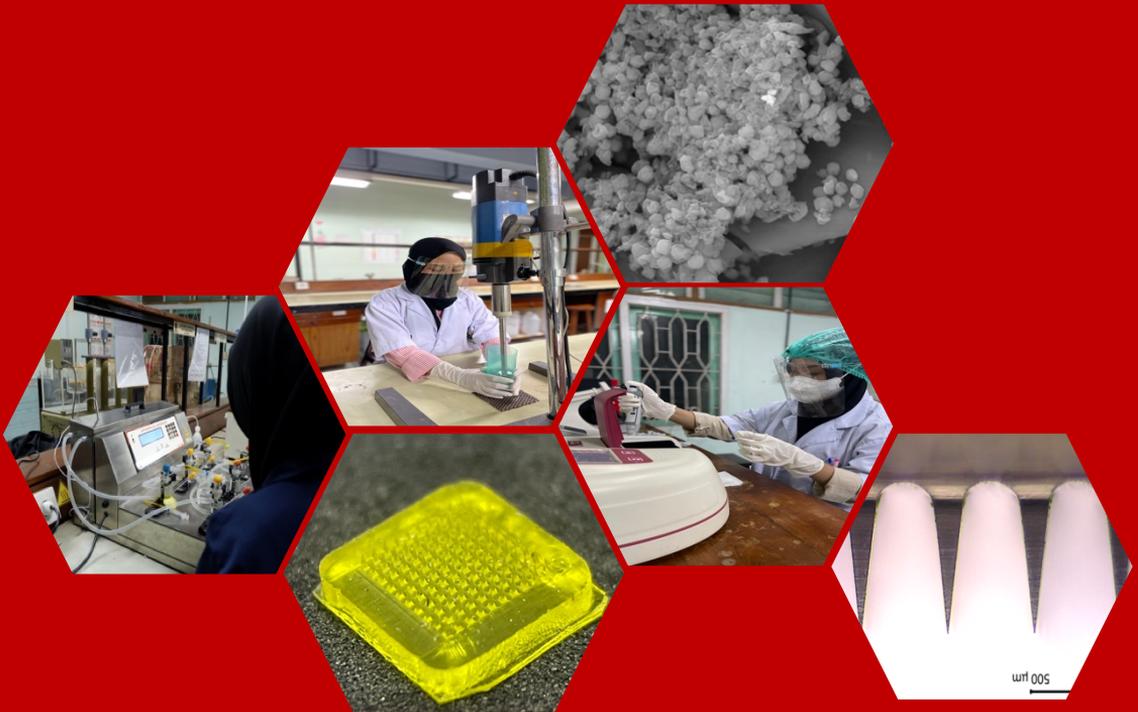


**FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISIK DISSOLVING MICROARRAY
PATCH METHOTREXATE BERBASIS PH-SENSITIVE NANOPARTICLE**



**NUR QADRI FEBRIANTI
N011201044**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**



**FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISIK *DISSOLVING MICROARRAY*
PATCH METHOTREXATE BERBASIS *PH-SENSITIVE NANOPARTICLE***

**NUR QADRI FEBRIANTI
N011201044**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISIK *DISSOLVING MICROARRAY
PATCH* METHOTREXATE BERBASIS *PH-SENSITIVE NANOPARTICLE***

NUR QADRI FEBRIANTI
N011201044

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Farmasi

pada

**PROGRAM STUDI FARMASI
DEPARTEMEN FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

FORMULASI DAN KARAKTERISASI FISIK *DISSOLVING MICROARRAY*
PATCH METHOTREXATE BERBASIS *PH-SENSITIVE NANOPARTICLE*

NUR QADRI FEBRIANTI
N011201044

Skripsi,

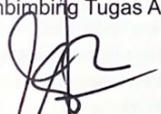
telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi pada
16 Februari 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada



Program Studi Farmasi
Departemen Farmasi
Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:
Pembimbing Tugas Akhir,


Prof. Andi Dian Permana. S.
M.Si., Ph.D., Apt.
NIP 19890205 201212 1 002

Mengetahui:
Wakil Dekan Bidang Akademik dan
Kernahasiswaan,




..... S., M.Si., Ph.D.,
NIP 111 200 12 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Formulasi dan Karakterisasi Fisik *Dissolving Microarray Patch* Methotrexate berbasis *pH-Sensitive Nanoparticle*" adalah benar karya saya dengan arahan dari Prof. Andi Dian Permana. S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 26 Feb 2024

Nur Qadri Febrianti
N011201044



Ucapan Terima Kasih

Bismillahirrahmanirrahim, puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala atas berkat, rahmat dan karunianya yang telah dilimpahkan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Tidak lupa pula penulis haturkan sholawat serta salam kepada baginda Rasulullah Muhammad sallallahu a'laihi wasallam.

