

BAB I PENDAHULUAN UMUM

1.1 Latar Belakang

Kesehatan mata merupakan salah satu kategori utama dalam pengawasan pemerintah. Hal ini disebabkan karena gangguan pada mata dapat mengganggu kualitas hidup penduduk Indonesia. Salah satu penyebab kebutaan tertinggi di Indonesia adalah keratitis. Hasil survey Rapid Assessment of Avoidable Blindness (RAAB) pada tahun 2014-2016 di 15 provinsi menyatakan bahwa prevalensi kebutaan di Indonesia mencapai angka 3,0% (Kemenkes RI 2018). Keratitis merupakan suatu kondisi peradangan pada lapisan kornea yang dapat disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme yaitu bakteri, jamur, fungi, virus, parasit, dan infeksi polimikroba (Ting et al. 2021). Keratitis yang disebabkan oleh jamur disebut sebagai keratitis jamur atau keratitis mikotik. Sebanyak 95% infeksi jamur pada mata disebabkan oleh jamur berfilamen yaitu *Fusarium* spp dan *Aspergillus* spp, serta ragi *Candida* spp. (Niu et al. 2020). Pada tahun 2021, sebanyak 1-1,4 juta kasus keratitis yang disebabkan oleh jamur dan fungi menyebabkan gangguan penglihatan dan 600.000 kasus diantaranya mengarah pada kebutaan (Brown et al. 2021) (Mahmoudi et al. 2018).

Pengobatan keratitis jamur dapat dilakukan dengan pemberian antijamur berupa ketokonazol (KOZ). KOZ termasuk ke dalam golongan antijamur spektrum luas. Meski KOZ bukan merupakan pengobatan lini pertama untuk keratitis jamur, tetapi KOZ diketahui menjadi kandidat pengobatan yang efektif untuk jenis keratitis jamur yang parah (Thomas and Kaliamurthy 2013). Dibandingkan dengan amphotericin B (AmB) yang juga merupakan antijamur pada pengobatan keratitis jamur pada mata, AmB memiliki kekurangan berupa toksisitasnya terhadap kornea yang dapat menyebabkan nekrosis dari kornea dan nodul subkonjungtiva (Sahay et al. 2019). Natamisin merupakan pengobatan lini pertama pada keratitis jamur pada mata tetapi natamisin tidak efektif terhadap *Candida*, yang merupakan spesies jamur paling umum yang menyebabkan infeksi jamur mata (Lakhani, Patil, and Majumdar 2019). Selain itu salah satu masalah umum dalam penggunaan natamisin adalah melekatnya partikel tersuspensi pada area ulserasi epitel, serta pada forniks dan tepi kelopak mata (Sahay et al. 2019).

Untuk pengobatan keratitis mikotik, KOZ dapat diberikan secara oral maupun topikal. Pada pemberian secara topikal pada mata yaitu 2%. Pada pemberian secara oral dosis yang digunakan yaitu 200 - 600 mg/hari (Said et al. 2011). Beberapa efek samping telah dilaporkan setelah pemberian oral KOZ seperti mual, muntah, gangguan pencernaan, hepatitis (Cirello et al. 2017) (Abdelbary, Amin, and Zakaria 2017) (Müller, Kara-José, and Castro 2013). Pada pengobatan keratitis jamur pada mata, pemberian oral dari KOZ hanya memberikan ketersediaan (bioavailabilitas) jumlah obat yang sedikit pada lokasi target yang disebabkan oleh kelarutan KOZ yang rendah dalam air sehingga menyebabkan penatalaksanaan penyakit mata tidak efektif (Awad et al. 2024).

Melihat efek samping di atas, maka pemberian KOZ secara topikal langsung ke mata lebih disukai (Hoffman et al. 2022). Sistem penghantaran obat secara lokal merupakan rute alternatif yang sangat menarik karena dapat menghindari saluran pencernaan, sehingga meminimalkan efek samping gastrointestinal (Zhao et al. 2023).

Namun, di sisi lain, penggunaan KOZ pada mata juga memiliki keterbatasan yang dapat mengakibatkan ketidakefektifan dengan cara pemberian ini. KOZ merupakan senyawa dengan berat molekul yang besar yaitu 531,4 g/mol. Senyawa ini tergolong dalam *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) kelas II yang memiliki kelarutan yang rendah dan permeabilitas yang tinggi dengan sifat senyawa lipofilik, nilai Log P = 4.3 dan kelarutan 0,29 mg/L serta pengikatan protein ~95% terhadap serum albumin. Karakteristik ini menjadikan KOZ memiliki kemampuan penetrasi melintasi kornea dan sawar darah mata yang buruk (Kakkar et al. 2015). Selain itu, karena memiliki waktu paruh di cairan mata ~19 menit dan pada kornea selama 43 menit, menyebabkan durasi pemakaian menjadi singkat (Zhang et al. 2008). KOZ juga mudah mengalami degradasi oleh cahaya dan dalam media cair (Chaudhari et al. 2022).

Melihat kekurangan dari KOZ, maka perlu diformulasi dalam sistem penghantaran obat yang cocok agar dapat menjaga daya hambat obat pada permukaan mata selama infeksi jamur terjadi. Salah satunya dengan memformulasikan KOZ dalam kompleks inklusi menggunakan siklodekstrin jenis hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD) (D.-H. Kim et al. 2019).

HP- β -CD merupakan salah satu jenis siklodekstrin yang dapat digunakan dalam berbagai rute penghantaran berupa oral, topikal, bukal, dan rektal (Brewster and Loftsson 2007). Dalam industri farmasi, HP- β -CD digunakan untuk meningkatkan kelarutan obat yang sukar larut dalam air dan bioavailabilitas dan stabilitas yang rendah (Thorsteinn Loftsson et al. 2005). Siklodekstrin merupakan senyawa oligosakarida siklik yang memiliki dua sifat yaitu bersifat hidrofilik pada kompartemen luar dan kompartemen dalam yang berongga bersifat lipofilik. Obat berada dalam rongga yang bersifat lipofilik membentuk kompleks inklusi dengan siklodekstrin (Garg et al. 2019). Jenis HP- β -CD lebih membantu kelarutan dari obat lipofilik dikarenakan karena HP- β -CD memiliki ukuran rongga yang paling sesuai untuk pembentukan kompleks dengan banyak obat (Saokham et al. 2018). HP- β -CD hadir untuk mengatasi kekurangan dari induknya yaitu β -siklodekstrin (β -CD) yang memiliki keterbatasan kelarutan dalam air, berpotensi membentuk kompleks kristal dan bersifat nefrotoksistas bila diberikan secara parenteral (Stegemann et al. 2007). HP- β -CD adalah turunan β -CD terhidroksialkili yang menunjukkan kelarutan dalam air yang relatif tinggi, toksisitas rendah, dan kemampuan inklusi yang memuaskan. Dengan keunggulan ini, HP- β -CD telah berhasil digunakan untuk meningkatkan sifat farmasi *Active Pharmaceutical Ingredient* (API) dan menunjukkan potensi aplikasi yang lebih baik daripada β -CD (Yao et al. 2014).

Namun penghantaran KI-KOZ pada organ mata terbatas oleh faktor anatomi dan fisiologis dari mata. Secara fisiologis, mata memiliki larutan air mata yang berfungsi sebagai pembersihan mata atau *washout*. Selain itu, refleks berkedip, juga dapat menjadi penghalang kontak antara obat dengan jaringan (Khiev et al. 2021). Secara anatomi, mata memiliki sawar darah retina, yang dapat menjadi penghalang dalam penghantaran secara injeksi. Hal-hal ini yang akhirnya membuat pengobatan tidak optimal karena bioavailabilitas obat dalam sel target rendah (Onugwu et al. 2023). Bioavailabilitas obat mata umumnya sangat kurang baik bila diberikan secara topikal. Umumnya, hanya 1- 5% dari dosis obat mata yang diberikan yang dapat menembus kornea untuk mencapai ruang bagian dalam (S. Ahmed, Amin, and Sayed 2023)(Gaudana et al. 2009). Oleh karena itu

dibutuhkan suatu sistem yang efektif untuk menghantarkan dan mempertahankan kontak KI-KOZ di mata.

Secara konvensional, untuk mencapai bagian dalam mata, umumnya dilakukan penyuntikan menggunakan jarum hipodermik (Ranta and Urtti 2006). Namun cara ini memberikan ketidaknyamanan, menimbulkan rasa nyeri, pendarahan dan kemungkinan infeksi (misalnya endoftalmitis) (Thakur Singh et al. 2017). Untuk meningkatkan efektivitas penghantaran KI-KOZ, maka diperlukan juga sistem penghantaran yang membantu KI-KOZ mencapai sel target di mata. Salah satu metode penghantaran obat ke dalam jaringan mata yang dapat mengatasi masalah dari penghantaran konvensional saat ini adalah *Dissovable Microneedle* (DSMN).

