

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Salah satu penyakit infeksi paru-paru adalah *allergic bronchopulmonary aspergillosis* (ABPA) yang disebabkan oleh jamur *Aspergillus fumigatus*. Seseorang yang mengalami hipersensitivitas seperti penderita asma sangat rentan terhadap penyakit ini. Berdasarkan data dari *World Health Organization* dengan *Global Asthma Network*, terdapat 334 juta kasus asma di dunia (WHO; Thalib *et al.*, 2023) dengan 2,5% diantaranya mengalami komplikasi ABPA (Agarwal *et al.*, 2023). Data dari Kemenkes menunjukkan kasus penyakit asma di Indonesia mencapai 12 juta pada 2020 (Kemenkes, 2022). Pada tahun 2021, tercatat sebanyak 336 ribu kasus asma dengan komplikasi ABPA di Indonesia (Wahyuningsih *et al.*, 2021). Penanganan yang efektif terhadap penyakit ini sangat diperlukan demi mengurangi jumlah kasus dan menghindari kematian akibat penyakit ini.

Pengobatan ABPA saat ini menggunakan antijamur yaitu *Amphotericin B* (AmB). AmB dipilih karena antijamur lainnya yaitu golongan azol sudah tidak efektif untuk membunuh *A. fumigatus* (Sen *et al.*, 2022). AmB diberikan secara oral dan intravena. Namun, keduanya memiliki kekurangan. Pemberian secara oral tidak efektif karena kelarutan dan permeabilitas AmB sangat buruk yang menghasilkan bioavailabilitas rendah (0,2-0,9%). Efek samping dan degradasi obat di saluran gastrointestinal, serta metabolisme lintas pertama juga menjadi tantangan pada pemberian oral. Sediaan lainnya yaitu sediaan injeksi yang tidak direkomendasikan karena dapat menyebabkan nefrotoksitas (Fairuz *et al.*, 2022). Kedua rute ini menghasilkan konsentrasi AmB yang rendah di paru-paru sehingga tidak efektif untuk pengobatan ABPA. Oleh karena itu, diperlukan rute lain untuk penghantarannya.

Rute yang efektif untuk pengobatan gangguan paru-paru adalah rute inhalasi. Rute ini mampu menghantarkan obat secara langsung dan menghasilkan konsentrasi obat tinggi di paru-paru karena terhindar dari metabolisme lintas pertama dan degradasi obat di saluran pencernaan. Riset sebelumnya mengembangkan AmB terenkapsulasi dalam liposom dan dihantarkan secara inhalasi. Namun, liposom memiliki kekurangan karena mudah terdegradasi sehingga mengurangi jumlah obat. Untuk mengatasi hal ini, Yeganeh *et al* mengembangkan AmB terenkapsulasi dalam *solid lipid nanoparticle* (SLN) (Yeganeh *et al.*, 2020). Namun, SLN kurang dalam pemuatan obat karena hanya dapat menghantarkan obat dalam jumlah yang sedikit. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan sistem lain



*ed lipid carriers* (NLCs) adalah sistem dengan kombinasi lipid yang menghasilkan matriks tidak tersusun rapat. Matriks ini lebih banyak jika dibandingkan dengan SLN (Viegas *et al.*, 2019). Mereka telah menggunakan NLCs cair dalam penghantaran AmB.

Namun, AmB dalam NLCs cair mudah terdegradasi selama penyimpanan sehingga perlu dibuat dalam bentuk kering (Nimtrakul *et al.*, 2020). Pada riset ini AmB akan dienkapsulasi ke dalam NLCs dan dibuat dalam bentuk *dry powder inhaler* (DPI). DPI adalah sediaan inhalasi berupa serbuk yang dapat dihantarkan ke paru-paru melalui mulut. DPI lebih efektif, lebih stabil, dan mudah untuk digunakan (Yeganeh *et al.*, 2020). Oleh karena itu, dalam penelitian AmB akan diformulasikan dengan NLCs dalam bentuk DPI sebagai strategi baru penghantaran AmB pada pengobatan ABPA.