Penulis menyadari bahwa berkat dukungan dan bantuan dari semua pihak, skripsi ini dapat penulis selesaikan dengan baik. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan banyak terimakasih kepada Kepada orang tua dan kakak yang selalu memberi dukungan dan mensupport penulis saat dalam keadaan yang terombang-ambing. Dosen pendamping akademik saya ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt. Bapak Prof. Andi Dian Permana, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. selaku dosen pembimbing yang dengan ikhlas dan sabar meluangkan waktu, tenaga, ilmu, dan mengarahkan penulis dengan sangat baik sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si, Apt. dan Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan saran yang diberikan kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini. Dekan dan wakil dekan serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin telah melayani dengan baik dan menyediakan fasilitas kepada penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Kepada Kementrian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi serta pengelola Program Kreativitas Mahasiswa yang telah mendanai penelitian penulis. Kepada qila, afika, opi, rio, fikri, dan lio yang selalu ada menemani, membantu dan menghibur penulis selama penyusunan skripsi ini. Kepada teman-teman sopres mimil dan ame yang telah menemani penulis dalam menyelesaikan skripsi ini serta pengurusan berkas penyelesaian. Idris, rafli, ryan, dan ai yang selalu mendukung dan menghibur penulis selama penyusunan skripsi ini. Kepada teman-teman posoka yang telah membantu penulis selama mengerjakan di Laboratorium. Kepada teman-teman Farmasi angkatan 2020 (HE2OIN) yang selalu menghibur dan menemani penulis hingga saat ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat memberikan manfaat kepada ilmu pengetahuan dan dipergunakan dengan sebaik-baiknya.

Penulis,

Nur Qadri Febrianti

ABSTRAK

NUR QADRI FEBRIANTI. **Formulasi dan karakterisasi fisik *dissolving microarray patch methotrexate* berbasis *pH-sensitive nanoparticle*** (dibimbing oleh Andi Dian Permana)

Latar belakang. Methotrexate (MTX) merupakan obat lini pertama dalam terapi artritis reumatoid (AR) yang diberikan secara konvensional, namun menyebabkan banyak efek samping sistemik dan rendahnya bioavailabilitas. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh formula *smart nanoparticle dissolving microarray patch* (SNP-DMAP-MTX) yang paling optimal untuk mengatasi permasalahan tersebut. **Metode.** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang terdiri atas formulasi, uji kekuatan mekanik, uji kemampuan penetrasi dan uji permeasi secara *ex vivo*. Data dianalisis secara statistik menggunakan aplikasi IBM SPSS®. **Hasil.** Hasil penelitian diperoleh karakteristik formula dengan ukuran jarum yang sangat kecil dengan tinggi rata-rata 600-700 μm . Uji kekuatan mekanik diperoleh formula DMAP2 merupakan formula yang paling baik karena menghasilkan nilai %reduksi yaitu $7,89 \pm 1,14\%$. Uji kemampuan penetrasi diperoleh bahwa formula DMAP2 merupakan formula terbaik karena mampu menembus hingga lapisan keempat Parafilm®. Uji permeasi diperoleh hasil bahwa perbedaan pH dapat mempengaruhi konsentrasi MTX yang terlepas dari SNP-DMAP-MTX. Hal ini dipengaruhi oleh MTX yang digunakan dalam bentuk *pH-sensitive nanoparticle*. Diperoleh nilai permeasi yang optimal pada media PBS pH 5 yaitu $51,55 \pm 3,22 \mu\text{g/mL}$. **Kesimpulan.** Formula DMAP2 merupakan formula yang paling optimal untuk dikembangkan karena memiliki karakteristik fisik dan profil permeasi yang paling optimal. Selain itu, penggunaan MTX dalam bentuk *pH-sensitive nanoparticle* dapat mempengaruhi konsentrasi MTX yang terlepas sehingga dapat mengatasi permasalahan efek samping sistemik MTX.

Kata kunci: artritis reumatoid; methotrexate; PVP K30; HA; *pH-sensitive nanoparticle*.

ABSTRACT

NUR QADRI FEBRIANTI. **Formulation and physical characterization of dissolving microarray patch of methotrexate based on pH-sensitive nanoparticle** (supervised by Andi Dian Permana).