Dissovable Mikroneedle (DSMN) adalah teknologi berskala mikron (dengan tinggi 60 hingga 1000 μm) yang bersifat minimal invasif terhadap jaringan mata (Putri et al. 2024) (Sapiun et al. 2024). DSMN bekerja dengan membentuk saluran pada kornea sebagai jalur masuknya KI-KOZ, sehingga mampu secara efektif melewati penghalang kornea. Jarum ini membantu membawa dan menyimpan obat ke dalam sklera atau ke dalam ruang suprachoroidal sehingga dapat memfasilitasi difusi obat lebih dalam ke jaringan mata, koroid dan retina saraf (Patel et al. 2013). DSMN mengandung polimer yang bersifat *biokompatibel* dan *biodegradable* sehingga tidak meninggalkan residu polimer di mata dan menyebabkan kerusakan minimal pada jaringan mata, yang memungkinkannya sembuh dalam waktu 24 jam serta tidak meninggalkan residu nonmedis setelah larut sempurna (Glover et al. 2023) (Gadziński et al. 2022).

Tantangan kurangnya waktu kontak dapat diatasi salah satunya dengan sediaan *thermoreponsive ophthalmic in situ gel* (TOR). TOR merupakan suatu sistem yang dapat mempertahankan kontak KI-KOZ di mata sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas dan respons terapeutik dari KOZ. Sediaan ini tidak menyebabkan penglihatan kabur atau iritasi saat pemberian (Youssef, Dudhipala, and Majumdar 2020). Sistem ini merupakan larutan polimer yang mengalami transisi fase *sol-gel* dengan membentuk gel viskoelastik sebagai respons terhadap rangsangan lingkungan yaitu dalam hal ini adanya perubahan suhu yang menyebabkan peningkatan waktu tinggal di mata (Patel et al. 2013) (Yumei Wu et al. 2019) (Yadav, Rajpurohit, and Sharma 2019) (B. Ahmed et al. 2024).

Berdasarkan rangsangannya, gel in situ dapat dibagi menjadi tipe yang diaktifkan ion (Rupenthal, Green, and Alany 2011), sensitif terhadap suhu, dan sensitif terhadap pH (Bawa et al. 2009). Di antara ketiga gel in situ, gel in situ yang sensitif terhadap suhu memiliki keamanan yang lebih tinggi daripada dua gel lainnya. Telah dilaporkan bahwa gel yang sensitif terhadap ion dan sensitif terhadap pH lebih mengiritasi mata, yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel konjungtiva (Kawase et al. 2010). Kompleksasi dengan HP- β -CD dapat meningkatkan kelarutan obat dan permeasi melalui membran, dan dapat meningkatkan stabilitasnya (Thorsteinn Loftsson and Brewster 2011).

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini, KOZ akan diformulasi dalam kompleks inklusi (KI-KOZ) dalam sediaan DSMN dan TOR. Dari formulasi ini, waktu kontak KOZ dengan membran sel ditingkatkan dengan bantuan sifat dari sediaan TOR, kemudian jalur masuk KI-KOZ ke dalam mata dibantu oleh DSMN, sehingga KI-KOZ dapat masuk dan melarut di dalam cairan mata, dan pada akhirnya KOZ dapat terhantarkan ke sel target di mata untuk mencapai efek terapeutiknya dengan efek samping yang lebih sedikit.

Perbedaan dari penelitian yang sejenis tentang formulasi KOZ adalah jenis polimer yang digunakan pada formulasi kompleks inklusi dan riset ini merupakan riset yang pertama kali memperkenalkan sistem KI-KOZ inkooperasi dalam DSMN sebagai alternatif metode baru penghantaran KOZ ke mata.

1.2 Rumusan Masalah Penelitian

1. Bagaimana formulasi, karakterisasi dan aktivitas antijamur dari sediaan *dissolving microneedle* ketokonazol (DSMN-KOZ) dan sediaan *thermoresponsive in situ gel* (TOR-KOZ)?
2. Sistem penghantaran obat manakah yang memberikan aktivitas antijamur yang baik pada pengobatan keratitis jamur berdasarkan parameter uji *ex vivo*, dan/atau *in vivo*: *dissolving microneedle* atau *thermoresponsive in situ gel*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk melakukan formulasi, karakterisasi dan aktivitas antijamur dari sediaan *dissolving microneedle* ketokonazol (DSMN-KOZ) dan sediaan *thermoresponsive in situ gel* (TOR-KOZ).
2. Untuk menentukan sistem penghantaran obat yang memberikan aktivitas antijamur yang baik pada pengobatan keratitis jamur berdasarkan parameter uji *ex vivo*, dan/atau *in vivo*: *microneedle* atau *thermoresponsive in situ gel*

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan menjadi sumber referensi ilmiah untuk pengembangan sediaan pada pengobatan mata dan menjadi sumber data ilmiah bagi penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan sediaan mata. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangsih solusi yang lebih baik dalam mengatasi infeksi jamur pada mata dan memperbaiki kualitas hidup pasien yang terdampak. Selain itu, teknologi yang dikembangkan berpotensi untuk diterapkan pada berbagai penyakit mata lainnya dan dapat memperkaya pemahaman dalam bidang farmasi dan pengobatan.

1.5 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah meliputi pembuatan kompleks inklusi, formulasi formulasi *dissolving microneedle* (DSMN), *thermoresponsive ophthalmic in situ gel* (TOR), serta karakterisasi secara fisika, uji *in vitro*, *ex vivo* dan *in vivo* formula terpilih

1.6 Kebaruan Penelitian

Kebaruan dari penelitian ini adalah :

- a. Pengembangan sediaan topikal ketokonazol untuk terapi keratitis jamur, yang hingga saat ini belum tersedia secara komersial dalam bentuk sediaan mata.
- b. Didapatkannya sediaan *dissolving microneedle* inkooperasi dengan kompleks inklusi ketokonazol yang stabil secara fisik dan aman dengan peningkatan efektivitas sebagai anti keratitis jamur pada mata.
- c. Didapatkannya sediaan *thermoresponsive ophthalmic in situ gel* inkooperasi dengan kompleks inklusi ketokonazol yang stabil secara fisik dan aman dengan peningkatan efektivitas sebagai anti keratitis jamur pada mata.

BAB II

PENGEMBANGAN *DISOLVING MICRONEEDLE* BERBASIS KOMPLEKS INKLUSI UNTUK PENINGKATAN PENGHANTARAN KETOKONAZOL PADA KERATITIS JAMUR

2.1 Abstrak

Latar belakang. Ketokonazol (KOZ) merupakan obat antijamur berspektrum luas yang penggunaannya dibatasi oleh kelarutan air yang sangat rendah serta penetrasi okular yang tidak memadai, sehingga membatasi efikasi terapeutiknya pada keratitis jamur. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan penghantaran KOZ melalui pembentukan kompleks inklusi dengan hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD) dan menginkorporasikannya ke dalam *dissolving microneedle* (DSMN). **Metode.** Kompleks inklusi KOZ-HP- β -CD dikarakterisasi secara komputasional dan eksperimental melalui *molecular docking*, uji kelarutan, FTIR, XRD, serta evaluasi pelepasan dan aktivitas antijamur. Sistem DSMN dievaluasi meliputi kekuatan mekanik, kemampuan penetrasi kornea, profil pelarutan jarum, transmisi uap air, penyerapan kelembapan, *drug content*, permeasi dan retensi *ex vivo*, serta aktivitas antijamur *ex vivo* dan *in vivo*. **Hasil.** Analisis *molecular docking* menunjukkan KOZ mampu berinteraksi dengan rongga siklodekstrin. Analisis kelarutan fase dan saturasi mengonfirmasi keberhasilan pembentukan kompleks, yang menghasilkan peningkatan signifikan pada ketersediaan KOZ dalam medium berair. Pada perbandingan KOZ:HP- β -CD = 1:2,5 (F5) menghasilkan tingkat kelarutan yang paling tinggi. Uji pelepasan obat *in vitro* menunjukkan pelepasan KI-KOZ sebesar $95,83 \pm 1,67\%$ mengikuti model kinetika orde pertama, sementara uji zona hambat antijamur memastikan bahwa potensi antijamur KOZ tetap terjaga. Formulasi DSMN teroptimasi (D3) menunjukkan kekuatan mekanik yang baik (penurunan tinggi jarum $2,92 \pm 0,26\%$), kemampuan penetrasi yang konsisten melalui lapisan Parafilm® M, serta waktu pelarutan ujung jarum yang cepat, yaitu dalam 15 menit kontak dengan kornea. Studi stabilitas menunjukkan transmisi uap air yang rendah dan penyerapan kelembapan yang minimal, sehingga mendukung stabilitas dan penyimpanan DSMN. Analisis *solid-state* (XRD dan FTIR) mengindikasikan amorfisasi KOZ di dalam rongga HP- β -CD serta keberhasilan integrasinya ke dalam matriks polimer AH/PVP. Uji retensi menggambarkan bahwa DSMN-KOZ mampu melokalisasi obat secara efektif di kornea sebesar $43,13 \pm 0,029\%$, sedangkan uji permeasi menunjukkan sekitar $55,138 \pm 7,026\%$ kandungan KOZ terpermeasi dalam 24 jam. Aktivitas antijamur dengan model infeksi antijamur *in vivo* menunjukkan peningkatan bermakna dalam pembersihan infeksi jamur, di mana DSMN mencapai hingga 85% penurunan beban jamur, melampaui tetes mata dan salep konvensional. **Kesimpulan.** DSMN-KOZ merupakan platform penghantaran obat okular yang minim invasif, stabil, dan sangat efektif, yang menawarkan onset aksi cepat, waktu tinggal yang lebih panjang, serta efikasi antijamur superior, sehingga mendukung potensi aplikasinya secara translasi dalam terapi keratitis jamur.

