

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Human Immunodeficiency Virus (HIV) merupakan virus yang menyerang sel CD4+ sehingga dapat melemahkan imunitas tubuh terhadap infeksi jamur, infeksi bakteri, tuberculosis dan kanker (WHO, 2022). Pada tahun 2020, HIV menyerang sekitar 37,9 juta orang secara global dan 640.443 orang di Indonesia. *National Library of Medicine* (NLM) melaporkan bahwa terdapat 85% penderita meningitis kriptokokus (MK) juga merupakan penderita HIV. Sedangkan 19% kasus kematian yang disebabkan oleh MK akibat HIV/AIDS mencapai 580.000 orang (UNAIDS). MK merupakan peradangan otak yang disebabkan oleh adanya infeksi jamur *Cryptococcus neoformans* yang pada umumnya muncul pada pasien dengan sistem imun yang lemah. MK diperkirakan dapat mempengaruhi orang setiap tahunnya dan dapat menyebabkan 181.000 kematian (Chen & Inbaraj, 2019). Salah satu obat lini pertama dalam terapi MK yaitu *Amphotericin B* (AmB).

Amphotericin B (AmB) merupakan obat lini pertama dalam terapi MK yang diberikan secara injeksi. Namun berdasarkan riset yang dilakukan oleh Jarvis et al., (2022) AmB yang diberikan secara injeksi memiliki beberapa kekurangan yaitu terjadinya efek samping sistemik, anemia, gangguan ginjal, dan kelainan elektrolit (Jarvis et al., 2022). Selain itu riset yang dilakukan oleh Petraitis et al., (2019) telah melakukan pengembangan formula nanokristal AmB melalui rute per oral untuk meminimalkan efek toksik yang disebabkan dari sediaan intravena AmB. Namun, riset yang dilakukan masih memiliki kekurangan juga yaitu tidak terdeteksinya AmB di dalam monosit pada otak dan mempunyai penetrasi yang buruk dalam menembus *Blood Brain Barrier* (BBB) (Petraitis et al., 2019).

Rule of five Lipinski merupakan aturan yang dibuat untuk membantu pengembangan obat-obat oral. Berdasarkan *rule of five* Lipinski, AmB tidak memenuhi 3 dari 4 aturan Lipinski tersebut. AmB memiliki lebih dari 5 donor ikatan hidrogen (H), lebih dari 10 akseptor ikatan H, dan memiliki berat molekul lebih dari 500 Da. Sedangkan berdasarkan *rule of five* Lipinski menyatakan bahwa obat aktif tidak boleh lebih dari satu pelanggaran yaitu tidak lebih dari 5 donor ikatan H, tidak lebih dari 10 akseptor ikatan H, massa molekul kurang dari 500 Da, dan nilai log p tidak lebih dari 5. Oleh karena itu, setelah pemberian oral, AmB tidak mudah diserap secara pasif melalui mukosa gastrointestinal, hal ini dibuktikan dengan bioavailabilitas AmB oral yang rendah sebesar 0,2 – 0,9% (Cuddihy et al., 2019).



salahan tersebut diperlukan rute pengembangan alternatif lain optimal dan aman.

ni, mengembangkan sediaan AmB melalui rute *nose-to-brain* asi masalah tersebut. Pada rongga hidung terdapat saraf f olfaktorik yang merupakan penghubung antara otak dan rongga obat dapat langsung menuju otak tanpa melalui BBB

(Alabsi et al., 2022). Riset sebelumnya telah menggunakan AmB dalam bentuk nanoliposom melalui rute nose-to-brain. Namun, nanoliposom memiliki kelemahan yaitu tidak stabil karena membran bilayernya yang mudah rapuh (Chen & Inbaraj, 2019). Oleh karena itu, pada riset ini AmB dikembangkan dalam bentuk nanoemulsi (NE) yang lebih stabil. NE merupakan partikel terdispersi yang mempunyai diameter tetesan 50 - 1000 nm dengan rata-rata tetesan 100 – 500 nm, yang mana partikelnya masing-masing adalah air atau minyak. NE mempunyai energi bebas dan luas permukaan yang lebih besar dibandingkan dengan makroemulsi sehingga NE dapat menjadi sistem transportasi yang efektif. Selain itu NE memiliki beberapa keuntungan yaitu meningkatkan permeabilitas, mudah diaplikasikan pada selaput lendir dan juga tidak merusak sel sehingga baik untuk tujuan terapeutik (Soni et al., 2021).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh formulasi, karakterisasi fisik dan uji pelepasan secara *in vitro* nanoemulsi sebagai sistem penghantaran baru *Amphotericin B*.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh formulasi, karakterisasi fisik dan uji pelepasan secara *in vitro* nanoemulsi sebagai sistem penghantaran baru *Amphotericin B*.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex®), batang pengaduk, kaca arloji, pipet mikro (Dragonlab®), sendok *stainless*, sentrifugasi, spektrofotometer UV-Vis (Dynamica® HALO XB-10), *shaker*, timbangan analitik (Sartorius®), *vortex mixer* (D LAB), dan vial.