Dalam mengembangkan suatu formula atau sediaan obat berbasis nanopartikel seperti NLCs, profil pelepasan obat menjadi hal yang perlu diperhatikan. Pelepasan obat yang baik dan terkontrol akan memberikan efek pengobatan yang lebih baik. Pelepasan terkontrol dapat mengurangi penggunaan obat secara berulang karena durasi kerja obat akan meningkat. Pelepasan terkontrol dipengaruhi oleh bahan-bahan yang digunakan untuk proses formulasi. Pada penelitian ini, bahan Tween® 80 dan Precirol® ATO 5 yang digunakan dapat menghasilkan pelepasan yang terkontrol karena keduanya dapat menghambat degradasi NLCs (Khosa *et al.*, 2018). Penelitian ini berfokus untuk menganalisis profil pelepasan dari NLCs untuk memastikan formula yang dikembangkan lebih efektif untuk pengobatan ABPA.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu bagaimana profil pelepasan secara *in vitro* dari *nanostructured lipid carriers*-AmB sebagai sistem penghantaran baru Amphotericin B.

## 1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil pelepasan secara *in vitro* dari *nanostructured lipid carriers*-AmB sebagai sistem penghantaran baru Amphotericin B.



## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental di Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin selama periode pelaksanaan kegiatan Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) 2024 pada bulan Mei-Agustus 2024.

#### 2.2 Alat dan Bahan

##### 2.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex<sup>®</sup>), batang pengaduk, *homogenizer* (IKA Ultra Turaks T10<sup>®</sup>), kaca arloji, *mini spray dryer* (SD-Basic Labplant<sup>®</sup>), *moisture analyzer* (Mettler Toledo HE53<sup>®</sup>), *particle size analyzer* (Zetasizer<sup>®</sup>), pipet mikro (Dragonlab<sup>®</sup>), sendok *stainless*, sentrifugasi, spektrofotometer UV-Vis (Dynamica<sup>®</sup> HALO XB-10), *spray drayer*, orbital *shaker*, *tap density tester* (*Tap Density Tester* 1951, Esico International<sup>®</sup>), timbangan analitik (Sartorius<sup>®</sup>), *vortex mixer* (D LAB), dan vial.

##### 2.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu *Amphotericin B* (AmB) (kemurnian, ≥98%), asam oleat (Sigma-Aldrich), kitosan, *Phosphate-buffer Saline* (PBS) pH 7,4, Precirol<sup>®</sup> ATO 5 (Gattefosse), *Sodium Lauryl Sulfate*, Tween<sup>®</sup> 80 (Sigma-Aldrich).

#### 2.3 Metode Penelitian

##### 2.3.1 Pembuatan Larutan *Phosphate-buffered Saline* (PBS) + 2% *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS)

Larutan PBS + 2% SLS dibuat dengan menimbang 8 g natrium klorida, 0,2 g kalium klorida, 0,25 g kalium dihidrogen fosfat, dan 1,44 g dinatrium fosfat. Selanjutnya, bahan-bahan yang telah ditimbang tersebut dilarutkan menggunakan air suling hingga 1000 mL. Setelah itu, 2% SLS ditambahkan ke dalam PBS dan diaduk hingga larut.

##### 2.3.2 Pembuatan Larutan Stok *Amphotericin B* (AmB)

Larutan stok dengan konsentrasi 1000 µg/mL dibuat dengan cara menimbang 10 mg AmB kemudian dilarutkan dengan PBS 7,4 + 2% SLS dalam hingga tanda batas. Sebanyak 1 mL larutan stok dicuplik lalu 1 labu tentukur 10 mL dan dicukupkan dengan PBS + SLS 2% ntuk membuat larutan stok dengan konsentrasi 100 µg/mL.