Kata kunci: ketokonazol, hidroksipropil- β -siklodekstrin, *dissolving microneedles*, penghantaran obat okular, keratitis jamur.

2.2 Pendahuluan

Kesehatan mata merupakan salah satu kategori utama dalam pengawasan pemerintah. Hal ini disebabkan karena gangguan pada mata dapat mengganggu kualitas hidup penduduk Indonesia. Hasil survey *Rapid Assessment of Avoidable Blindness* (RAAB) pada tahun 2014-2016 di 15 provinsi menyatakan bahwa prevalensi kebutaan di Indonesia mencapai angka 3,0% (Kemenkes RI 2018). Salah satu penyebab kebutaan tertinggi di Indonesia adalah keratitis. Keratitis merupakan suatu kondisi peradangan pada lapisan kornea yang dapat disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme yaitu bakteri, jamur, fungi, virus, parasit, dan infeksi polimikroba (Ting et al. 2021). Keratitis yang disebabkan oleh jamur disebut sebagai keratitis jamur atau keratitis mikotik. Sebanyak 95% infeksi jamur pada mata disebabkan oleh jamur berfilamen yaitu *Fusarium* spp dan *Aspergillus* spp, serta ragi *Candida* spp. (Niu et al. 2020). Pada tahun 2021, sebanyak 1-1,4 juta kasus keratitis yang disebabkan oleh jamur dan fungi menyebabkan gangguan penglihatan dan 600.000 kasus diantaranya mengarah pada kebutaan (Brown et al. 2021) (Mahmoudi et al. 2018).

Pengobatan keratitis jamur dapat dilakukan dengan pemberian antijamur berupa ketokonazol (KOZ). KOZ termasuk ke dalam golongan antijamur spektrum luas. Meski KOZ bukan merupakan pengobatan lini pertama untuk keratitis jamur, tetapi KOZ diketahui menjadi kandidat pengobatan yang efektif untuk jenis keratitis jamur yang parah (Drouhet and Dupont 1983). Dibandingkan dengan amphotericin B (AmB) yang juga merupakan antijamur pada pengobatan keratitis jamur pada mata, AmB memiliki kekurangan berupa toksisitasnya terhadap kornea yang dapat menyebabkan nekrosis dari kornea dan nodul subkonjungtiva (Sahay et al. 2019). Natamisin merupakan pengobatan lini pertama pada keratitis jamur pada mata tetapi natamisin tidak efektif terhadap *Candida*, yang merupakan spesies jamur paling umum yang menyebabkan infeksi jamur mata (Lakhani, Patil, and Majumdar 2019). Selain itu salah satu masalah umum dalam penggunaan natamisin adalah melekatnya partikel tersuspensi pada area ulserasi epitel, serta pada forniks dan tepi kelopak mata (Sahay et al. 2019). KOZ telah menunjukkan efektivitas yang sebanding dengan agen antijamur triazol lainnya, termasuk itraconazol dan flukonazol, dalam pengobatan endoftalmitis *Candida albicans* ketika terapi diberikan dalam 24 jam pertama setelah infeksi pada model *in vivo* (Felton, Troke, and Hope 2014).

Untuk pengobatan keratitis mikotik, KOZ dapat diberikan secara oral maupun topikal. Pada pemberian secara topikal pada mata yaitu 2% (Torres et al. 1985). Pada pemberian secara oral dosis yang digunakan yaitu 200 - 600 mg/hari (Said et al. 2011). Beberapa efek samping telah dilaporkan setelah pemberian oral KOZ seperti mual, muntah, gangguan pencernaan, hepatitis (Cirello et al. 2017) (Abdelbary, Amin, and Zakaria 2017) (Müller, Kara-José, and Castro 2013). Pada pengobatan keratitis jamur pada mata, pemberian oral dari KOZ hanya memberikan ketersediaan (bioavailabilitas) jumlah obat yang sedikit pada lokasi target yang disebabkan oleh kelarutan KOZ yang rendah dalam air sehingga menyebabkan penatalaksanaan penyakit mata tidak efektif (Awad et al. 2024).

Melihat efek samping di atas, maka pemberian KOZ secara topikal langsung ke mata lebih disukai (Hoffman et al. 2022). Sistem penghantaran obat secara lokal

merupakan rute alternatif yang sangat menarik karena dapat menghindari saluran pencernaan, sehingga meminimalkan efek samping gastrointestinal (Zhao et al. 2023). Namun, di sisi lain, penggunaan KOZ pada mata juga memiliki keterbatasan yang dapat mengakibatkan ketidakefektifan dengan cara pemberian ini. Senyawa ini tergolong dalam *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) kelas II yang memiliki kelarutan yang rendah dan permeabilitas yang tinggi. Karakteristik ini menjadikan KOZ memiliki kemampuan penetrasi melintasi kornea dan sawar darah mata yang buruk (Kakkar et al. 2015).

Untuk mengatasi keterbatasan pemberian KOZ secara topikal pada mata, diperlukan pengembangan sistem penghantaran obat yang mampu mempertahankan aktivitas antijamur pada permukaan okular selama periode infeksi. Salah satu strategi yang menjanjikan adalah memformulasikan KOZ ke dalam kompleks inklusi dengan siklodekstrin (CD). Siklodekstrin merupakan oligosakarida siklik yang tersusun atas bagian luar yang bersifat hidrofilik dan rongga dalam yang bersifat hidrofobik, sehingga memungkinkan enkapsulasi obat yang memiliki kelarutan air rendah guna meningkatkan kelarutannya dan, pada akhirnya, meningkatkan bioavailabilitasnya. CD dapat digunakan dalam bentuk alaminya (α -, β -, atau γ -siklodekstrin) maupun sebagai turunan hasil modifikasi kimia. Di antara berbagai jenis tersebut, hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD) merupakan salah satu turunan yang paling banyak digunakan karena memiliki kelarutan air yang lebih baik serta toksisitas yang lebih rendah dibandingkan β -CD alami (Lachowicz, Stańczak, and Kołodziejczyk 2020).

Meskipun kompleks inklusi KOZ-HP- β -CD (KI-KOZ) telah diformulasikan, penghantaran okularnya tetap mengalami hambatan fisiologis akibat mekanisme pertahanan alami mata. Cairan air mata berfungsi sebagai sistem pembersihan dinamis, sementara refleks berkedip semakin mengurangi waktu kontak obat dengan jaringan okular (Begum et al. 2020; Khiev et al. 2021). Akibatnya, bioavailabilitas obat okular yang diberikan secara topikal umumnya rendah, yaitu hanya sekitar 1–5% dari dosis yang diaplikasikan mampu menembus kornea untuk mencapai jaringan intraokular (S. Ahmed, Amin, and Sayed 2023). Hal ini menjadi tantangan besar dalam terapi keratitis jamur, terutama pada tahap lanjut ketika infeksi telah menginvasi struktur okular yang lebih dalam. Secara konvensional, penghantaran obat intraokular dicapai melalui injeksi menggunakan jarum hipodermik (Pickel et al. 2020). Namun, metode ini sering dikaitkan dengan ketidaknyamanan pasien, nyeri, perdarahan, serta potensi komplikasi seperti endoftalmitis (Thakur Singh et al., 2017) (Hu et al. 2025).

