

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

*Sustainable Development Goals* (SDGs) menargetkan kehidupan yang sehat dan sejahtera, salah satunya yaitu mengurangi prevalensi penyakit tidak menular seperti *β-thalassemia mayor* ( $\beta$ -TM) pada tujuan ketiga. Menurut data dari *World Health Organization* (WHO), terdapat lebih dari 156,76 juta orang dari total populasi dunia menderita  $\beta$ -TM pada tahun 2021 yang setiap tahunnya menyebabkan 50-100 ribu anak meninggal (WHO, 2021). Di Indonesia, prevalensi  $\beta$ -TM berkisar antara 6-10% dan diperkirakan setiap tahunnya terdapat 5,52 juta bayi lahir sebagai *thalassemia carrier* (WHO, 2021; Yuliani dkk., 2023).  $\beta$ -TM merupakan penyakit kelainan genetik yang sampai saat ini belum dapat disembuhkan. Mutasi protein pada penyakit  $\beta$ -TM memicu penurunan kadar sel darah merah secara berlebihan, sehingga menyebabkan berbagai komplikasi serius seperti osteoporosis, hepatitis, kelainan saraf, sindrom metabolik, gagal jantung, hingga kematian (Rediyanto, 2023). Hingga saat ini, transfusi darah adalah satu-satunya *gold standard* untuk mengatasi eritropoeisis yang buruk pada penderita  $\beta$ -TM.

Transfusi darah mampu menekan terjadinya eritropoeisis, tetapi zat besi yang terkandung dalam darah yang ditransfusikan sebagian besar tidak dapat diekskresikan oleh tubuh. Hal tersebut menyebabkan terjadinya *iron overload* (IO) dan memicu pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat menyebabkan komplikasi serius hingga kematian (Porter dan Taher, 2021). Solusi untuk mencegah terjadinya IO adalah penggunaan terapi *iron chelator* (IC), salah satunya adalah deferiprone (DFP). DFP jika dibandingkan dengan rejimen IC lainnya, menunjukkan tingkat kepatuhan yang tinggi dan profil efikasi yang lebih baik (Basu dkk., 2021; Kontoghiorghes, 2023). Namun, hingga saat ini DFP hanya tersedia dalam bentuk sediaan tablet dan kapsul yang diberikan secara oral. Pemberian DFP secara oral menyebabkan obat ini termetabolisme dengan cepat di hati dan memiliki waktu paruh yang singkat, sehingga meningkatkan frekuensi pemberian dan dapat menyebabkan efek samping gastrointestinal, agranulositosis, serta neutropenia. (Basu dkk., 2021). Oleh karena itu, diperlukan sistem penghantaran DFP yang lebih efektif untuk menghindari efek samping tersebut.

Hruby dkk. (2021) sebelumnya telah berhasil mengembangkan DFP dalam bentuk *micell nanocarrier* yang mampu mengatasi masalah terkait waktu paruh dan meningkatkan bioavailabilitas DFP. Namun, pemberiannya melalui rute oral belum mampu mengontrol pelepasan DFP, menghindari metabolisme lintas pertama di hati, dan efek samping gastrointestinal (Hruby dkk., 2021). Untuk mengatasi permasalahan tersebut, rute penghantaran transdermal merupakan salah satu rute alternatif yang dapat digunakan. Penghantaran IC dalam sistem transdermal *patch* telah berhasil dikembangkan dan mampu mengatasi efek samping gastrointestinal. Meskipun sistem ini berpotensi untuk arkan DFP melalui transdermal, akan tetapi permeasi yang rendah dan pelepasan | tidak terkontrol belum dapat diatasi (Lintel dkk., 2022). Hal ini memungkinkan elepasan DFP bahkan pada kondisi kadar zat besi normal yang memicu terjadinya zat besi. Sebelumnya, Hašková dkk. (2022) telah berhasil mengembangkan polimer nse berbasis *ferrocene* (IR-FC) melalui rute oral yang mendorong pelepasan IC pada



kondisi IO dan menahan pelepasan IC pada kondisi kadar zat besi normal, sehingga berhasil mengatasi defisiensi zat besi sekaligus mampu mengontrol pelepasan IC secara selektif (Hašková dkk., 2022). Namun, penggunaan polimer IR-FC melalui rute oral masih memiliki banyak kekurangan, sehingga masih diperlukan sistem yang mampu mengatasi efek gastrointestinal, waktu paruh yang singkat, serta meningkatkan bioavailabilitas DFP.