Background. Methotrexate (MTX) is the first-line drug in conventionally administered rheumatoid arthritis (AR) therapy but it causes many systemic side effects and low bioavailability. **Objective.** This study aims to obtain the most optimal smart nanoparticle dissolving microarray patch (SNP-DMAP-MTX) formula to overcome these problems. **Methods.** This study is an experimental study consisting of formulation, mechanical strength test, penetration ability test and ex vivo permeation test. Data were statistically analysed using IBM SPSS®. **Results.** The results obtained characteristics of the formula with a very small needle size with an average height of 600-700 μm . Mechanical strength test obtained that DMAP2 formula was the best formula because it produces a %reduction value of $7.89 \pm 1.14\%$. The penetration ability test found that formula DMAP2 was the best formula because it was able to penetrate up to the fourth layer of Parafilm®. The permeation test showed that the difference in pH can affect the concentration of MTX released from SNP-DMAP-MTX. This was influenced by MTX used in the form of pH-sensitive nanoparticles. The optimal permeation value was obtained in PBS pH 5 media, which was $51.55 \pm 3.22 \mu\text{g/mL}$. **Conclusion.** The DMAP2 formula was the most optimal formula to develop because it has the most optimal physical characteristics and permeation profile. In addition, the use of MTX in the form of pH-sensitive nanoparticles can affect the concentration of MTX released so that it can overcome the problem of MTX systemic side effects.

Keywords: rheumatoid arthritis; methotrexate; PVP K30; HA; pH-sensitive nanoparticles.

DAFTAR ISI

	HALAMAN
UCAPAN TERIMA KASIH	VI
ABSTRAK	VII
<i>ABSTRACT</i>	<i>VIII</i>
DAFTAR ISI	IX
DAFTAR TABEL	X
DAFTAR GAMBAR	X
DAFTAR LAMPIRAN	XII
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Teori	2
1.3. Tujuan dan Manfaat	5
BAB II METODE PENELITIAN	6
2.1. Tempat dan Waktu	6
2.2. Bahan dan Alat	6
2.3. Metode Penelitian	6
2.4 Pengumpulan dan Analisis Data	8
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	7
3.1. Hasil	7
3.2 Pembahasan	11
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	15
4.1. Kesimpulan	15
4.2. Saran	15
DAFTAR PUSTAKA	16
LAMPIRAN	19

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Komposisi Formula SNP-DMAP-MTX.....	7
2. Kurva Baku MTX PBS pH 7,4	21
3. Kurva Baku MTX PBS pH 5.....	21
4. Tinggi Jarum Sebelum Pengujian.....	21
5. Tinggi Jarum Sesudah Pengujian.....	21
6. %Reduksi	22
7. Uji Kemampuan Penetrasi DMAP1.....	22
8. Uji Kemampuan Penetrasi DMAP2.....	22
9. Uji Kemampuan Penetrasi DMAP3.....	22
10. Uji Kemampuan Penetrasi DMAP4.....	23
11. Uji Kemampuan Penetrasi DMAP5.....	23
12. Uji Kemampuan Penetrasi SNP-DMAP-MTX PADA PBS pH 7,4	24
13. Uji Kemampuan Penetrasi SNP-DMAP-MTX PADA PBS pH 5	26
14. Uji Kemampuan Penetrasi DMAP-MTX PADA PBS pH 7,4	27
15. Uji Kemampuan Penetrasi DMAP-MTX PADA PBS pH 5.....	29
16. Data Analisis Statistik Uji Kekuatan Mekanik	32
17. Data Analisis Statistik Uji Kemampuan Penetrasi.....	33
18. Data Analisis Statistik Uji Permeasi SNP-DMAP-MTX.....	34
19. Data Analisis Statistik Uji Permeasi DMAP-MTX.....	34

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Struktur Bangun MTX	3
2. Struktur Bangun PVP K30	3
3. Struktur Bangun HA	4
4. Kurva Baku MTX.....	7
5. Hasil Formulasi SNP-DMAP-MTX	10
6. Hasil Uji Kekuatan Mekanik SNP-DMAP-MTX.	10
7. Hasil Uji Kemampuan Penetrasi SNP-DMAP-MTX.	11
8. Hasil Uji Permeasi <i>Ex Vivo</i> SNP-DMAP-MTX dan DMAP-MTX	11
9. Proses Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum dan Pembuatan Kurva Baku MTX	36
10. Proses Formulasi SNP-DMAP-MTX	37
11. Proses Karakterisasi Fisik SNP-DMAP-MTX.....	37
12. Proses Uji Permeasi Secara <i>Ex Vivo</i>	38