Salah satu alternatif yang sedang berkembang untuk mengatasi keterbatasan tersebut adalah penggunaan *dissolvable microneedle* (DSMN). DSMN merupakan struktur berskala mikron (biasanya 60–1000 μm) yang dirancang untuk melakukan invasi minimal pada jaringan okular (Putri et al. 2024) (Sapiun et al. 2024). Mikroneedle ini membentuk mikrokanal pada penghalang kornea, sehingga memungkinkan penghantaran KI-KOZ secara efisien. Mikroneedle memfasilitasi deposisi obat secara terarah ke dalam sklera atau ruang suprachoroidal, sehingga mendukung difusi obat yang lebih dalam menuju jaringan intraokular, termasuk koroid dan retina neural (Patel 2013). DSMN dibuat menggunakan polimer yang biokompatibel dan biodegradable yang dapat larut sepenuhnya tanpa meninggalkan residu berbahaya (Aisyah et al. 2024). Hal ini memastikan kerusakan jaringan yang minimal serta memungkinkan penyembuhan

cepat (biasanya dalam 24 jam), sekaligus menghilangkan kekhawatiran terkait retensi polimer jangka panjang di jaringan okular (Gadziński et al. 2022) (Glover et al. 2023).

Dengan demikian, pengembangan sistem penghantaran DSMN berbasis KOZ merupakan pendekatan yang menjanjikan untuk mengatasi berbagai hambatan fisiologis pada mata serta meningkatkan efektivitas terapeutik pengobatan antijamur pada keratitis jamur. Dengan memungkinkan penghantaran obat yang terlokalisasi, minimal invasif, dan berlangsung secara berkepanjangan, strategi ini memiliki potensi besar untuk meningkatkan luaran klinis dan kepatuhan pasien dalam penatalaksanaan infeksi jamur okular yang menyerang jaringan dalam.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasetik dan Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin serta di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Makassar.

Bahan-bahan yang digunakan adalah ketokonazol (KOZ) diperoleh dari Anhui Biological Technology Co. Ltd., Tiongkok. Hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD) dibeli dari CycloLab Ltd., Budapest, Hungaria. Asam hialuronat (AH) (berat molekul rendah, MW 50–60 kDa) diperoleh dari Ecoori, Tiongkok. Poli(vinil pirolidon) (PVP K30) diperoleh dari Ashland, Kidderminster, Inggris. Semua bahan dan reagen lainnya yang digunakan memiliki kualitas derajat analitik.

2.3.1 Pembuatan Cairan Air Mata Buatan (CAMB)

Cairan mata buatan disiapkan dengan melarutkan sebanyak 0,670 gram natrium klorida (NaCl), 0,200 gram natrium bikarbonat (NaHCO_3), dan 0,008 gram kalsium klorida dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ke dalam 100 mL air deionisasi dan pH diukur hingga mencapai 7,4 (Kurniawansyah et al. 2020).

2.3.2 Formulasi Kompleks Inklusi KOZ-HP- β -CD (KI-KOZ)

2.3.2.1 Analisis *Molecular Docking*

Struktur tiga dimensi dari KOZ dapat diperoleh dari database *PubChem* sebagai file SDF. Sedangkan struktur kristal β -CD dan HP- β -CD diekstraksi dari RCSB *Protein Data Bank* sebagai file PDB. kristal β -CD, dan HP- β -CD serta KOZ perlu dioptimalkan untuk *docking*. Perangkat lunak UCSF Chimera digunakan untuk preparasi atau persiapan *molecular docking*. UCSF Chimera adalah program yang dapat digunakan untuk untuk visualisasi dan analisis struktur molekul. Selanjutnya untuk proses *molecular docking*, AutoDock Vina yang terhubung dengan UCSF Chimera dioperasikan dalam besaran *gridbox* untuk menentukan *binding site* terbaik antara kristal β -CD dan HP- β -CD serta KOZ (Butt et al. 2020)

2.3.2.2 Analisis *Fase Solubility*

Studi fase solubility dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh HP- β -CD terhadap kelarutan KOZ dalam medium berair. Penelitian ini dilakukan sesuai metode yang dikembangkan oleh Higuchi dan Connors, dengan beberapa modifikasi berdasarkan penelitian sebelumnya (Conde Penedo et al. 2021). Sebanyak 10 mg KOZ ditambahkan ke dalam 2 mL larutan HP- β -CD pada berbagai konsentrasi (0; 0,5; 1,0; 1,5; dan 2,0 mM)

dalam dua sistem pelarut berbeda, yaitu air suling dan etanol 96%. Suspensi kemudian dihomogenisasi menggunakan *vortex* dan diinkubasi dalam *orbital shaker* pada 100 rpm selama 24 jam pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$ hingga tercapai kondisi setimbang. Setelah inkubasi, sampel disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh disaring menggunakan *nylon syringe filter* $0,45 \mu\text{m}$, dan konsentrasi KOZ yang terlarut dianalisis menggunakan spektrofotometer UV–Vis pada λ maks yang telah ditentukan sebelumnya (Sun et al. 2022). Nilai konstanta stabilitas tampak ($K_{1:1}$) dihitung dari kemiringan kurva fase kelarutan linear menggunakan persamaan Higuchi–Connors (Anjani et al. 2021) (Conde Penedo et al. 2021).

$$K_s (M^{-1}) = \frac{\text{Slope}}{S_0 (1-\text{Slope})} \quad (1)$$

Di mana S_0 merupakan kelarutan intrinsik KOZ tanpa kehadiran HP- β -CD. Efisiensi kompleksasi (CE) dan rasio molar antara obat dan HP- β -CD (D:HP- β -CD) dihitung menggunakan persamaan standar sebagai berikut:

$$CE = S_0 \times K_s \quad (2)$$

$$\text{Obat : HP-}\beta\text{-CD molar ratio} = 1 : \frac{(CE+1)}{CE} \quad (3)$$

2.3.2.3 Pembuatan Kompleks Inklusi

Kompleks inklusi KOZ dan HP- β -CD (KI-KOZ) dibuat menggunakan metode ko-evaporasi dengan variasi rasio molar. KOZ dan HP- β -CD ditimbang secara seksama untuk memperoleh rasio molar 1:0,5; 1:1; 1:1,5; 1:2; 1:2,5; 1:3; 1:3,5; 1:4; 1:4,5; dan 1:5 (Tabel 1). Komponen kemudian dilarutkan dalam 20 mL etanol 96%, kemudian di*vortex*, dan diaduk secara kontinu menggunakan *orbital shaker* pada 100 rpm selama 24 jam pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$ untuk memastikan pembentukan kompleks secara lengkap. Setelah inkubasi, larutan diuapkan menggunakan oven pada suhu 40°C hingga diperoleh serbuk kompleks yang kering. Kompleks inklusi yang dihasilkan kemudian ditriturasikan secara perlahan hingga menjadi serbuk halus dan disimpan dalam desikator untuk analisis lebih lanjut (Mangolim et al. 2014) (Chaudhari et al. 2022).

Tabel 2.1. Formula Kompleks Inklusi KOZ: HP- β -CD (KI-KOZ)

Formula	KOZ	HP- β -CD
F1	10 mM	5 mM
F2	10 mM	10 mM
F3	10 mM	15 mM
F4	10 mM	20 mM
F5	10 mM	25 mM
F6	10 mM	30 mM
F7	10 mM	35 mM
F8	10 mM	40 mM
F9	10 mM	45 mM
F10	10 mM	50 mM

2.3.2.4 Uji Saturasi Solubility

Pada pengujian ini membandingkan kelarutan sepuluh formula KI-KOZ (F1–F10) dalam cairan air mata buatan (CAMB, pH 7,4). Setiap formula (75 mg kompleks inklusi, ekuivalen dengan 10 mg KOZ) ditambahkan secara bertahap ke dalam vial berisi 2 mL medium dan dihomogenisasi menggunakan *vortex* hingga terbentuk dispersi. Sebagai pembanding, dilakukan analisis untuk kontrol yang mengandung 10 mg KOZ murni. Seluruh vial ditempatkan dalam *orbital shaker* pada 100 rpm selama 24 jam pada suhu 37°C untuk mencapai kondisi setimbang. Sampel kemudian disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 15 menit, dan supernatan yang diperoleh disaring menggunakan filter 0,45 µm. Filtrat selanjutnya dianalisis secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV–Vis pada panjang gelombang 249 nm.

2.3.2.4.1 Uji Daya Hambat Jamur

Aktivitas antijamur dari kontrol negatif (DMSO), kontrol positif (KOZ), polimer (HP-β-CD) dan kompleks inklusi ketokonazol (KI-KOZ) dievaluasi menggunakan metode difusi agar. Cawan yang berisi *potato dextrose agar* (PDA) diinokulasi dengan 100 µL suspensi *C. albicans* yang setara dengan 1×10^7 CFU/mL, kemudian diratakan. Kertas cakram steril didifusi dengan larutan sampel uji yang mengandung 50 µg KOZ dan ditempatkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi. Cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat diukur sebanyak tiga kali dengan mencatat sumbu horizontal, vertikal, dan diagonal untuk setiap zona hambat.