Sistem IR-FC dari DFP dalam bentuk nanopartikel (NP-IR) berpotensi mengontrol pelepasan DFP, meningkatkan retensi serta waktu paruh yang berdampak pada peningkatan bioavailabilitas DFP. NP-IR dimaksimalkan penghantarannya melalui sistem *dissolving microneedle* (DMN) untuk menghindari efek samping gastrointestinal dan meningkatkan permeasi obat ke pembuluh darah sekitar 80% lebih baik dibandingkan sistem transdermal *patch* (Syafika dkk., 2023). DMN mampu berpenetrasi melalui penghalang utama masuknya molekul obat dalam pembuluh darah yaitu *stratum corneum* (SC). Penggunaan polimer DMN yang bersifat *biodegradable* tidak meninggalkan residu pada kulit setelah diaplikasikan karena mampu melarut dengan cairan interstisial kulit dan melepaskan obat yang terenkapsulasi di dalamnya (Samma dkk., 2024). Penelitian ini bertujuan mengembangkan penghantaran DFP dalam bentuk NP-IR yang dihantarkan melalui DMN (NP-IR-DMN). Diharapkan pengembangan sistem ini berpotensi meningkatkan efektivitas terapi IO serta sebagai upaya pencegahan defisiensi zat besi pada penderita  $\beta$ -TM sekaligus meningkatkan kualitas hidup dan menurunkan angka mortalitas akibat  $\beta$ -TM sesuai tujuan ketiga SDGs.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu:

1. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi polimer IR-FC terhadap karakteristik fisika-kimia dari NP-IR?
2. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi polimer IR-FC terhadap profil pelepasan dari NP-IR secara *in vitro*?
3. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi dari kombinasi PVA dan PVP terhadap karakteristik fisik dan waktu melarut dari sistem NP-IR-DMN untuk memperoleh formula optimal?



### 1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi polimer IR-FC terhadap karakteristik fisika-kimia dari NP-IR
2. Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi polimer IR-FC terhadap profil pelepasan dari NP-IR secara *in vitro*
3. Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi dari kombinasi PVA dan PVP terhadap karakteristik fisik dan waktu melarut dari sistem NP-IR-DMN untuk memperoleh formula optimal



## BAB II METODE PENELITIAN

### 2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas, cetakan *microneedle* (MPatch™ dengan tinggi = 700 µm, kemiringan = 500 µm, dan dasar = 200 µm; susunan 10 x 10, Micropoint Technologies Pte Ltd, Singapore), FTIR (Accutrac FT/IR-4100™ Series, UK), *homogenizer* (T 50 Basic, IKA, German), kertas saring Whatman® No. 4, *magnetic stirrer*, membran selofan, mikropipet, mikroskop (Olympus CX23, Japan), PSA (Zetasizer Malvern Instruments), SEM (SU3900, Hitachi High-Tech's, UK), *shaker* (OS-752, Optima, Japan), spektrofotometer UV-vis (Dynamica HALO XB-10, Australia), dan XRD (Rigaku Corporation, England).

Bahan yang digunakan yaitu akuades, asam klorida (HCl 1,0 M), besi (II) klorida (FeCl<sub>3</sub>), besi (II) sulfat (FeSO<sub>4</sub>), DFP, dietil eter, diklorometana (DCM), *ferrocene* (FC), heksana, metanol, natrium hidroksida (NaOH 1,0 M), natrium klorida (NaCl 0,9% b/v), Parafilm®, *polycaprolactone* (PCL), *polyethylene glycol* (PEG), *polyvinyl alcohol* (PVA), dan *polyvinyl pyrrolidone* (PVP),

### 2.2 Metode Kerja

#### 2.2.1 Sintesis Polimer IR-FC

Polimer IR-FC disintesis menggunakan metode polimerisasi cincin terbuka. Sebanyak 4 g polietilen glikol (PEG) 4000 dilarutkan dengan 24 mL diklorometana (DCM), kemudian ditambahkan 1 g *polycaprolactone* (PCL). Setelah larut sempurna, ditambahkan katalisator dietil eter : asam klorida (HCL) 1,0 M (5:1). Campuran kemudian di-*stirrer* dengan suhu 30°C menggunakan *magnetic stirrer* selama 24 jam. Setelah 24 jam, ditambahkan 0,5 mL natrium hidroksida 1,0 M untuk menetralsir HCl. Garam yang terbentuk disaring menggunakan kertas saring (Whatman® 4). Kopolimer kemudian diendapkan dengan dietil eter : heksana (1:1) (Febrianti dkk., 2024). Tahapan selanjutnya dilakukan penambahan polimer FC sebanyak 0,04 g ke dalam 1 g kopolimer PEG-PCL yang dilarutkan dalam 10 mL DCM. Setelah itu, pelarut dalam campuran dihilangkan melalui penguapan menggunakan *magnetic stirrer* untuk menghasilkan kopolimer IR-FC (Song dkk., 2021).

#### 2.2.2 Formulasi NP-IR

Formulasi NP-IR dilakukan dengan metode penguapan pelarut menggunakan komposisi seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 1**. IR-FC hasil sintesis dilarutkan dalam 5 mL DCM dan ditambahkan stabilizer berupa larutan PVA 1% (b/b) kemudian dihomogenkan menggunakan homogenizer pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Selama proses pencampuran, ditambahkan DFP yang telah dilarutkan dalam akuades pada campuran tersebut. Setelah proses pencampuran selesai, pelarut organik dari campuran diuapkan menggunakan *magnetic stirrer* 5 selama 5 jam. NP-IR kemudian disentrifugasi, dicuci dengan air untuk menghilangkan sisa residu dan dikeringkan pada suhu 37°C (Song dkk., 2021).