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian	19
2. Perhitungan Uji Permeasi SNP-DMAP-MTX pH 7,4.....	20
3. Tabel Hasil Evaluasi.....	21
4. Data Hasil Analisis Statistik	32
5. Dokumentasi Penelitian	36

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

AR merupakan penyakit reumatik autoimun pada sendi yang berlangsung secara kronik progresif dan dapat menyebar ke seluruh tubuh (Wang dkk., 2022). Pada tahun 2021, terdapat sekitar 120 juta penduduk di dunia menderita AR dan di Indonesia sendiri pada tahun 2020 sekitar 1,3 juta kasus menderita AR (Hidayat dkk., 2021). AR berawal dari inflamasi pada sendi yang dapat menyebabkan komplikasi sistemik yang serius apabila tidak diobati dengan baik. Selain itu, AR dapat diderita oleh semua kalangan usia dan dapat diturunkan ke generasi berikutnya. Sehingga diperlukan pengobatan yang efektif pada penderita AR (Hidayat dkk., 2021; Wu dkk., 2022).

Methotrexate (MTX) merupakan obat lini pertama dan *gold standard* dalam terapi AR yang termasuk kedalam kelas *disease-modifying antirheumatic drugs* (DMARDs) yang diberikan melalui rute oral dan injeksi dengan dosis 7,5-25 mg/minggu (Hidayat dkk., 2021; Tekko, Chen, dkk., 2020). Namun, MTX yang diberikan secara oral dapat mengalami metabolisme lintas pertama di hati dan menyebabkan efek samping pada saluran pencernaan (gastrointestinal) (Tekko, Chen, dkk., 2020). Sedangkan, pemberian MTX melalui rute injeksi bersifat invasif, menyebabkan rasa sakit dan meningkatkan stres pasien (Qindeel dkk., 2020; Tekko, Chen, dkk., 2020). Selain itu, MTX dapat bersifat *toxic* disebabkan karena pelepasan MTX secara terus-menerus dan tidak bertarget pada sel AR sehingga dapat menyebabkan kematian sel normal dan peningkatan efek samping sistemik (Tekko, Permana, dkk., 2020). Oleh karena itu, diperlukan sistem penghantaran yang dapat mengatasi permasalahan tersebut.

Sebelumnya, telah dikembangkan beberapa penelitian untuk mengatasi permasalahan tersebut, salah satunya yaitu memformulasikan MTX ke dalam bentuk *smart nanomicelles hydrogel* melalui rute transdermal dengan menggunakan minyak eukaliptus sebagai agen penetrasi (Qindeel dkk., 2020). Sediaan ini dapat menghantarkan MTX bertarget hanya pada situs AR sehingga dapat mengatasi permasalahan efek samping sistemik dan gastrointestinal. Namun, melalui sistem ini MTX yang dapat berpermeasi melalui lapisan kulit hanya kurang dari 20% dari dosis yang termuat, sehingga menyebabkan rendahnya bioavailabilitas MTX (Zhao dkk., 2023). Berdasarkan permasalahan tersebut, pada penelitian ini MTX dalam bentuk *smart nanoparticle* (SNP) akan dihantarkan menggunakan sistem *dissolving microarray patch* (DMAP) yang memiliki jarum berukuran mikro dan mampu melarut serta melepaskan obat secara transdermal untuk menghindari metabolisme lintas pertama di hati, efek samping gastrointestinal, meningkatkan bioavailabilitas dan efektivitas MTX (Syafika dkk., 2023).

Dalam formulasi DMAP, perlu dipertimbangkan pemilihan polimer yang tepat. *Polyvinyl pyrrolidone* (PVP) K30 merupakan polimer yang biasa digunakan dalam pembuatan DMAP karena memengaruhi sifat elastisitas dan kekuatan dari DMAP

(Syafika dkk., 2023). Selain itu, HA merupakan polisakarida yang *biocompatible* dan *biodegradable* dengan kelarutan dalam air yang tinggi. DMAP berbasis HA menunjukkan kekuatan jarum yang baik, mampu menembus kulit normal maupun kulit yang mengalami penebalan dengan efisien (Saha & Rai, 2021). Modifikasi struktur nano dengan HA dapat menargetkan obat secara selektif pada lokasi target serta HA terlibat dalam penyembuhan luka, perbaikan jaringan, dan respon imun (Alsaikhan, 2023). Namun, hingga saat ini belum dilakukan penelitian mengenai pengaruh konsentrasi PVP K30 dan HA berbasis *pH-sensitive nanoparticle* MTX. Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dikembangkan sediaan SNP-DMAP-MTX yang diharapkan dapat menjadi solusi permasalahan efek samping sistemik serta peningkatan bioavailabilitas MTX pada situs target AR sehingga dapat meningkatkan efektivitas MTX pada terapi AR. Dalam penelitian ini akan diamati pengaruh konsentrasi PVP K30 dan HA terhadap formulasi sediaan DMAP, kemudian dievaluasi karakteristik fisika dan uji profil permeasi.