2.3.2.5 Uji Pelepasan secara *In Vitro*

Uji pelepasan obat secara *in vitro* dilakukan menggunakan metode dialisis untuk mengevaluasi profil pelepasan KOZ dan formulasinya. Sampel yang ekuivalen dengan 10 mg KOZ disiapkan dalam tiga bentuk: (i) KOZ murni, (ii) campuran fisik KOZ dan HP-β-CD, dan (iii) KI-KOZ. Setiap sampel didispersikan dalam 1 mL CAMB dan dimasukkan ke dalam kantong dialisis (MWCO 12.000–14.000 Da). Kantong dialisis kemudian dimasukkan ke dalam 100 mL CAMB pada suhu $37 \pm 2^\circ\text{C}$ dengan pengadukan konstan pada 100 rpm menggunakan *orbital shaker*. Pada interval waktu yang telah ditentukan (0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 12; dan 24 jam), sebanyak 1 mL medium pelepasan diambil dan segera digantikan dengan volume media segar yang sama untuk menjaga kondisi *sink*. Jumlah KOZ yang terlarut dianalisis menggunakan spektrofotometer UV–Vis pada panjang gelombang 249 nm. Seluruh percobaan dilakukan dalam tiga ulangan (*triplicate*).

2.3.2.6 Fourier Transform-Infra Red (FTIR)

Sampel KOZ murni, polimer HP-β-CD, campuran fisik dari KOZ dan HP-β-CD, dan KI-KOZ dianalisis menggunakan instrumen FTIR (Shimadzu™ IRSpirit-T, QATR-S dengan kristal berlian *wide-band*, detektor DLATGS, Jepang) untuk melihat potensi interaksi kimia. Sampel dipersiapkan dengan kalium bromida dan dianalisis pada rentang bilangan gelombang 4000–500 cm^{-1} (Volpe-Zanutto et al. 2022).

2.3.2.7 X-Ray Diffractometer (XRD)

Pola kristal dari Sampel KOZ murni, polimer HP- β -CD, campuran fisik dari KOZ dan HP- β -CD, dan KI-KOZ dikarakterisasi menggunakan XRD (Shimadzu™ XRD-7000, Jepang). Analisis dilakukan pada 40 kV dan 30 mA dengan kecepatan pemindaian 4°/menit pada rentang 2 θ sebesar 15–70° (Putri et al. 2024) (Sulistiawati et al. 2024)

2.3.3 *Dissolving microneedle* kompleks inklusi

2.3.3.1 Formulasi *dissolving microneedle* yang memuat KI-KOZ (DSMN-KOZ)

Pembuatan DSMN menggunakan metode *single-layer micromolding*. Pertama, campuran yang terdiri atas AH, PVP K30, dan KI-KOZ disiapkan dalam berbagai perbandingan sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2.2. Setiap formula (D1–D5) menggunakan konsentrasi yang sama yaitu 10% b/b PVP K30 dan 10% b/b KI-KOZ, sedangkan konsentrasi AH divariasikan dari 1% hingga 5% b/b. Air suling ditambahkan hingga 100% b/b. Campuran polimer disiapkan dengan menambahkan serbuk kompleks inklusi yang sebelumnya didispersikan dalam air suling sambil dihomogenisasi menggunakan *vortex* untuk memastikan pelarutan dan homogenitas yang sempurna. Selanjutnya, KI-KOZ dimasukkan pada konsentrasi 10% b/b (setara 1,33 g KOZ) terhadap campuran akhir, kemudian dihomogenisasi kembali menggunakan *vortex* hingga diperoleh dispersi yang homogen.

Table 2.2. Komposisi Formula dari DSMN-KOZ

Komposisi (%w/w)	Formula				
	D1	D2	D3	D4	D5
AH	1	2	3	4	5
PVP K-30	10	10	10	10	10
KI-KOZ	10	10	10	10	10
Air suling	ad 100				

Cetakan yang telah terisi kemudian ditempatkan dalam *positive pressure chamber* (60 psi atau setara dengan ~4 bar) selama 20 menit untuk memastikan pengisian cetakan yang optimal dan menghilangkan gelembung udara yang terperangkap. Setelah pemberian tekanan, cetakan dipindahkan ke lingkungan terkontrol dan dibiarkan mengering pada suhu ruang ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 48 jam. Setelah proses pengeringan, DSMN yang terbentuk dilepaskan dengan hati-hati dari cetakan dan disimpan dalam wadah tertutup rapat berisi silika gel untuk mencegah penyerapan kelembapan sebelum dilakukan evaluasi lebih lanjut (Permana et al., 2020).

2.3.3.2 Karakterisasi DSMN-KOZ

2.3.3.2.1 Kemampuan Penetrasi dan Kekuatan Mekanik

Kekuatan mekanik dan kemampuan penetrasi DSMN-KOZ dievaluasi menggunakan Parafilm® M sebagai model membran buatan yang tervalidasi. Ketahanan mekanik DSMN dinilai dengan menerapkan gaya aksial konstan sebesar 32 N/array selama 30 detik. DSMN ditempelkan pada delapan lapis Parafilm® M yang ditumpuk untuk mensimulasikan resistensi penetrasi kulit, di mana setiap lapisan mewakili ketebalan sekitar 126 µm (Larrañeta et al. 2014). Sebelum dan sesudah kompresi, susunan mikroneedle diamati menggunakan mikroskop cahaya terkalibrasi yang terhubung dengan perangkat lunak *Optilab Viewer* untuk mencatat tinggi jarum. Rata-rata penurunan tinggi jarum dihitung dari tiga replikasi dan dinyatakan sebagai persentase menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Kompresi (\%)} = \frac{H_0 - H_c}{H_0} \times 100\% \quad (4)$$

di mana H_0 merupakan tinggi jarum awal, dan H_c menunjukkan tinggi jarum setelah kompresi. Untuk menilai kemampuan penetrasi, jumlah lubang yang terbentuk pada setiap lapisan Parafilm® M dihitung setelah proses penyisipan menggunakan mikroskop. Jumlah total lubang per lapisan serta kedalaman penetrasi maksimum kemudian dicatat.

2.3.3.2.2 Uji Waktu Melarut

Uji waktu melarut dari DSMN dilakukan dengan menggunakan jaringan kornea babi yang telah dieksisi. Sebelum pengujian, jaringan kornea direndam dalam CAMB selama 2 jam, kemudian ditepuk perlahan dengan tisu bersih untuk menghilangkan kelebihan cairan. DSMN-KOZ ditempatkan pada permukaan kornea dengan beban konstan sebesar 5 g dan diamati pada interval waktu yang telah ditentukan hingga DSMN melarut sempurna. Morfologi mikroneedle diamati menggunakan mikroskop pada menit ke-3, 6, 9, 12, dan 15.

2.3.3.2.3 Water vapor transmission rate (WVTR)

Laju transmisi uap air (*Water Vapor Transmission Rate*, WVTR) dievaluasi untuk menentukan permeabilitas DSMN-KOZ terhadap uap air yang berpotensi memengaruhi stabilitas formulasi. Botol kaca dengan diameter dan volume yang sama dengan sel transmisi diisi dengan 1 g kalsium klorida anhidrat, kemudian ditutup menggunakan film campuran polimer yang mengandung KI-KOZ dan disegel dengan pita perekat. Botol-botol tersebut disimpan dalam desikator yang mengandung kalium klorida (85% RH) selama 7 hari dan ditimbang setiap hari. Nilai WVTR dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\%WVTR = \frac{\text{Berat vial} \times \text{Ketebalan film}}{\text{Luas permukaan area film}} \times 100\% \quad (5)$$

2.3.3.2.4 *Moisture absorption ability (MAA)*

Pengujian MAA (*Moisture Absorption Ability*) dilakukan untuk menilai kemampuan DSMN-KOZ dalam menyerap uap air pada berbagai tingkat kelembapan relatif (*relative humidity*, RH). Dua desikator yang masing-masing mengandung magnesium klorida (33% RH) dan natrium nitrit (65% RH) disiapkan sebagai lingkungan pengujian. DSMN kemudian ditempatkan dalam setiap desikator selama 14 hari dan ditimbang setiap 48 jam. Nilai MAA dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ MAA} = \frac{\text{Bobot akhir DSMN} - \text{Bobot awal DSMN}}{\text{Bobot awal DSMNs}} \times 100\% \quad (6)$$

2.3.3.2.5 *Kerapatan Jarum dan Analisis Kandungan Obat*

Densitas dari matriks DSMN-KOZ yang kering ditentukan dengan menggunakan film uji berbentuk persegi panjang yang disiapkan dari campuran pencetak (*casting mixture*) yang sama dengan yang digunakan untuk membuat DSMN. Film dikeringkan hingga mencapai massa konstan, kemudian ditimbang (mg) dan diukur panjang, lebar, dan tinggi (mm) menggunakan pengukur digital terkalibrasi. Volume film dihitung menggunakan Persamaan (7):

$$\text{Volume film (mm}^3\text{)} = \text{Panjang} \times \text{Lebar} \times \text{Tinggi} \quad (7)$$

Selanjutnya, densitas matriks ditetapkan berdasarkan Persamaan (8):

$$\text{Density film (mg/mm}^3\text{)} = \frac{\text{Berat film}}{\text{Volume film}} \quad (8)$$

Untuk menentukan fraksi pelarut yang hilang selama proses pengeringan, persen kehilangan bobot (%LOD) dihitung dengan membandingkan massa basah DSMN yang baru dicetak dengan massa keringnya menggunakan Persamaan (9):

$$\% \text{ LOD} = \frac{\text{Berat Basah} - \text{Berat Kering}}{\text{Berat Basah}} \times 100\% \quad (9)$$

Fraksi KOZ dalam matriks kering selanjutnya diperoleh berdasarkan massa KOZ yang dialokasikan per jarum (10 mg) relatif terhadap massa matriks anhidrat, sebagaimana dinyatakan dalam Persamaan (10):

$$\% \text{ KOZ dalam matriks kering} = \frac{\text{Massa KOZ yang terkandung dalam jarum}}{100 - \% \text{ LOD}} \times 100\% \quad (10)$$

Volume jarum (*needle volume*) dihitung menggunakan rumus geometri untuk piramida dan dikalikan dengan total jumlah jarum dalam satu array 10 × 10 (100 jarum). Volume total jarum tersebut, bersama dengan densitas matriks yang telah ditentukan, digunakan untuk menghitung massa jarum.

