

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gastric ulcer merupakan kondisi terjadi robekan atau luka pada lapisan mukosa lambung yang menembus muskularis mukosa dan meluas hingga diameternya lebih dari 5 mm yang dilaporkan mempengaruhi sebesar 5-10% populasi di dunia (Woolf & Rose, 2023). *Gastric ulcer* dapat diobati dengan menggunakan antagonis reseptor H₂ dan *proton pump inhibitor* (PPI). Sekarang PPI lebih banyak digunakan dibandingkan antagonis reseptor H₂ karena efektivitas dan kemampuannya dalam menyembuhkan yang lebih baik (Malik dkk., 2023). PPI umumnya diresepkan pada dosis yang lebih tinggi dan untuk durasi yang lebih lama (Lehault & Hughes, 2017). Penggunaan PPI dalam jangka pendek dapat mengalami sakit kepala, ruam, pusing, dan gejala gastrointestinal termasuk mual, nyeri perut, perut kembung, sembelit dan diare (Yibirin et al., 2021). Sedangkan dalam jangka panjang dapat menyebabkan infeksi, gangguan penyerapan nutrisi (Vitamin B₁₂, zat besi), demensia, penyakit ginjal dan efek samping terkait hypergastrinemia (Haastrup et al., 2018). Oleh karena itu, diperlukan penemuan obat *gastric ulcer* yang baru.

Berdasarkan hal tersebut, bahan alam menjadi salah satu agen teraupetik yang menjanjikan. Penelitian telah menunjukkan bahwa penggunaan obat herbal aman digunakan baik pada model hewan maupun manusia (Bi et al., 2014). Zerumbon (ZER) merupakan senyawa yang ditemukan dalam jumlah besar dalam rimpang *Zingiber zerumbet* (L.) Smit. Rimpang *Zingiber zerumbet* yang telah diteliti memiliki berbagai macam aktivitas farmakologi seperti antiinflamasi, antioksidan, dan anti ulkus (Sidahmed et al., 2015). ZER mengandung banyak gugus karboksil tak jenuh dalam strukturnya dan struktur kimia yang unik ini mungkin berhubungan dengan aktivitas antioksidannya. ZER dapat meningkatkan ekspresi protein *Heme Oxygenase-1* (HO-1) dan *Nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf-2) secara signifikan pada jaringan mukosa lambung, sehingga meningkatkan aktivitas *superoxide dismutase* (SOD) dan *catalase* (CAT), meningkatkan kadar *glutathione* (GSH) akan tetapi menurunkan kandungan *malondialdehyde* (MDA) (Li et al., 2017). Meskipun aktivitas farmakologi ZER menjanjikan, ZER memiliki kekurangan yakni kelarutan dalam air yang buruk, penyerapan yang buruk, dan bioavailabilitas oral yang rendah (Kesharwani & Jayarama Bhat, 2020). Maka dibutuhkan *drug delivery systems* (DDS) untuk mengatasi hal tersebut.

Nanopartikel (NPs) merupakan sistem penghantaran obat yang memungkinkan pelepasan obat yang terarah dan terkendali. NPs dibuat dengan tujuan untuk bahan aktif yang sukar larut, meningkatkan bioavailabilitas obat, as bahan aktif dari degradasi lingkungan (Auliasari et al., 2023). sikan untuk menghantarkan obat dengan molekul kecil atau in cara memerangkap atau mengenkapsulasi molekul obat ke Adapun polimer yang dapat digunakan yakni PEG, kitosan, *poly l*) (PLGA) dan *polylactic acid* (PLA) (Yusuf et al., 2023).



Poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) merupakan salah satu polimer yang telah disetujui *Food and Drug Administration* (FDA) yang memiliki kelebihan berupa biokompatibilitas, biodegradability, dan efek samping yang minimal serta dapat terurai secara hayati (Purnavita et al., 2021). Polimer ini disintesis melalui kopolimerisasi asam laktat (LA) dan asam glikolat (GA). PLGA dapat digunakan sebagai pembawa obat karena efisiensi enkapsulasinya yang tinggi, biokompatibilitas yang unggul, kinerja pelepasan yang stabil dan bioavailabilitas yang optimal (Yang et al., 2024). PLGA dapat mengendalikan laju degradasi dengan menyesuaikan rasio LA dan GA, sehingga memiliki karakteristik degradasi yang dapat dimodifikasi, memungkinkannya untuk mencapai pelepasan obat yang berkelanjutan dalam sistem pengiriman obat (Liang et al., 2024).