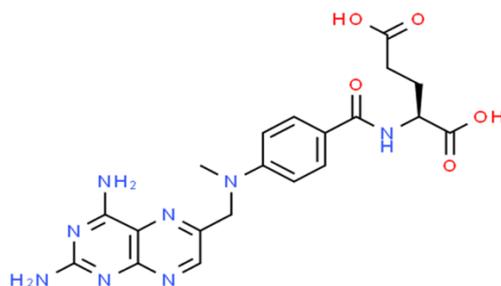
1.2 Teori

1.2.1 Arthritis Rheumatoid (AR)

Arthritis reumatoid (AR) adalah penyakit inflamasi kronis yang secara substansial terlibat dalam hiperplasia membran sinovial dan penghancuran tulang rawan dan tulang. Sendi yang meradang oleh RA ditandai dengan infiltrasi kemokin dan sitokin proinflamasi. Selain itu, mereka menunjukkan angiogenesis intensif dan migrasi trans endotel leukosit yang berkelanjutan dari pembuluh darah ke jaringan synovial (Heo dkk., 2014; Hussein & Aboukhamis, 2022). AR disebabkan oleh kondisi abnormalitas sel imun tubuh yang menyerang sel normal pada jaringan persendian. Kompleks antibodi-antigen dengan limfosit T dan sitokin proinflamasi akan memicu hiperproliferasi *fibroblast-like synoviocyte* (FLS) ke dalam fenotipe proinflatasinya. FLS akan menyekresikan kelompok enzim matriks metalloproteinase, molekul adhesi, dan kemokin yang menyebabkan degradasi protein pada kartilago di sendi (Nanke, 2023; Wu dkk., 2022; Xu dkk., 2023).

Manifestasi klinis klasik artikular adalah poliartritis simetrik dengan durasi gejala lebih dari enam minggu terutama melibatkan sendi-sendi kecil pada tangan dan kaki yang terdiri dari metacarpophalangeal (MCP), proximal interphalangeal (PIP) dan metatarsophalangeal (MTP), diikuti oleh pergelangan tangan dan kaki, siku, bahu, lutut, namun dapat mengenai seluruh sendi. Keluhan diikuti dengan kekakuan sendi pada pagi hari selama 1 jam atau lebih. Pada AR biasanya disertai gejala konstitusional berupa lemas, low grade fever ($<38.5^{\circ}\text{C}$) dan penurunan berat badan (Hidayat dkk., 2021).

1.2.2 Methotrexate (MTX)

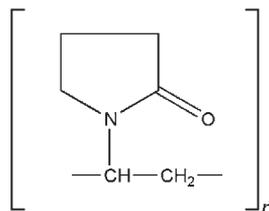


Gambar 1. Struktur bangun MTX (Tekko, Chen, dkk., 2020)

Metotreksat (MTX, *2,4-diamine-N10-methylpteroyl-glutamic acid*) adalah antagonis folat, yang telah digunakan secara luas dalam dosis tinggi untuk mengobati berbagai jenis kanker, limfoma leukemia, dan sarkoma osteogenik; sementara itu, MTX dosis rendah juga digunakan secara ekstensif dalam pengobatan penyakit radang, seperti artritis reumatoid, psoriasis, dan lupus (Li dkk., 2023). Sebagai antimetabolit asam folat, MTX memasuki sel melalui *Solute Carrier Family 19* (transporter folat) dan berikatan erat dengan dihidrofolat reduktase (DHFR) untuk menghambat fungsinya. Setelah memasuki sel, MTX dapat membatasi sintesis tetrahidrofolat bersaing dengan dihidrofolat untuk mendapatkan situs aktif dihidrofolat reduktase, yang merupakan prekursor penting untuk pembentukan kofaktor folat yang penting untuk sintesis purin, timidin, dan serin. Umumnya, setelah memasuki sistem sirkulasi, sebagian besar jumlah MTX diekskresikan melalui metabolisme urin untuk mencegah menjadi racun bagi tubuh, sementara kurang dari 10% dioksidasi menjadi 7-hidroksi-metotreksat di hati (Katturajan dkk., 2021; Li dkk., 2023; Majorczyk dkk., 2022)

Untuk pengobatan penyakit tanpa kontrol dosis yang tepat, dosis MTX yang rendah dapat menyebabkan kerusakan permanen pada sel dan jaringan non-kanker. Stomatitis ulseratif, jumlah sel darah putih yang rendah, dan kerusakan hati adalah efek samping yang umum terjadi akibat dosis rendah MTX. Dosis tinggi MTX bahkan menyebabkan beberapa efek samping yang mengancam jiwa (Li dkk., 2023; Xu dkk., 2023).