Selanjutnya, kandungan KOZ teoritis pada satu array dihitung menggunakan Persamaan (11):

$$\text{Kandungan KOZ secara teoritis dalam jarum} = \frac{\% \text{KOZ pada matrik kering}}{100} \times \text{berat jarum} \quad (11)$$

Dalam penelitian ini, nilai acuan kandungan KOZ teoretis yang digunakan adalah 0,42 mg KOZ per array 10×10, yang diturunkan dari kombinasi densitas matriks, jumlah total padatan yang mengisi cetakan, dan proporsi KOZ dalam campuran pencetak. Jumlah kandungan KOZ dalam masing-masing *array* dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Sebuah DSMN direndam dalam 5 mL cairan air mata, disonikasi selama 60 menit, kemudian disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 15 menit. Sebanyak 0,1 mL supernatan diambil dan diencerkan secara kuantitatif hingga 1 mL, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 249 nm. Konsentrasi KOZ dalam sampel hasil pengenceran dihitung dan digunakan untuk memperoleh massa KOZ per array.

Persen *drug content recovery* dihitung menggunakan Persamaan (12):

$$\text{Drug content recovery (\%)} = \frac{\text{Konsentrasi KOZ yang diperoleh}}{\text{Kandungan KOZ teoritis dalam jarum}} \times 100 \quad (12)$$

2.3.3.2.6 *In vitro* Hen's Egg Test on the Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) study

Uji iritasi okular *in vitro* dilakukan menggunakan metode HET-CAM sesuai dengan "ICCVAM-Recommended Test Method Protocol untuk mengevaluasi potensi iritasi okular dari DSMN-KOZ (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) 2010). Telur ayam yang telah dibuahi diinkubasi pada suhu $37 \pm 2^\circ\text{C}$ dengan kelembapan relatif $58 \pm 2\%$ selama 8 hari. Pada hari ke-9, telur yang masih hidup diidentifikasi melalui proses *candling* dan kemudian dibuka secara hati-hati pada bagian kantung udara untuk mengekspos membran korioalantois (CAM). Bahan uji, NaOH 0,1 M (kontrol positif) dan NaCl 0,9% (kontrol negatif), disiapkan dalam kondisi steril. Sebanyak 0,3 mL dari masing-masing sampel diaplikasikan secara perlahan pada permukaan CAM. Perubahan morfologis diamati dan didokumentasikan pada menit ke-0, 0,5, 2, dan 5 setelah aplikasi, dengan fokus pada tanda-tanda iritasi seperti perdarahan (*hemorrhage*), lisis, dan koagulasi pembuluh darah.

Table 2.3. Skema Penilaian untuk Pengujian Iritasi menggunakan metode uji HET-CAM

Efek	Skor		
	0.5 menit	2 menit	5 menit
<i>Hemorrhage</i>	7	5	3
Lisis	5	3	1
Koagulasi	9	7	5

Tabel 2.4. Skor iritasi sistem klasifikasi HET-CAM

Skor	Klasifikasi
0-0,9	Tidak isitasi atau praktis tidak mengiritasi
1-4,9	Lemah atau sedikit mengiritasi Weak

5-8,9 or 5-9,9	Iritasi sedang
9-21 or 10-21	Iritasi kuat atau parah

Skor HETCAM dihitung dengan persamaan :

$$\text{Skor HETCAM} = \text{Skor hemorrhage} + \text{skor lisis} + \text{skor koagulasi.} \quad (13)$$

2.3.3.2.7 Uji Permeasi Okular secara *Ex vivo*

Uji permeasi kornea secara *ex vivo* dilakukan dengan menggunakan sel difusi Franz. Kornea segar yang telah dipreparasi dipasang di antara kompartemen reseptor dan donor dengan posisi sisi epitel menghadap kompartemen donor. Kompartemen reseptor diisi dengan CAMB yang diaduk secara magnetik pada suhu $37 \pm 2^\circ\text{C}$. Setelah memastikan tidak ada gelembung udara yang terperangkap pada antarmuka jaringan-medium, kompartemen donor diletakkan dan seluruh sistem disegel menggunakan Parafilm® M untuk meminimalkan evaporasi. DSMN kemudian diaplikasikan pada permukaan kornea dengan tekanan manual ringan selama 30 detik. Selanjutnya, silinder besi seberat 5 g ditempatkan di atasnya untuk mencegah pergeseran selama pengujian. Pengujian dilakukan pada suhu $37 \pm 2^\circ\text{C}$ dengan pengadukan magnetik secara kontinu (100 rpm). Pada interval waktu yang telah ditentukan (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, dan 24 jam), sebanyak 1 mL sampel diambil dari kompartemen reseptor, kemudian segera digantikan dengan volume yang sama dari medium reseptor segar yang telah dipanaskan terlebih dahulu guna mempertahankan volume konstan dan kondisi *sink*. Sampel yang dikumpulkan selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 249 nm. Dilakukan juga pada sediaan salep mata dan tetes mata (setara 0,42 mg KOZ).

2.3.3.2.8 Uji Retensi Okular secara *Ex Vivo*

Kornea mata yang telah digunakan pada pengujian permeasi, dibilas dengan CAMB, kemudian dipotong menjadi potongan-potongan kecil kemudian diekstraksi menggunakan 10 mL etanol absolut. Campuran ini kemudian dihomogenisasi menggunakan *vortex*, disonikasi, dan disentrifugasi pada 7.000 rpm selama 15 menit. Hasil supernatan kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 244 nm (Bhatnagar et al. 2018).

2.3.3.2.9 Uji Aktivitas Antijamur secara *In Vivo* pada Model Hewan Kelinci

Aktivitas antijamur *in vivo* dievaluasi menggunakan model infeksi keratitis jamur pada kelinci. Semua prosedur hewan telah ditinjau dan disetujui oleh Komite Etik Hewan Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin (nomor protokol 1182/UN4.17/KP.06.05/2025). Kelinci jantan berwarna putih (usia 4–6 minggu, berat 2,0–2,5 kg) diaklimatisasi selama 7 hari dalam kondisi terkontrol (suhu ruangan, kelembaban relatif 50–60%) sebelum pengujian dimulai. Setelah 7 hari, hewan dianestesi menggunakan dietil eter, dan 100 μL suspensi *C. albicans* (1×10^7 CFU/mL) diinjeksi secara intrastromal ke dalam kornea. Setelah terbukti terjadi perkembangan keratitis, kelinci dibagi secara acak ke dalam empat kelompok ($n = 3$): (i) kontrol tanpa perlakuan, (ii) DSMN-KOZ, (iii) salep mata, dan (iv) tetes mata. Perlakuan diberikan setiap hari

selama 14 hari berturut-turut. Untuk kelompok DSMN, patch diaplikasikan pada permukaan kornea dan ditekan perlahan dengan jari selama 5 menit untuk memastikan mikroneedle larut sepenuhnya sebelum *baseplate* dilepas. Untuk kelompok tetes mata dan salep mata, sediaan ditetaskan atau dioleskan langsung pada permukaan kornea. Sampel okular dikumpulkan setiap hari menggunakan swab steril. Setiap swab dicelupkan ke dalam 9 mL air steril, dan diambil 1 mL diencerkan secara serial (10^{-1} hingga 10^{-5}). Dari setiap pengenceran, 1 mL dituangkan ke cawan petri berisi PDA. Cawan kemudian diputar perlahan untuk memastikan distribusi yang merata dan diinkubasi pada 25°C selama 48 jam. Jumlah koloni jamur dihitung menggunakan colony counter berdasarkan metode hitung cawan standar (*standard plate count method*).

