

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit ulkus lambung (*gastric ulcer*) merupakan penyakit global yang diperkirakan lebih dari 5-10% populasi dunia mengalaminya. Penyakit ini ditandai dengan hilangnya lapisan mukosa pada saluran gastrointestinal akibat sekresi asam lambung atau pepsin. Pasien yang menderita penyakit ini sering mengalami nyeri epigastrik yang memburuk saat makan, mual ringan, dan cepat kenyang. Gejala tersebut dapat berlanjut selama berminggu-minggu hingga berbulan-bulan jika tidak diobati (Malik *et al.*, 2023). Pengobatan perlu segera dilakukan karena selain menimbulkan rasa sakit atau gejala lainnya, penyakit ini juga dapat meningkatkan morbiditas dan mortalitas yang berkaitan dengan komplikasi seperti pendarahan dan perforasi (Gore dan Levine, 2022).

Pilihan terapi untuk penyakit ulkus lambung umumnya adalah kombinasi antibiotik dan obat penekan asam lambung seperti antagonis H<sub>2</sub> dan *Proton Pump Inhibitor* (PPI) (Gupta *et al.*, 2023). Namun, meningkatnya resistensi antibiotik menyebabkan pengobatan antibiotik kurang efektif (Medakina *et al.*, 2023). Pengobatan dengan antagonis reseptor H<sub>2</sub> dapat menurunkan sekresi asam tetapi memerlukan durasi pemberian yang lama untuk terapi tukak (Gupta *et al.*, 2023; Tuskey dan Peura, 2013). Pengobatan dengan PPI lebih banyak diterapkan karena mengurangi ekskresi asam lambung dan memiliki aktivitas bakteristatik terhadap *Helicobacter pylori*. Namun, PPI memiliki efek samping yaitu peningkatan pH lambung, hipoklorhidria (asam lambung rendah), dan aklorhidria (sekresi asam lambung sangat rendah). Pengobatan PPI dalam jangka panjang juga sangat berdampak pada flora usus yang mengakibatkan kelainan metabolisme dan berbagai penyakit pencernaan. Alasan tersebut menyebabkan pengobatan yang dilakukan kurang efektif sehingga dibutuhkan pengobatan terbaru dalam mengatasi penyakit ulkus lambung (Suzuki *et al.*, 2022).

Pengobatan dengan bahan alam merupakan salah satu upaya yang dapat digunakan sebagai pilihan terbaik untuk mengatasi ulkus lambung (Shahzad *et al.*, 2024). Pemanfaatan bahan alam juga sejalan dengan program saintifikasi jamu yang dijalankan oleh Kementerian Kesehatan RI sejak tahun 2010 dengan memberikan bukti ilmiah terkait keamanan dan khasiat tanaman obat (Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 3, 2010). Salah satu senyawa alam yang terbukti memiliki aktivitas dalam mengobati ulkus lambung yaitu zerumbon (NPCS, 2018; Sidahmed *et al.*, 2015).

Zerumbon (Zer) merupakan senyawa seskiterpenoid yang ditemukan dalam rimpang lempuyang (*Zingiber zerumbet*). Senyawa ini telah dilaporkan memiliki berbagai aktivitas farmakologis karena memiliki sifat antikarsinogenik, antiinflamasi, antibakteri, *et al.*, 2022; Girisa *et al.*, 2019; Kiyama, 2020; Sut *et al.*, 2018). Ia dilaporkan memiliki aktivitas dalam melindungi mukosa lambung tukak lambung dengan meningkatkan produksi mukus, berperan dan menginduksi *Heat Shock Protein 70* (HSP-70) yang berfungsi proliferasi sel dan angiogenesis pada daerah ulkus. Oleh karena itu, ia memiliki potensi sebagai obat yang lebih aman dan efektif dalam mengobati ulkus lambung (Sidahmed *et al.*, 2015). Penghantaran obat pada ulkus



lambung masih memiliki keterbatasan karena lingkungan lambung yang ekstrim. Oleh karena itu, dibutuhkan sistem penghantaran obat yang tepat untuk meningkatkan potensi terapeutik dari Zer (Kesharwani dan Bhat, 2020).