1.2.3 Polivinil Prolidon (PVP) K30

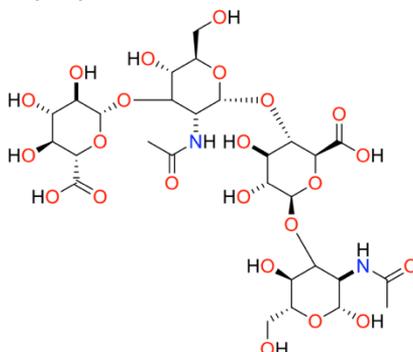


Gambar 2. Struktur bangun PVP K30 (Rowe, 2009)

Polivinil pirolidon (C_6H_9NO) PVP adalah polimer sintetis yang terdiri dari gugus 1-vinil-2-pirolidon linier. Polimer ini memiliki rantai karbon yang mengandung gugus tengah pada substituen samping dan memiliki struktur poli-N-vinylamides. PVP yang digunakan pada penelitian ini yaitu PVP K30 memiliki karakteristik sebagai bubuk higroskopis berwarna putih hingga putih krem, tidak berbau atau hampir tidak berbau dengan bobot molekul $4,4 \times 10^4 - 5,4 \times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$ (Rowe Teodorescu & Bercea, 2015).

PVP merupakan polimer yang sangat baik untuk digunakan karena tidak beracun, non-ionik, inert, tahan suhu, stabil pada pH, biokompatibel, dan menunjukkan afinitas yang kompleks untuk obat hidrofilik dan hidrofobik serta tersedia dalam berbagai tingkatan dengan berat molekul dan viskositas yang berbeda-beda (Ramadon dkk., 2023). Hidrogen peroksida, yang digunakan sebagai inisiator, mempengaruhi berat molekul polimer yang dihasilkan, yaitu, semakin tinggi konsentrasi hidrogen peroksida, semakin rendah berat molekul PVP (Teodorescu & Bercea, 2015). PVP yang digunakan akan mempengaruhi kekuatan dari jarum microneedle. Namun, penggunaan polimer berlebihan serta secara tunggal dapat mempengaruhi kemampuannya untuk menembus kulit karena peningkatan sifat higroskopisnya (Ramadon dkk., 2023).

1.2.4 Asam Hialuronat (HA)



Gambar 3. Struktur bangun HA (Saha & Rai, 2021)

Asam hialuronat (HA) ($C_{14}H_{21}NO_{11}$) merupakan bahan dengan karakteristik berbentuk bubuk atau butiran berwarna putih hingga putih pudar yang bersifat sangat higroskopis (Rowe, 2009). HA didistribusikan secara luas di dalam tubuh manusia termasuk dermis, cairan sinovial, pulpa gigi, dan vitreous humor. HA menginduksi produksi matriks tulang rawan, mencegah degenerasi, mengekang peradangan, merangsang pembuatan HA endogen, dan mengintegrasikan ketahanan dan kelembapan tulang rawan. HA mampu berinteraksi dengan berbagai bahan kimia karena adanya gugus polar dan non polar dalam rantai polimer. HA paling baik digunakan untuk membuat dissolving microneedle karena HA merupakan polisakarida alami yang sangat melimpah dalam matriks ekstraseluler tubuh serta bersifat biokompatibel dan dapat berikatan dengan reseptor CD44 yang diekspresikan secara berlebihan pada jaringan sinovial pasien RA sehingga

penggunaan HA untuk pengobatan yang bertarget pada situs RA sangat menjanjikan (Heo dkk., 2014; Saha & Rai, 2021).