2.3.4 Analisis Statistik

Analisis statistik dan pembuatan grafik pada penelitian ini dilakukan menggunakan GraphPad Prism versi 10.4.0 (GraphPad Software, USA). Kecuali dinyatakan lain, seluruh hasil disajikan sebagai rerata $\pm$ simpangan baku. Perbedaan antara dua kelompok dianalisis menggunakan *paired t-test*, sedangkan perbandingan antar kelompok (>2 kelompok) dievaluasi menggunakan *one-way analysis of variance* (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji *post hoc* yang sesuai apabila diperlukan. Nilai $p < 0,05$ dianggap menunjukkan signifikansi secara statistik.

2.4 Hasil dan Pembahasan

2.4.1 Formulasi Kompleks Inklusi Ketokonazol (KI-KOZ)

2.4.1.1 Analisis *Molecular Docking*

Analisis *molecular docking* dilakukan untuk memahami bagaimana KOZ berinteraksi dengan dua jenis siklodekstrin β -CD dan HP- β -CD serta untuk memprediksi kestabilan kompleks inklusi yang terbentuk. Tiga parameter utama digunakan dalam interpretasi hasil docking, yaitu energi ikatan (*binding energy*), jumlah ikatan hidrogen, dan jumlah interaksi hidrofobik. Ketiga parameter ini memberikan gambaran menyeluruh mengenai kekuatan, orientasi, dan stabilitas kompleks.

Tabel 2.5 Parameter *Molecular Docking* Siklodekstrin

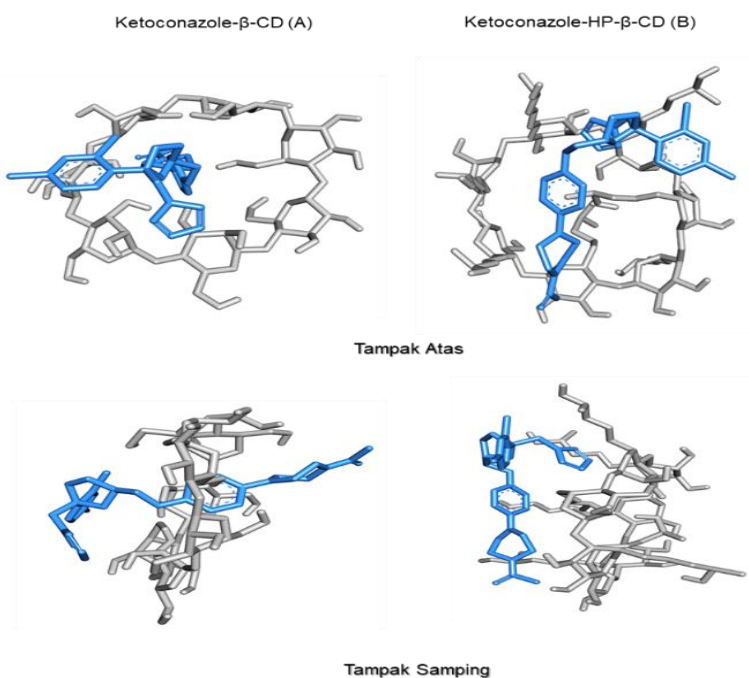
Kompleks	Ikatan Energi (kcal/mol)	Total Ikatan Hidrogen	Total Ikatan Hidrofobik
KOZ- β -CD	-4.56	1	3
KOZ-HP- β -CD	-3.05	0	0

Hasil visualisasi molekul pada Gambar 2.1 menunjukkan bahwa KOZ mampu berinteraksi dengan rongga β -siklodekstrin (β -CD) maupun 2-hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD). Pada kompleks KOZ- β -CD (Gambar 2.1A), molekul KOZ tampak lebih stabil terenkapsulasi di dalam rongga siklodekstrin, sedangkan pada kompleks KOZ-HP- β -CD (Gambar 2.1B), molekul KOZ menunjukkan orientasi yang lebih fleksibel dengan beberapa bagian molekulnya terekspos ke arah pelarut. Perbedaan ini

mengindikasikan bahwa substitusi gugus hidroksipropil pada β -CD memengaruhi kapasitas inklusi serta stabilitas kompleks yang terbentuk.

Nilai energi ikatan (ΔG_{bind}) yang diperoleh, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2.3, mendukung hasil visualisasi tersebut. Kompleks KOZ- β -CD menunjukkan energi ikatan sebesar $-4,56$ kcal/mol, yang lebih rendah dibandingkan KOZ-HP- β -CD ($-3,05$ kcal/mol). Energi ikatan yang negatif menunjukkan afinitas ikatan yang kuat serta stabilitas kompleks yang tinggi (Pantsar and Poso 2018). Selain itu, kompleks KOZ- β -CD membentuk satu ikatan hidrogen dan tiga interaksi hidrofobik, yang secara keseluruhan berkontribusi terhadap kestabilan kompleks. Sebaliknya, kompleks inklusi KOZ-HP- β -CD tidak menunjukkan adanya ikatan hidrogen atau interaksi hidrofobik yang signifikan, sehingga mengakibatkan afinitas pengikatan terhadap KOZ menjadi lebih rendah.

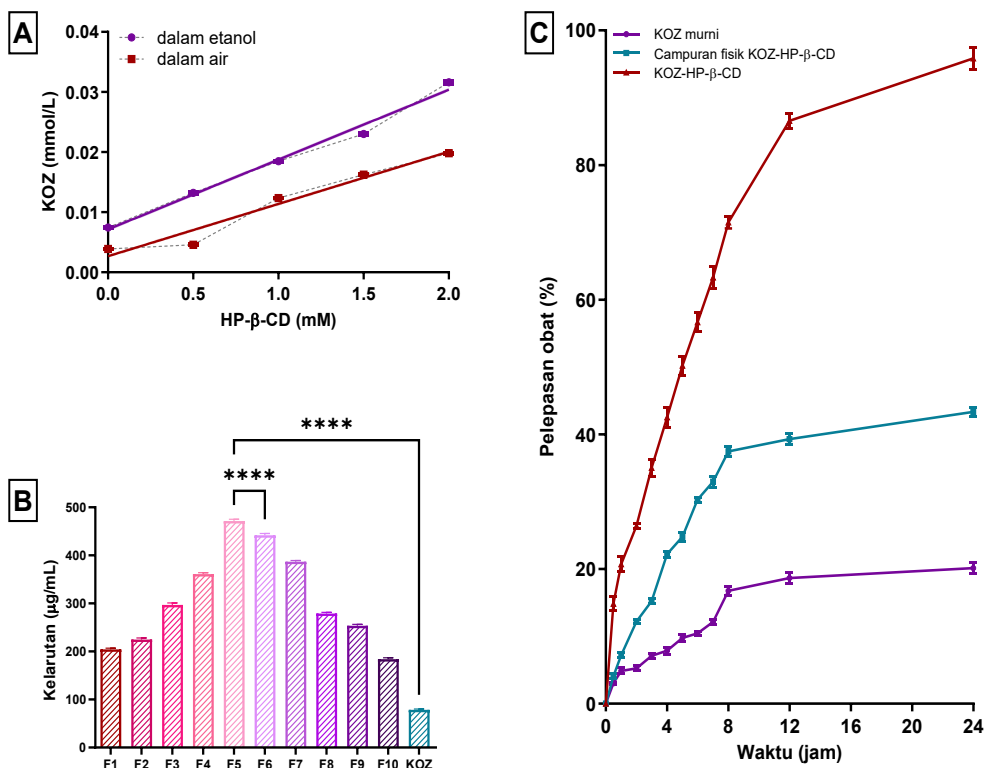
KOZ adalah molekul besar dan lipofilik, sehingga stabilnya kompleks hasil *docking* kemungkinan karena hanya sebagian molekul yang masuk, namun tertahan kuat oleh interaksi hidrofobik. β -CD memiliki rongga ideal untuk obat lipofilik dan memiliki energi ikatan yang lebih negative dari HP- β -CD dan dari sisi praktis β -CD biasanya memberikan peningkatan kelarutan lebih baik karena ukuran rongga yang lebih sesuai. HP- β -CD biasanya digunakan untuk meningkatkan kelarutan secara signifikan dalam praktek formulasi, meskipun hasil *docking* menunjukkan afinitas terlemah. Hal ini dapat dijelaskan karena HP- β -CD lebih amorf, lebih hidrofilik, lebih mudah berinteraksi dengan air, sehingga meningkatkan kelarutan obat dari sisi fisika-kimia, bukan dari sisi afinitas interaksi langsung (Musuc 2024).



Gambar 2.1. Visualisasi kompleks inklusi Ketokonazol- β -siklodekstrin (A) dan Ketokonazol-HP- β -siklodekstrin (B).