### 2.3.3 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dilakukan dengan mengukur serapan dari larutan stok 32 bpj dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

### 2.3.4 Pembuatan Kurva Baku Amphotericin B

Kurva baku AmB dibuat dengan seri pengenceran 32, 16, 8, 4, 2, dan 1 µg/mL. Larutan stok 1000 µg/mL dicuplik dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan diencerkan menggunakan PBS 7.4 + 2% SLS hingga tanda batas untuk mencapai seri konsentrasi yang diperlukan.

### 2.3.5 Formulasi *Nanostructured Lipid Carriers-Amphotericin B* (NLCs-AmB)

**Tabel 1.** Formula NLC-AmB

Bahan	NLCs-AmB
AmB (mg)	10
Precirol® ATO 5 (mg)	50
Asam oleat (mg)	100
Tween® 80 2% (v/v)	50

Formulasi NLCs-AmB menggunakan metode *high shear homogenization*. Fase lipid dibuat dengan memanaskan Precirol® ATO 5 dan asam oleat dengan suhu 70°C lalu dicampurkan dan ditambahkan 10 mg AmB. Selanjutnya, dibuat fase air dengan memanaskan campuran *aquadest* dan Tween® 80 pada suhu 70°C. Fase lipid yang telah dibuat dimasukkan ke dalam fase air lalu dihomogenkan menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit. Selama pencampuran, suhu tetap dijaga pada 70°C (Almurshedi *et al.*, 2021).

### 2.3.6 Uji Pelepasan secara *In Vitro*

Uji pelepasan *in vitro* dilakukan dengan menggunakan membran dialisis dan media pelepasan yaitu campuran PBS pH 7,4 dan SLS 2%. Sebanyak 2 membran dialisis direndam dalam larutan PBS pH 7,4 selama 24 jam. Kemudian 10 mg AmB murni dimasukkan ke dalam membran dialisis. NLCs-AmB yang setara dengan 10 mg AmB juga dimasukkan ke dalam membran dialisis yang berbeda. Selanjutnya, kedua membran dialisis dimasukkan ke dalam botol Duran yang berisi 100 mL media PBS pH 7,4. Botol Duran diletakkan di atas orbital *shaker* dan diatur rpm pada suhu 37°C. Pada interval waktu tertentu (0, 1, 2, 3, 24 jam), 1 mL media pelepasan diambil dan diganti dengan 1 mL yang baru (Hariyadi *et al.*, 2022). Absorbansi AmB pada interval waktu tertentu diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm. Selanjutnya, data hasil pengujian dianalisis secara statistik menggunakan *one-way anova*. Model pelepasan AmB dianalisis menggunakan



### 2.3.7 Formulasi *Dry Powder Inhaler-Amphotericin B (DPI-AmB)*

**Tabel 2.** Komposisi Formula DPI

Komposisi	DPI
NLCs-AmB (mL)	100
Kitosan (g)	20

Formulasi DPI dilakukan dengan menggunakan metode *spray drying*. Pembuatan DPI dilakukan dengan cara membuat 100 mL NLCs-AmB lalu ditambahkan 20 g kitosan kemudian diaduk hingga homogen. Setelah itu, DPI dibuat menggunakan alat *spray dryer* dengan kondisi suhu *inlet* 135°C, suhu *outlet* 65°C, dan kecepatan pompa semprot 3 mL/menit. Setelah itu, serbuk disaring dan disimpan (Almurshedi *et al.*, 2022).

### 2.3.8 Uji *Fourier Transform Infrared Spectrophotometry (FTIR)*

Analisis menggunakan FTIR dilakukan untuk *dry powder inhaler* yang telah dibuat, dan AmB murni. Analisis dilakukan pada bilangan gelombang antara 400 cm<sup>-1</sup> sampai 4000 cm<sup>-1</sup> (Chang *et al.*, 2021).

### 2.3.9 Pengumpulan dan Analisis Data

Data hasil penelitian berupa hasil uji pelepasan secara *in vitro* dikumpulkan dan dianalisis secara statistika dengan menggunakan aplikasi IBM SPSS®. Data hasil penelitian dianggap berbeda secara signifikan apabila  $p \leq 0,05$ .