2.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan antara lain *Amphotericin B*, *aquadest*, gliserol, *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7.4, sodium lauryl sulfate (SLS), transcutol® P, tween 80, dan *virgin coconut oil* (VCO).

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Formulasi Nanoemulsi *Amphotericin B* (NE-AmB)

Tabel 1. Komposisi Formula NE-AmB

Komposisi	NE 1	NE 2	NE 3
AmB (mg)	10	10	10
VCO (mL)	15	15	15
Transcutol®P (mL)	5	10	15
Gliserol (mL)	5	5	10
Tween 80 (mL)	5	5	5
<i>Aquadest</i> (mL)	20	15	5

Formula NE diformulasikan dengan melarutkan 10 mg AmB dengan 15 mL VCO sebagai fase minyak. Selanjutnya, fase minyak dicampurkan ke dalam fase air yang terdiri dari campuran tween, transcutol®P, gliserol, *aquadest* menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit. Setelah nanoemulsi terbentuk, campuran disonikasi selama 40 menit untuk menghilangkan busa yang terbentuk.



artikel

lakukan dengan menggunakan *particle size analyzer* (PSA) k *dynamic light scattering* dengan perangkat Malvern ng dilengkapi dengan Zeta-sizer bawaan. Sampel diencerkan i (1:100) untuk menghindari efek hamburan ganda, kemudian

dimasukkan ke dalam kuvet sekali pakai berbahan polistirena dan diposisikan sejajar dengan sinar laser (Abdulla et al., 2021).

2.2.3 Uji Indeks Polidispersitas

Uji indeks polidispersitas dilakukan untuk melihat tingkat keseragaman atau distribusi ukuran partikel. Uji indeks polidispersitas dilakukan menggunakan *dynamic light scattering* dengan perangkat Malvern Mastersizer 2000 yang dilengkapi dengan Zeta-sizer bawaan. Sampel diencerkan dengan air deionisasi (1:100) untuk menghindari efek hamburan ganda, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet sekali pakai berbahan polistirena dan diposisikan sejajar dengan sinar laser (Abdulla et al., 2021).

2.2.4 Uji Zeta Potensial

Uji zeta potensial dilakukan untuk memprediksi stabilitas jangka panjang dari NE. Uji zeta potensial dilakukan menggunakan teknik *dynamic light scattering* dengan perangkat Malvern Mastersizer 2000 yang dilengkapi dengan Zeta-sizer bawaan. Sampel diencerkan dengan air deionisasi (1:100) untuk menghindari efek hamburan ganda, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet sekali pakai berbahan polistirena dan diposisikan sejajar dengan sinar laser (Abdulla et al., 2021).

2.2.5 Transmission Electron Microscopy (TEM)

TEM dilakukan untuk melihat dan menganalisis morfologi dan ukuran partikel dari nanoemulsi. TEM menggunakan berkas elektron yang bertegangan tinggi yang dipancarkan dari filamen tungsten (katoda) melalui pemanasan listrik. Sampel yang digunakan dengan ketebalan kurang dari 200 nm dipecahkan dengan berkas elektron berenergi tinggi yang memungkinkan elektron menembus sampel, dan sinyal elektron yang ditransmisikan diperbesar secara signifikan oleh lensa elektromagnetik (Bijelić et al., 2023).

2.2.6 Uji Pelepasan secara *in vitro*

Uji pelepasan secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan membran dialisis dan media pelepasan berupa campuran PBS dan SLS 2%. Membran dialisis direndam terlebih dahulu dalam larutan PBS pH 7,4 selama 24 jam. Sebanyak 1 mL formula, dimasukkan ke dalam membran dialisis, dan kedua ujung membran dialisis ditutup dengan klip. Membran dialisis dimasukkan ke dalam botol Duran yang berisi media pelepasan dan digocok dengan kecepatan 50 rpm selama 24 jam. Pada waktu 0, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, dan 24 jam, diambil 0,5 mL media pelepasan dan dimasukkan ke dalam media baru dalam jumlah yang sama. Absorbansi AmB pada 485 nm diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang tersebut.



gelombang 413,4 nm. Selanjutnya model pelepasan AmB dianalisis menggunakan perangkat *DD-Solver*.

2.3 Pengumpulan dan Analisis data

Data masing-masing hasil pengujian yang telah dikumpulkan, selanjutnya diolah menggunakan *software* GraphPad® dan MS Excel®, serta dianalisis menggunakan pendekatan statistik dengan *software* IBM SPSS® (*Statistical Product and Service Solution*) dengan melihat nilai signifikan ($p < 0,05$).