1.2.5 **Dissolving Microarray Patch (DMAP)**

Microneedles (MN) adalah patch array yang terdiri dari jarum berukuran mikrometer dengan tinggi 10-2000 mm dan lebar 10-50 mm yang menghindari reseptor nosiseptif untuk membentuk saluran berukuran mikron pada kulit, yang mampu menembus epidermis untuk mengantarkan obat, protein, atau vaksin molekul kecil secara langsung ke jaringan kulit. MN banyak digunakan dalam penghantaran obat karena keamanan, efisiensi tinggi, kenyamanan, dan tidak menimbulkan rasa sakit. *Microneedles* yang baik harus memiliki biokompatibilitas yang baik, kekuatan mekanik yang tinggi, dan biaya produksi yang rendah. Saat ini, *microneedles* terutama dapat diklasifikasikan sebagai *solid microneedles*, *coated microneedles*, *hollow microneedles*, *dissolving microneedles*, dan *hydrogel* (Xu dkk., 2023). *Dissolving microneedles* atau dissolving microarray patch (DMAP) terdiri dari polimer yang larut dalam air yang dapat terurai secara hayati. Tidak seperti jenis jarum mikro lainnya, DMN lebih aman karena dapat larut dengan cepat di kulit dan melepaskan obat yang dienkapsulasi tanpa menghasilkan limbah biohazard dan memiliki kapasitas pemuatan yang lebih besar (Zhao dkk., 2023).

1.3 **Tujuan dan Manfaat**

1.3.1 **Tujuan**

1. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi PVP K30 dan HA terhadap karakteristik fisik SNP-DMAP-MTX.
2. Untuk mengetahui konsentrasi PVP K30 dan HA yang menghasilkan formula SNP-DMAP-MTX optimal.
3. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan pH terhadap profil permeasi formula SNP-DMAP-MTX.

1.3.2 **Manfaat**

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi PVP K30 dan HA terhadap karakteristik fisik SNP-DMAP-MTX.
2. Memperoleh konsentrasi PVP K30 dan HA yang menghasilkan formula SNP-DMAP-MTX optimal.
3. Mengetahui pengaruh perbedaan pH terhadap profil permeasi formula SNP-DMAP-MTX.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada bulan Juli-Oktober 2023.

2.2 Bahan dan Alat

Alat yang dibutuhkan yaitu alat-alat gelas (Pyrex[®]), alat sentrifugasi (Oregon[®] LC-04S), cetakan microneedle, desikator, gunting bedah, magnetic bar, mikroskop cahaya (Olympus[®] CX23), sel difusi Franz, sonikator, spektrofotometer UV-Vis (Dynamica[®] HALO XB-10), dan timbangan analitik (Ohaus[®]).

Bahan yang dibutuhkan yaitu akuades (Waterone[®]), asam hialuronat (HA), kulit tikus, parafilm[®], polivinil pirolidon K-30 (PVP-K30), smart nanoparticle methotrexate (SNP-MTX) koleksi Andi Dian Permana, tabung eppendorf, dan tablet phosphate-buffered saline (PBS) (Dulbecco A Oxoid[®]).

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Analisis Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Pembuatan larutan Posphate Buffer Saline (PBS) pH 7,4 dan pH 5.

Larutan PBS pH 7,4 dibuat dengan cara melarutkan 1 tablet PBS (Dulbecco A Oxoid[®]) dengan 100 mL akuades (Waterone[®]) ke dalam gelas piala. Campuran kemudian diaduk hingga homogen ditandai dengan larutan yang jernih. Larutan PBS pH 5 dibuat dengan menambah HCl 0,1N hingga menunjukkan pH 5 pada pH meter.

Pembuatan larutan stok MTX. Larutan stok MTX dibuat dalam dua media PBS yaitu pH 7,4 dan pH 5. Sebanyak 10 mg MTX ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL kemudian dilarutkan dengan menggunakan PBS pH 7,4 atau PBS pH 5 dan dicukupkan hingga mencapai tanda batas labu tentukur kemudian dihomogenkan hingga diperoleh konsentrasi 1000 bpj.

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum MTX. Panjang gelombang maksimum MTX ditentukan pada dua media PBS yaitu pH 7,4 dan pH 5. Larutan sampel dibuat dengan mencuplik larutan stok sebanyak 250 μ L kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan ditambah dengan PBS pH 7,4 atau pH 5 sampai tanda batas labu tentukur kemudian dihomogenkan dan diperoleh konsentrasi 100 bpj. Penentuan panjang gelombang maksimum MTX dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm (Azis dkk., 2022).