Nanopartikel yang dibuat dengan PLGA dapat menghasilkan ukuran partikel yang berbeda-beda. Ukuran partikel berpengaruh dalam proses kelarutan, absorpsi dan distribusi obat (Rahmatullah et al., 2021). Ukuran partikel juga berpengaruh pada kapasitas pemuatan dan kinetika pelepasan obat. Ukuran partikel dapat mempengaruhi laju pelepasan karena semakin kecil partikel maka semakin cepat laju pelepasan obat dikarenakan partikel lebih kecil memiliki luas permukaan yang lebih besar (Silva et al., 2016). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Wei Huang & Chenming Zhang (2018), memperoleh hasil ukuran NPs memiliki korelasi linier dengan konsentrasi PLGA dikarenakan NPs terbentuk melalui presipitasi polimer dari tetesan organik dalam fase berair. Pada penelitian lain, diperoleh hasil bahwa seiring dengan meningkatnya konsentrasi polimer, ukuran partikel juga meningkat serta menunjukkan pelepasan obat NPs yang lebih terkendali (Haggag et al., 2021; Reddy, 2013).

Sejauh ini tidak ada standar kompendian atau regulasi dalam pengujian pelepasan obat NPs. Berdasarkan literatur, profil pelepasan obat dari formulasi berbasis NPs dapat diperoleh dengan tiga metode yakni *continuous flow* (CF), *sample and separate* (SS) dan *dialysis membrane* (DM). Metode CF memiliki kekurangan yaitu peralatan yang mahal dan memerlukan banyak perawatan serta sulitnya pengujian pelepasan jangka panjang. Adapun metode SS memiliki proses pengambilan sampel yang rumit dan penarikan NPs yang tidak diinginkan dari media. Sehingga dipilih metode DM merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk menentukan pelepasan obat dalam bentuk sediaan NPs. Metode ini menggunakan membran dialisis, pengambilan sampel yang nyaman dan meminimalkan kehilangan partikel (Herdiana et al., 2022; Kim et al., 2021).

Berdasarkan uraian tersebut, menunjukkan bahwa ukuran partikel dapat mempengaruhi pelepasan obat. Oleh karena itu, penting untuk mengetahui pengaruh ukuran partikel terhadap profil pelepasan nanopartikel ZER yang berbasis PLGA. Maka telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh ukuran partikel terhadap profil pelepasan nanopartikel ZER yang berbasis PLGA yang mengandung ZER.



masalah

Dari latar belakang tersebut, maka masalah yang dapat dirumuskan adalah pengaruh ukuran partikel pada karakteristik pelepasan obat nanopartikel ZER yang mengandung ZER?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk menyelidiki pengaruh ukuran partikel pada karakteristik pelepasan obat dari nanopartikel PLGA yang mengandung ZER (ZER/PLGA NPs).



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas (Pyrex[®]), *freeze dryer* (Zhengzhou Keda[®] LC-10N-60E), *magnetic stirrer* (Joanlab[®]), *high speed dispersion homogenizer* FJ200-SH (AIK[®]), *high speed refrigerated centrifuge* MK-20RB (SCI Material Hub[®]), inkubator (Faithful[®] HWS-70B), mikropipet (Joanlab[®]), penangas es, pH meter (Puchun[®] PHS-3C), spektrofotometer UV-Vis (Jinghua[®] 754PC), *thermo shaker* (Allsheng[®]), timbangan analitik (Xing Yun[®]), vortex (Dlab[®]), *ultrasonic homogenizer* (Scientz-IID[®] 900W), *waterbath sonicator* (Digital Pro⁺[®]), dan zeta sizer (Malvern Nano Zetasizer[®]).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquades (Waterone[®]), *cellophane membrane* (Cellu•Sep[®], Nominal MWCO 3500), diklorometana (DCM) (Macklin[®]), *methanol pro analysis* (Macklin[®]), PLGA (50:50 DLG 5E, BM 54.000 – 69.000 g/mol), *phosphate buffered saline* (PBS) pH 7,4 (Solarbio[®]), *poly vinyl alcohol* (PVA) (BM 44,05 g/mol) (Merck millipore[®]), dan ZER (sumbangan dari peneliti Nurhasni Hasan).