Sistem penghantaran obat konvensional seperti tablet, kapsul, atau larutan masih belum efektif dalam menghantarkan obat. Hal ini disebabkan oleh faktor anatomi gastrointestinal, faktor biokimia, dan faktor fisiologi yang membuatnya memiliki keterbatasan seperti bioavailabilitas yang buruk, kelarutan yang buruk, penyerapan yang buruk dalam tubuh, masalah dengan penghantaran target spesifik, dan kemungkinan efek samping obat (Majumder *et al.*, 2019; Patra *et al.*, 2018). Berkaitan dengan masalah tersebut, dibutuhkan suatu sistem penghantaran obat yang dapat meningkatkan efektivitas obat. Saat ini terdapat beberapa sistem penghantaran obat yang terbukti meningkatkan efektivitas pengobatan seperti nanopartikel (Lou *et al.*, 2023).

Nanopartikel (NPs) merupakan suatu sistem penghantaran nano dengan ukuran berkisar 1-1000 nm yang mengandung obat-obatan yang dienkapsulasi, didispersikan, diadsorpsi, atau dikonjugasikan. Penerapan NPs menunjukkan potensi besar dalam pengiriman obat baik organik maupun anorganik (Clogston *et al.*, 2019). Keuntungan NPs antara lain melindungi obat dari kondisi saluran gastrointestinal, menargetkan tempat tertentu (efek lokal), dan menjamin pelepasan terkendali (Lou *et al.*, 2023). Beberapa formulasi NPs telah dirancang untuk menargetkan daerah tertentu di saluran gastrointestinal, daerah yang terluka di gastrointestinal, atau sel-sel tertentu di dalam saluran gastrointestinal (Tanggal *et al.*, 2017). Salah satu NPs dengan sistem pelepasan tertunda yaitu nanopartikel yang dibuat menggunakan matriks hidrofobik yang dapat terurai secara hayati seperti kitosan, gelatin, *Poly Lactic-co-Glycolic Acid* (PLGA), *polycaprolactone*, dan gelatin (Idrees *et al.*, 2020).

*Poly (Lactic-co-Glycolic Acid)* (PLGA) merupakan polimer yang *biodegradable*, *biocompatible*, dan telah disetujui *Food and Drug Administration* (FDA). Polimer ini dihidrolisis menjadi monomernya yang bersifat endogen dan digunakan oleh tubuh melalui siklus asam sitrat (Rocha *et al.*, 2022; Ozturk *et al.*, 2019). PLGA tersedia secara komersial dengan berat molekul yang berbeda tergantung pada rasio komposisi kopolimer. Berat molekul dari PLGA secara langsung memengaruhi sifat-sifat NPs seperti ukuran, kemampuan pelepasannya, dan biokompatibilitas. Karakteristik tersebut yang menyebabkan PLGA banyak digunakan sebagai matriks untuk membuat NPs (Shakya *et al.*, 2023).

Sejauh pengetahuan, masih belum ada penelitian yang secara spesifik meneliti pengaruh variasi konsentrasi PLGA terhadap karakteristik fisika kimia NPs yang mengandung Zer (Zer/PLGA NPs). Oleh karena itu, telah dilakukan penelitian untuk mencari informasi bagaimana variasi konsentrasi PLGA dapat memengaruhi sifat fisika kimia NPs yang mengandung Zer.



## 1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh konsentrasi polimer PLGA terhadap karakteristik fisika kimia Zer/PLGA NPs?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengevaluasi pengaruh konsentrasi polimer PLGA terhadap karakteristik fisika kimia Zer/PLGA NPs



## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas (Pyrex<sup>®</sup>), *Differential Scanning Calorimetry* (DSC Q2000 V24.10 Build 122) (Netzsch Proteus<sup>®</sup>), *freeze dryer* (Zhengzhou Keda<sup>®</sup>), *magnetic stirrer* (Joanlab<sup>®</sup>), *high speed dispersion homogenizer* FJ200-SH (AIK<sup>®</sup>), *high speed refrigerated centrifuge* MK-20RB (MKE<sup>®</sup> 800-1), mikropipet (Joanlab<sup>®</sup>), penangas es, *Scanning Electron Microscope* (SEM), spektrofotometer FT-IR (Shimadzu<sup>®</sup>), spektrofotometer UV-Vis (Jinghua<sup>®</sup> 754PC), *Thermo Gravimetric Analyzer* (TGA) (Linseis Q50 V20.13 Build 39), timbangan analitik (Sojilab<sup>®</sup> HPSJ5001), vortex (DLab<sup>®</sup>), *probe sonicator* (Scientz-IID<sup>®</sup> 900 W), *waterbath sonicator* (DigitalPro+<sup>®</sup>), *X-Ray Diffractometry* (XRD), zeta sizer (Malvern Nano Zeta-Sizer<sup>®</sup>).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *aquadest* (Waterone<sup>®</sup>), diklorometana (DCM) (Macklin<sup>®</sup>), *methanol pro analysis* (Macklin<sup>®</sup>), PLGA (50:50 DLG 5E, BM 54,000 – 69,000 g/mol), *Poly Vinyl Alcohol* (PVA) (BM 44,05 g/mol) (Merckmillipore<sup>®</sup>), dan Zer (sumbangan dari peneliti Nurhasni Hasan).