**Tabel 1.** Formula NP-IR

Komposisi	Bobot (mg)		
	NP-IR 1	NP-IR 2	NP-IR 3
DFP	50	50	50
<i>Polyvinyl alcohol</i> (PVA) 1%	25	25	25
Polimer IR-FC	50	100	150

### 2.2.3 Karakterisasi NP-IR

Karakterisasi NP-IR melibatkan beberapa metode pengujian. Morfologi partikel dievaluasi menggunakan SEM dan ukuran partikel diukur menggunakan PSA. Untuk menentukan persentase efisiensi penjerapan dan pemuatan obat, supernatan hasil sentrifugasi formula diukur menggunakan spektrofotometer UV-vis. Hasil yang diperoleh kemudian dihitung menggunakan persamaan (1) dan (2).

$$\% \text{Efisiensi penjerapan} = \frac{(\text{Jumlah DFP total} - \text{DFP terinkorporasi})}{\text{Jumlah DFP total}} \times 100 \quad (1)$$

$$\% \text{Pemuatan obat} = \frac{\text{Jumlah DFP dalam NP-IR}}{\text{Jumlah total NP-IR}} \times 100 \quad (2)$$

### 2.2.4 Uji Pelepasan secara *In Vitro*

Uji pelepasan DFP dari NP-IR dilakukan dengan metode dialisis menggunakan media air pH 7,4 yang menggambarkan kondisi fisiologis tubuh dan media air dengan penambahan  $\text{FeSO}_4$  1%, 2%, dan 4% (b/v) untuk pemodelan kondisi IO (Yuan dkk., 2009). DFP murni dimasukkan ke dalam membran selofan dan direndam dalam 100 mL media pelepasan pada suhu 37°C dengan kecepatan putaran 100 rpm. Media dicuplik dan diganti dengan media baru sebanyak 1,5 mL pada interval waktu 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 12; dan 24 jam. Media yang telah dicuplik kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 500 rpm dan diukur pelepasan DFP menggunakan spektrofotometer UV-vis (Permana dkk., 2023).

### 2.2.5 Formulasi NP-IR-DMN

Formula NP-IR dengan karakteristik terbaik diformulasikan dalam sistem DMN dengan memvariasikan konsentrasi *polyvinyl pyrrolidone* (PVP) dan PVA sesuai komposisi pada **Tabel 2**. Kedua lapisan dibuat dengan menggunakan metode cetak tuang dan dikeringkan selama 24 jam suhu 37°C (Febrianti dkk., 2024).

**Tabel 2.** Formula NP-IR-DMN

Formula	Lapisan 1: <i>Needle</i> (%b/b)			Lapisan 2: <i>Baseplate</i> (%b/b)			
	NP-IR	PVA	PVP	Air	PVP	PVA	Air
DMN 1		5	25	60			
DMN 2		10	25	55			
DMN 3	10	15	25	50	30	10	60
4		10	20	60			
5		15	15	60			



### 2.2.6 Karakterisasi NP-IR-DMN

Karakterisasi dilakukan dengan mengamati morfologi NP-IR-DMN menggunakan mikroskop (Olympus CX23, Japan). Uji kekuatan mekanik dan kemampuan penetrasi dilakukan menggunakan Parafilm® dengan meletakkan NP-IR-DMN di atas delapan lapis Parafilm® ( $\approx 1$  mm;  $126 \mu\text{m/lapis}$ ) yang diberi tekanan sebesar 32 N selama 30 detik menggunakan teknik kompresi manual. Kekuatan mekanik dan kemampuan penetrasi dinyatakan dalam bentuk persentase menggunakan persamaan (1) dan (2). Waktu melarut ditentukan dengan mengevaluasi morfologi NP-IR-DMN setelah diaplikasikan pada kulit tikus (Samma dkk., 2024).

$$\% \text{Kekuatan mekanik} = \frac{\text{Tinggi sebelum uji} - \text{Tinggi sesudah uji}}{\text{Tinggi sebelum uji}} \times 100 \quad (1)$$

$$\% \text{Kemampuan penetrasi} = \frac{\text{Jumlah lubang yang teramati}}{\text{Jumlah lubang keseluruhan}} \times 100 \quad (2)$$

### 2.2.7 Analisis dan Pengolahan Data

Hasil data yang diperoleh, dikumpulkan dan ditabulasi menggunakan Microsoft Excel® 2021 (Microsoft Corporation, Redmond, USA). Selanjutnya data diuji secara statistik menggunakan metode *One Way Anova*. Hasil eksperimen dianalisis dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik menggunakan GraphPad Prism® versi 5,0 (GraphPad Software, California, USA). dengan nilai signifikansi  $p < 0,05$  yang disimbolkan (\*),  $p < 0,01$  yang disimbolkan (\*\*), dan  $p < 0,001$  yang disimbolkan (\*\*\*)