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Formulasi Nanopartikel

Zerumbon disiapkan menggunakan metode emulsifikasi penguapan pelarut organik dalam media berair. Tahap pertama yakni PLGA (100 mg, 150 mg, 200 mg) dicampur dengan ZER (15 mg, 22,5 mg, 30 mg) kemudian dilarutkan dalam 10 mL diklorometana dan dimasukkan ke dalam larutan 20 mL PVA (1%) dengan menggunakan mikropipet. Larutan diaduk menggunakan *homogenizer* berkecepatan tinggi pada 14.500 rpm selama 2 menit dalam penangas es, diikuti oleh sonikasi probe pada 150 W dalam penangas es selama 3 menit. Kemudian 10 mL air deionisasi ditambahkan ke dalam emulsi dan diaduk pada kecepatan 400 rpm selama 4 jam hingga pelarut menguap. Setelah sisa pelarut dihilangkan, emulsi disentrifugasi pada 20.000x g pada suhu 4°C selama 30 menit dan dicuci tiga kali. Pelet yang diperoleh dikeringkan dengan *freeze dryer* dan disimpan di suhu -20°C untuk penggunaan selanjutnya (Nurhasni et al., 2015).

Table 1. Komposisi formula ZER/PLGA NPs

Bahan	Fungsi	Komposisi					
		F1	F1B	F2	F2B	F3	F3B
Fase organik							
	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
	konsentrasi PLGA						

2.2.2 Analisis Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas (PDI)

Penentuan ukuran partikel dan indeks polidispersitas (PDI) dilakukan dengan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS). NPs diencerkan dengan aquades kemudian dianalisis menggunakan Malvern nano-zetasizer (Malvern Instrument Co.) pada suhu 25°C dan semua sampel diukur tiga kali (Guo et al., 2021; Rezazadeh et al., 2021).

2.2.3 Penentuan Kadar Zerumbon

2.2.3.1 Pembuatan larutan stok

Pembuatan larutan stok 1000 ppm dilakukan dengan cara menimbang baku ZER sebanyak 10 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, lalu dilarutkan dengan 10 mL metanol PA hingga tanda batas. Larutan stok disonikasi hingga diperoleh larutan bening.

2.2.3.2 Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum ZER dilakukan dengan cara mengukur serapan larutan ZER konsentrasi 20 ppm. Pengukuran dilakukan pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

2.2.3.3 Pembuatan kurva baku zerumbon

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan membuat variasi konsentrasi 4, 8, 12, 16 dan 20 ppm dengan metanol PA. Seri konsentrasi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal. Analisis regresi lalu dilakukan untuk memperoleh kurva baku ZER, dimana hubungan antara absorbansi dan konsentrasi ditulis dalam bentuk persamaan garis lurus $y = a + bx$ (Md et al., 2018; Rahman et al., 2013).

2.2.4 Uji Drug Loading (DL)

Pengujian DL dilakukan dengan 10 mg ZER/PLGA NPs dilarutkan dalam 10 mL metanol menggunakan vorteks dan *waterbath sonicator* untuk memperoleh larutan bening. Larutan kemudian diukur pada panjang gelombang 250 nm (Baghirova et al., 2023; Rahman et al., 2013). DL dapat dihitung dengan menggunakan rumus (1):

$$DL = \frac{\text{Jumlah ZER yang terjerap dalam NPs (mg)}}{\text{Jumlah total ZER dan polimer (mg)}} \quad (1)$$