#### 2.2 Metode Penelitian

##### 2.2.1 Formulasi Zer/PLGA NPs

Pembuatan NPs dilakukan dengan metode emulsifikasi *Organic-in-Water* (O/W) penguapan pelarut mengikuti komposisi pada Tabel 1. Tahap pertama dilakukan dengan mencampur PLGA dengan Zer. Khusus untuk NPs blanko (PLGA NPs) dibuat tanpa menggunakan Zer. Campuran dilarutkan dengan 10 mL DCM dan dituangkan ke dalam 20 mL larutan PVA 1%. Campuran tersebut diaduk pada kecepatan tinggi 14.500 rpm menggunakan *homogenizer* selama 2 menit di atas penangas es. Emulsi disonikasi selama 3 menit di atas penangas es pada 150 W. Sebanyak 10 mL air suling ditambahkan dan pengadukan dilanjutkan pada 400 rpm dengan *magnetic stirrer* selama 4 jam untuk menguapkan pelarut organik. Setelah itu, dilakukan sentrifugasi pada 20.000 x g pada suhu 4°C selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian dibuang dan proses pencucian diulangi sebanyak tiga kali. Endapan diliofilisasi dengan *freeze dryer* dan hasilnya disimpan pada suhu -20°C untuk karakterisasi (Hasan *et al.*, 2019).

**Tabel 1. Komposisi formula Zer/PLGA NPs**

Bahan	Fungsi	Komposisi					
		F1	F1B	F2	F2B	F3	F3B
<b>Fase Organik</b>							
 )	Zat Aktif	15	-	22,5	-	30	-
	Polimer	100	100	150	150	200	200
	Pelarut	10	10	10	10	10	10
	Surfaktan	20	20	20	20	20	20
	Pelarut	10	10	10	10	10	10

### 2.2.2 Analisis Morfologi Nanopartikel

Morfologi NPs dikarakterisasi menggunakan SEM. Sampel ditempatkan pada *carbon tape* kemudian dilapisi dengan platinum dibawah vakum selama 2 menit. Morfologi nanopartikel kemudian dianalisis pada tegangan akselerasi 1 kV. Diameter partikel diukur menggunakan *software* ImageJ (Hasan *et al.*, 2019).

### 2.2.3 Analisis Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas

Penentuan ukuran partikel dan indeks polidispersitas NPs dilakukan dengan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS). NPs diencerkan dengan air deionisasi pada suhu 25 °C. Hasil pengenceran dimasukkan ke dalam kuvet untuk dianalisis menggunakan *Malvern nano-zeta sizer* (*Malvern Instruments Co.*) (Ranjan dan Dinda, 2023).

### 2.2.4 Analisis Potensial Zeta

Penentuan potensial zeta NPs dilakukan sebanyak tiga pengukuran setiap sampel. NPs diencerkan dengan air deionisasi pada suhu 25 °C. Hasil pengenceran diukur menggunakan *Malvern nano-zeta sizer* (*Malvern Instruments Co.*) (Hasan *et al.*, 2015).

### 2.2.5 Analisis X-Ray Diffraction (XRD)

Analisis kristalinitas Zer/PLGA NPs dan zat aktif dilakukan dengan menggunakan instrumen XRD. Sampel dipadatkan diatas sampel *holder* hingga permukaannya rata. Kemudian dimasukkan ke dalam alat XRD untuk dianalisis pada pengukuran *2-theta* yaitu 2,5-40° dengan sumber radiasi dari CuK $\alpha$  sebesar 1,5406 Å (Ghose *et al.*, 2021).