Pembuatan kurva baku MTX. Kurva baku MTX pada media PBS pH 7,4 dan pH 5 dibuat dalam 6 seri konsentrasi yaitu 0,5; 1; 2; 4; 8; dan 16 bpj dengan cara mencuplik larutan stok 100 bpj menggunakan mikropipet, dimasukkan ke dalam tabung eppendorf kemudian diencerkan dengan menambahkan PBS pH 7,4 atau pH 5 dan dihomogenkan. Setelah itu, dianalisis menggunakan spektrovotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum yang telah diperoleh.

2.3.2 Formulasi *Smart Nanoparticle Dissolving Microarray Patch* Methotrexate (SNP-DMAP-MTX)

Tabel 1. Komposisi formula SNP-DMAP-MTX

Bahan	Formula (%b/b)				
	DMAP-1	DMAP-2	DMAP-3	DMAP-4	DMAP-5
PVP K-30	20	20	20	10	15
HA	2,5	5	10	5	5
SNP-MTX	25	25	25	25	25
Akuades	52,5	50	45	45	55

Formulasi SNP-DMAP-MTX dikembangkan dengan memvariasikan polimer PVP K30 dan HA sebanyak lima formula. DMAP dibuat dengan menggunakan komposisi yang disajikan pada Tabel 1. Formulasi SNP-DMAP-MTX dibuat menggunakan cetakan silikon dengan kepadatan jarum 10×10 berbentuk piramidal dengan tinggi 700 μm . Pada awalnya, sejumlah 0,3–0,5 g campuran dimasukkan ke dalam cetakan silikon dan disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 30 menit untuk memastikan pengisian cetakan kemudian dikeringkan pada desikator selama 24 jam. Setelah kering, DMAP dikeluarkan dari cetakan dan diperiksa morfologinya menggunakan mikroskop cahaya (Syafika dkk., 2023; Zhao dkk., 2023).

2.3.3 Karakterisasi SNP-DMAP-MTX

Uji kekuatan mekanik dan penetrasi. Karakterisasi fisik dilakukan dengan mengevaluasi kekuatan mekanik dan kemampuan penetrasi DMAP. Evaluasi kekuatan mekanik dilakukan dengan menggunakan Parafilm[®]. DMAP diletakkan di atas 8 lapis Parafilm[®] kemudian diberi tekanan sebesar 32 N selama 30 detik. Tinggi jarum sebelum dan setelah pengujian diukur kemudian dihitung persentase pengurangan tinggi jarum dengan menggunakan persamaan (1), (Mudjahid dkk., 2023; Syafika dkk., 2023).

$$\% \text{ Pengurangan tinggi jarum} = \frac{H_{Bi} - H_{Ai}}{H_{Bi}} \times 100\% \quad (1)$$

H_{Bi} = Tinggi jarum sebelum penyisipan (μm)

H_{Ai} = Tinggi jarum setelah penyisipan (μm)

Kemampuan penetrasi DMAP dievaluasi dengan melihat jumlah lubang yang terbentuk pada setiap lapisan Parafilm[®]. Uji kemampuan penetrasi DMAP dilakukan untuk mengukur kemampuan DMAP menembus lapisan SC (Paredes dkk., 2022). Persentase jumlah lubang dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ Jumlah lubang dalam parafilm}^{\text{®}} = \frac{\text{Jumlah lubang yang diamati}}{\text{Jumlah lubang keseluruhan}} \times 100\% \quad (2)$$

2.3.4 Uji Permeasi Secara *Ex Vivo*

Uji permeasi secara *ex vivo* dilakukan menggunakan kulit tikus yang telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin (UH23070451). Pengujian dilakukan menggunakan sel difusi Franz dengan media PBS pH 7,4 yang meniru kondisi normal manusia dan pH 5 yang meniru kondisi AR (Qindeel dkk., 2020). Kulit tikus ditempatkan diantara kompartemen donor dan reseptor. DMAP kemudian diletakkan pada kulit dan diberi beban sebesar 5 g agar memastikan posisi DMAP tidak bergeser dari tempat pengaplikasiannya. Pengujian dilakukan pada suhu 37°C dengan kecepatan 100 rpm. Sebanyak 0,5 mL media dicuplik pada interval waktu 0,5,1,2,3,4,5,6,7,8. Kemudian untuk mempertahankan kondisi sink selama pengujian, media yang dicuplik dengan segera diganti dengan media baru. Hasil cuplikan dianalisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 300 nm (Syafika dkk., 2023).

2.4 Pengumpulan dan Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasi menggunakan Microsoft Excel®. Pendekatan secara analisis statistik dilakukan dengan bantuan aplikasi IBM SPSS® V26.0 kemudian data diolah menjadi bentuk grafik menggunakan aplikasi GraphPad® V9.0.