2.2.5 Uji Encapsulation Efficiency (EE)

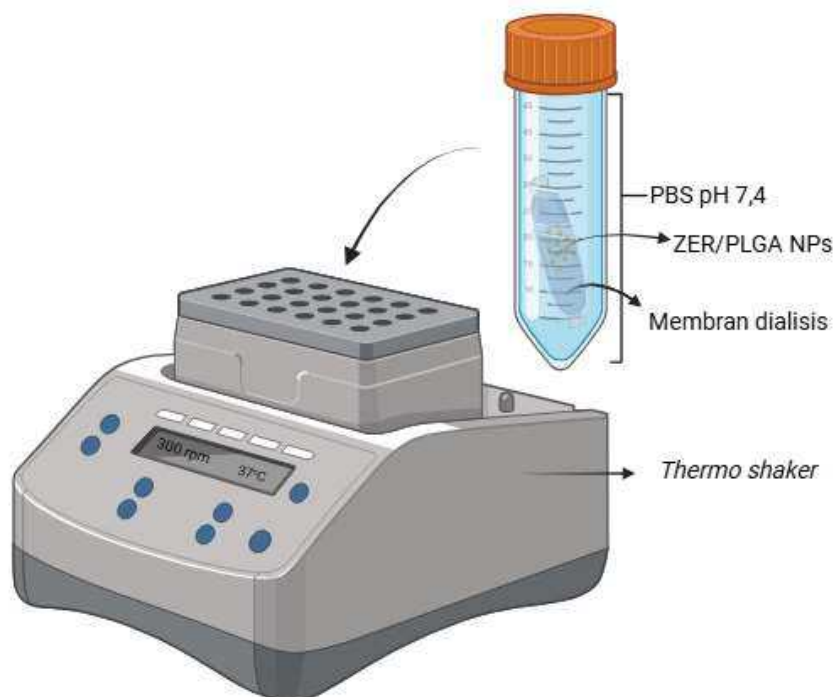
Pengujian EE dilakukan dengan 10 mg ZER/PLGA NPs dilarutkan dalam 10 mL metanol menggunakan vorteks dan *waterbath sonicator* untuk memperoleh larutan bening. Larutan kemudian diukur pada panjang gelombang 250 nm (Baghirova et al., 2013). %EE dapat dihitung dengan menggunakan rumus (2):

$$EE = \frac{\text{Jumlah ZER yang terjerap dalam NPs}}{\text{Jumlah ZER dalam sedian secara teoritis}} \times 100\% \quad (2)$$



2.2.6 Uji Pelepasan Obat

Pelepasan ZER dianalisis dengan metode dialisis membran. Sebanyak 10 mg ZER/PLGA NPs dari setiap formulasi dimasukkan ke dalam kantong dialisis kemudian ditambahkan 1 mL larutan PBS pH 7,4 dan disegel. Kantong dialisis kemudian dimasukkan ke dalam 49 mL media dialisis PBS pH 7,4. Uji pelepasan dilakukan pada suhu 37°C dengan kecepatan pengadukan 300 rpm. Setiap interval waktu (0,5, 1, 2, 4, 8, 10 dan 24 jam) sampel dicuplik sebanyak 0,5 mL dan diganti dengan media dialisis PBS pH 7,4, dengan jumlah yang sama. Ditambahkan 1,5 mL metanol kedalam sampel yang dicuplik kemudian konsentrasi ZER yang terlepas diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 250 nm (Khizar et al., 2020).



Gambar 1. Skema membran dialisis untuk uji pelepasan obat (dibuat menggunakan BioRender.com)

2.2.7 Pengumpulan dan Analisis Data

Data hasil yang diperoleh kemudian dikumpulkan menggunakan *Microsoft Excel*[®] dan dianalisis secara statistik menggunakan *GraphPad Prism*[®]. Data yang diperoleh terdistribusi secara normal sehingga dilanjutkan dengan analisis *One way ANOVA*. Hasil analisis data dinyatakan berbeda secara signifikan apabila nilai $p < 0,05$. Analisis *multiple comparison (Post Hoc Test)* melalui uji *Tukey's Difference*. Selain itu, model kinetika pelepasan obat dianalisis menggunakan DDSolver yang terdapat dalam *Microsoft Excel*[®].