### 2.2.6 Analisis Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Analisis DSC dilakukan untuk mengkarakterisasi keadaan fisik (titik leleh) antara Zer dan polimer pada NPs. Zer, PLGA NPs, dan Zer/PLGA NPs disiapkan sebanyak 10 mg dan dipanaskan dalam *hermetically sealed aluminum pan* yang dilalui gas nitrogen kering untuk melihat termogram DSC masing-masing sampel pada suhu berkisar antara 0-220 °C dengan laju pemanasan 10 °C/menit (Oshi *et al.*, 2020; Ghose *et al.*, 2021).

### 2.2.7 Thermogravimetri Analysis (TGA)

Analisis TGA dilakukan dengan cara sebanyak 1-4 mg sampel berupa Zer, PLGA NPs, dan Zer/PLGA NPs masing-masing ditempatkan dalam *aluminum pan*. Perubahan berat sampel kemudian dianalisis di bawah aliran gas nitrogen kering pada suhu 30-350 °C dengan laju pemanasan 10 °C/menit (Ghose *et al.*, 2021).



### rier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

an untuk melihat interaksi fisik obat melalui spektrum dari Zer dan 0 mg potasium bromida dicampur dengan 20 mg sampel hingga patkan pada cakram. Spektrum direkam pada IR dengan rentang ngga 500 cm<sup>-1</sup> (Ghose *et al.*, 2021).

## 2.2.9 Penentuan Kadar Zer

### 2.2.9.1 Pembuatan Larutan Stok

Pembuatan larutan stok 1000 µg/mL dilakukan dengan menimbang Zer sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL. Zer kemudian dilarutkan dengan *methanol pro analysis* dan dicukupkan hingga 10 mL. Larutan disonikasi hingga homogen dan jernih.

### 2.2.9.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara larutan stok Zer 1000 µg/mL diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 24 µg/mL menggunakan *methanol pro analysis*. Larutan kemudian dianalisis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis.

### 2.2.9.3 Pembuatan Kurva Baku Zer

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan cara sebanyak 1 mL dari larutan stok dicuplik dan dicukupkan dengan *methanol pro analysis* hingga 10 mL untuk memperoleh konsentrasi 100 µg/mL. Dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 8, 12, 16, 20, dan 24 µg/mL dengan mencuplik larutan baku 100 µg/mL berturut-turut sebanyak 0,4 mL, 0,6 mL, 8 mL, 10 mL dan 1,2 mL kemudian dilarutkan secara terpisah dalam *methanol pro analysis* hingga volume akhir mencapai 5 mL. Absorbansi setiap konsentrasi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum Zer. Kurva kalibrasi dibuat dengan memplot absorbansi (sepanjang sumbu x) terhadap konsentrasi (sepanjang sumbu y) untuk memperoleh persamaan regresi linear  $y = a+bx$ .

## 2.2.10 Uji Drug Loading (DL) dan Encapsulation Efficiency (EE)

Persiapan sampel uji dilakukan dengan cara 10 mg sampel NPs dilarutkan dalam 10 mL metanol PA dan disonikasi selama 15 menit hingga larut. Larutan diencerkan menjadi 20 µg/mL dengan metanol PA untuk selanjutnya dianalisis pada panjang gelombang maksimum. Penentuan DL (%) dan EE (%) ditentukan menggunakan persamaan (1) dan (2) (Clerici *et al.*, 2021).

$$\%DL = \frac{\text{Jumlah Zer dalam NPs hasil analisis}}{\text{Jumlah Zer dalam sediaan secara teoritis}} \times 100\% \quad (1)$$



$$= \frac{\text{Jumlah Zer dalam NPs}}{\text{Jumlah total polimer dan Zer}} \times 100\% \quad (2)$$

### 2.2.11 Analisis Statistik

Data hasil yang telah diperoleh kemudian dikumpulkan menggunakan *Microsoft Excel*<sup>®</sup> dan dianalisis secara statistik menggunakan *GraphPad Prism*<sup>®</sup>. Data yang diperoleh terdistribusi secara normal sehingga analisis dilanjutkan dengan uji parametrik *One-Way Anova*. Selanjutnya dilakukan analisis *multiple comparison (Post Hoc Test)* melalui uji *Tukey's Honest Significant Difference*. Data dinyatakan berbeda secara signifikan apabila hasil analisis menunjukkan nilai  $p < 0,05$ .

