menjadi misel. Terdapat dua parameter penting dalam proses miselisasi, yakni *critical micelle concentration* (CMC) dan *critical micelle temperature* (CMT). Apabila konsentrasi Pluronic® berada diatas CMT, maka akan terjadi miselisasi. Begitu pula halnya apabila Pluronic® pada konsentrasi tertentu mengalami kenaikan temperatur diatas CMT (Bonacucina et al., 2011; Chen et al., 2021).



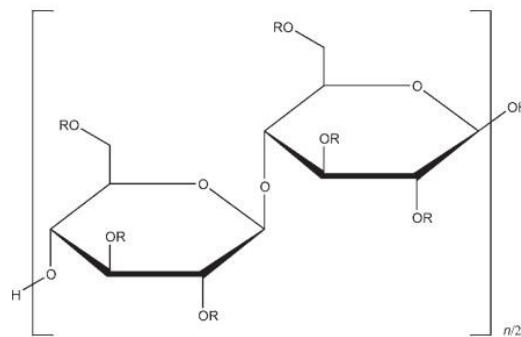
Gambar 6. Mekanisme gelasi Pluronic® (Russo and Villa, 2019)

Dalam larutan air, blok PPO dan PEO larut dan bersifat sebagai unimer. PEO dan PPO berikatan dengan air melalui ikatan hidrogen. Ketika terjadi kenaikan temperatur, ikatan hidrogen menjadi putus dan mengakibatkan gugus PPO tidak larut. Hal tersebut menyebabkan agregasi

gugus PPO dan mengarah pada pembentukan misel ketika nilai CMC/CMT tercapai. Misel yang terbentuk memiliki inti PPO yang bersifat hidrofobik dan outer shell PEO yang bersifat hidrofilik (Liu et al., 2015).

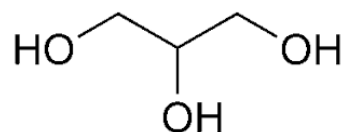
5. Hidroksipropil Metil Selulosa (HPMC)

Hidroksipropil metil selulosa (HPMC) berbentuk serbuk putih, tidak berbau, dan tidak berasa. Larutan berair HPMC 2% memiliki pH 5.0-8.0. HPMC larut dalam air dingin (Rowe *et al.*, 2009). HPMC merupakan polimer mukoadhesif yang kuat, memiliki karakteristik yang baik, toksisitas rendah, tidak menyebabkan iritasi, bersifat kompatibel dan stabil pada pH vagina (Rençber et al., 2017). Sifat mukoadhesif HPMC terjadi karena ikatan hidrogen antara gugus asam karboksilat pada HPMC dengan glikoprotein pada mukosa (Permana et al., 2021).



Gambar 7. Struktur HPMC (Rowe et al., 2009)

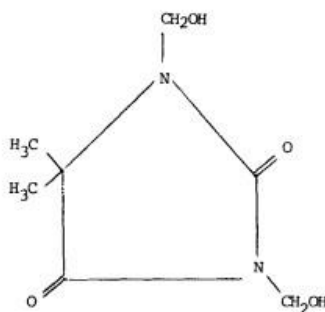
6. Gliserin



Gambar 8. Struktur Kimia Gliserin

Gliserin digunakan dalam berbagai formulasi farmasi termasuk sediaan oral, oftalmik, topikal, dan parenteral. Dalam formulasi farmasi topikal dan kosmetik, gliserin digunakan terutama untuk sifat humektan dan emoliennya dengan konsentrasi <30%. Gliserin juga digunakan dalam gel dan juga sebagai aditif dalam aplikasi tambalan. Gliserin bersifat higroskopis, tidak rentan terhadap oksidasi dalam kondisi penyimpanan ruang, tetapi terurai pada pemanasan. Campuran gliserin dengan air, etanol (95%), dan propilen glikol stabil secara kimiawi. Perubahan warna gliserin menjadi hitam terjadi dengan adanya cahaya, atau pada kontak dengan seng oksida atau bismut nitrat basa.

7. DMDM Hidantoin

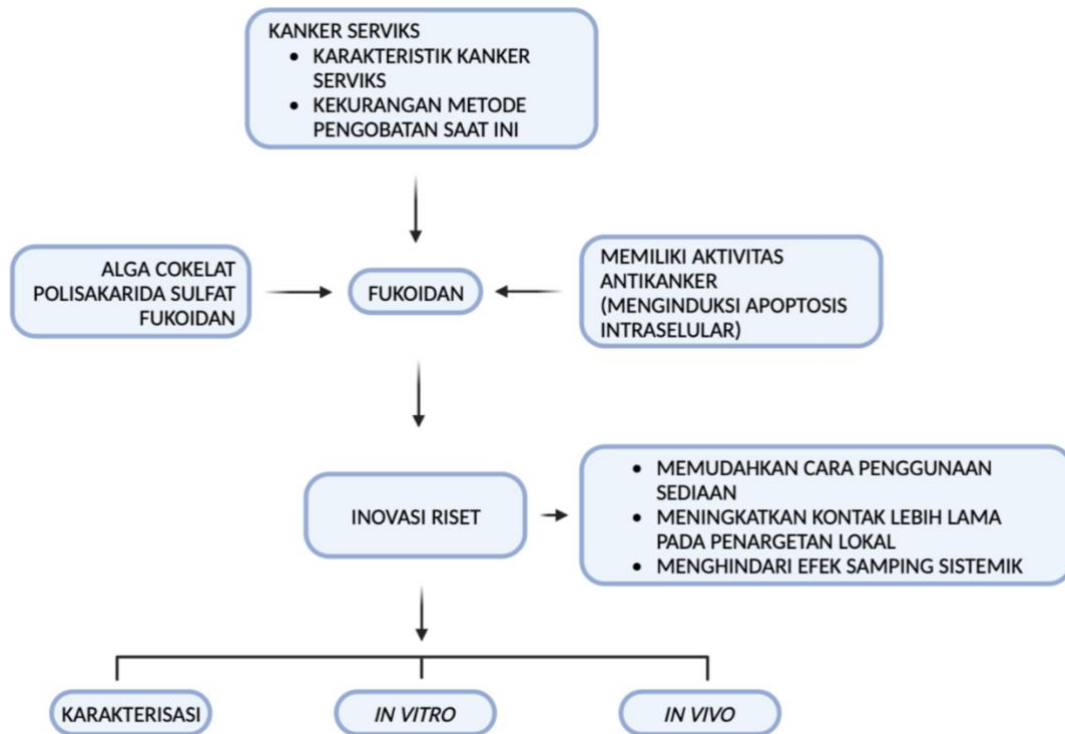


Gambar 9. Struktur DMDM Hidantoin (Liebert, 1988)

DMDM hidantoin (Dimetilol Dimetil Hidantoin) merupakan pengawet yang biasa digunakan dalam produk farmasi. DMDM hidantoin memiliki wujud berupa cairan tidak berwarna dan agak berbau. Konsentrasi efektif DMDM hidantoin yang digunakan sebagai pengawet yakni pada konsentrasi 0,1-1%. DMDM hidantoin memiliki aktivitas antimikroba spektrum luas, baik bakteri

Gram positif maupun Gram negatif, serta terhadap kapang dan khamir. Pengawet ini stabil pada berbagai kondisi pH dan suhu (Kumar et al., 1994).

H. KERANGKA TEORI



I. KERANGKA KONSEP