2.4.1.2 Analisis Fase Solubility

Analisis *fase solubility* dilakukan untuk menilai apakah KOZ membentuk kompleks inklusi dengan HP- β -CD, sebagaimana ditentukan oleh analisis stoikiometri berdasarkan parameter terhitung yang diuraikan di bagian metode. KOZ adalah basa lemah lipofilik dengan kelarutan air yang buruk dan kelarutan yang lebih tinggi dalam etanol. Pada pH fisiologis sekitar 7, KOZ sebagian besar terionisasi dengan pKa 6–6,5, yang mendukung penetrasi ke dalam rongga hidrofobik HP- β -CD. Dengan demikian, lipofilisitas yang sama yang membatasi pelarutan KOZ dalam air menjadi pendorong termodinamika untuk inklusi. Sifat amfifilik HP- β -CD, dengan eksterior hidrofilik dan rongga nonpolar sekitar 0,6–0,65 nm, memungkinkannya untuk menampung daerah nonpolar KOZ, sehingga meningkatkan kelarutan nyatanya (Szente et al. 2018). Karena HP- β -CD tidak terionisasi dalam rentang pH yang diteliti, kompleksasi berlangsung terutama melalui interaksi van der Waals, hidrofobik, dan ikatan hidrogen, tanpa risiko ikatan ionik ireversibel yang kuat (Lee et al. 2020). Fitur-fitur ini menguntungkan dalam formulasi okular, yang mana pemrosesan berbasis air, penggunaan surfaktan rendah, dan pelepasan obat reversibel sangat penting.



Gambar 2.2. Fase solubility dari KOZ dengan HP- β -CD dalam etanol and air (A); *saturation solubility* dari formula KI-KOZ (F1–F10) dan KOZ murni (B); profil pelepasan secara *in vitro* dari KOZ murni, campuran fisik, dan KI-KOZ (C). Data disajikan dalam rata-rata $\pm$ SD ($n = 3$).

Untuk mengetahui efek pelarut, pengujian *fase solubility* dilakukan dalam etanol dan air suling. Etanol, karena kurang polar, dapat melarutkan KOZ sampai batas tertentu secara independen, mengurangi dorongan relatif untuk inklusi HP- β -CD, yang sering kali menghasilkan nilai ikatan yang diamati lebih rendah relatif terhadap media yang murni berair. Beberapa studi mekanistik dan simulasi telah melaporkan penurunan stabilitas kompleks dengan adanya etanol sebagai ko-pelarut (Boonyarattanakalin dkk., 2015). Sebaliknya, aquades mendorong peningkatan relatif yang lebih besar dalam kelarutan setelah penambahan HP- β -CD, yang menyoroti kesesuaiannya untuk sistem pengiriman okular berbasis air. Diagram kelarutan fase di kedua media menampilkan profil linear di seluruh rentang yang diuji (0–2 mM HP- β -CD) (Gambar 2.2A), yang menunjukkan pembentukan kompleks 1:1 yang larut. Intersep tersebut menghasilkan kelarutan intrinsik KOZ (dalam satuan molar), S_0 , etanol = $7,464 \times 10^{-6}$ M, dan S_0 , akuades = $3,898 \times 10^{-6}$ M, yang konsisten dengan KOZ yang lebih larut dalam etanol daripada dalam air. Parameter terhitung untuk kompleks inklusi disajikan pada Tabel 2.4.

Table 2.5. Parameter fase solubility dari KI-KOZ

Pelarut Siklodekstrin	S_0 (M)	S_0 (mg/mL)	Slope	$K_{1:1}$ (M^{-1})	CE	D:HP- β -CD	R^2
Air Suling	3.8981×10^{-6}	0.0087	0.0087	2251.3953	0.0087	113.9425	0.9897
Etanol 96%	7.4641×10^{-6}	0.0039	0.0116	1572.3253	0.0117	85.2068	0.9556

Konstanta stabilitas terhitung ($K_{1:1}$) berada dalam rentang diterima, yaitu 50–5.000 M^{-1} (Jambhekar and Breen 2016). $K_{1:1}$ yang lebih tinggi dalam air suling menunjukkan inklusi yang lebih menguntungkan secara termodinamika dalam medium yang lebih polar. Nilai efisiensi kompleksasi (CE) adalah 0,0116 dalam etanol dan 0,0087 dalam akuades, yang menghasilkan rasio obat : HP- β -CD masing-masing sebesar 1:87 dan 1:117. Pada konsentrasi 2,0 mM HP- β -CD, kelarutan KOZ yang diprediksi meningkat sekitar 4,1 kali lipat dalam etanol dan 5,46 kali lipat dalam akuades relatif terhadap S_0 . Dengan demikian, meskipun lebih banyak HP- β -CD diperlukan secara molar dalam air untuk mencapai konsentrasi absolut tertentu, peningkatan relatif terhadap nilai dasar dan stabilitasnya lebih besar dalam akuades, yang merupakan media yang relevan untuk sistem okular akuatik. Mengingat kompatibilitas okularnya dan langkah-langkah pemrosesan akuatik yang direncanakan, akuades dipilih sebagai media yang disukai untuk pekerjaan formulasi selanjutnya, dengan menggunakan konsentrasi HP- β -CD dalam rentang linier ($\leq 2,0$ mM) untuk mempertahankan stoikiometri 1:1.

2.4.1.3 Uji Saturasi Solubility

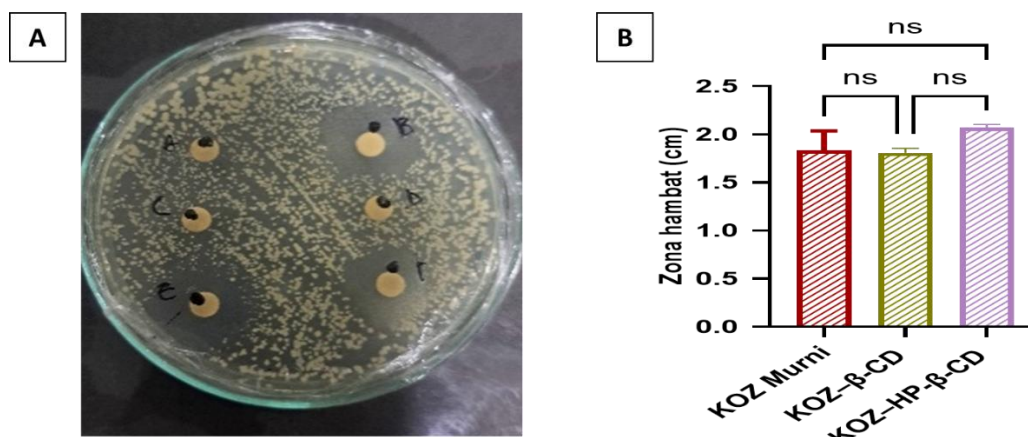
Saturasi solubility dalam CAMB menggambarkan konsentrasi maksimum KOZ yang dapat tercapai pada kondisi setimbang dari kompleks padat, dalam lingkungan yang menyerupai kondisi okular. Nilai ini mencerminkan sejauh mana KOZ dapat berkompleksasi serta kemampuan HP- β -CD menjaga KOZ tetap larut meskipun berada di dalam media yang memiliki latar belakang misel yang relatif ringan. Hasil pengujian ini ditampilkan pada Gambar 2.2B.

Kompleks inklusi F5 dan F6 menunjukkan peningkatan kelarutan yang jauh lebih tinggi dibanding kontrol KOZ murni ($78,40 \pm 1,80$ mg/L), memperkuat bukti bahwa HP- β -CD memiliki kemampuan solubilisasi yang kuat ($p < 0,05$). Kelarutan KOZ meningkat secara bertahap dari F1 ($204,57 \pm 2,38$ mg/L) hingga F4 ($360,85 \pm 3,24$ mg/L), dan mencapai nilai tertinggi pada F5 ($471,44 \pm 3,92$ mg/L), yaitu sekitar enam kali lipat lebih tinggi dari kontrol. Setelah titik optimal ini, kelarutan menurun secara konsisten (F6: $441,85 \pm 3,92$; F7: $386,81 \pm 2,38$; F8: $278,82 \pm 2,70$; F9: $253,37 \pm 3,24$; F10: $183,80 \pm 3,12$ mg/L). Grafik batang secara jelas menunjukkan urutan $F5 > F6 > F4$, dan setelah F6 terjadi tren penurunan, yang menandakan bahwa ada batas optimal jumlah HP- β -CD, dan kelebihan *carrier* justru menurunkan efektivitasnya. Kondisi ini dapat dijelaskan oleh beberapa mekanisme, salah satunya adalah kejenuhan proses inklusi dalam domain linear A₁, di mana penambahan siklodekstrin tidak lagi memberikan peningkatan jumlah KOZ yang terkompleksasi. Akibatnya, jumlah massa CD bertambah tetapi muatan obat efektif menjadi lebih rendah (Valente and Söderman 2014). Selain itu, jumlah CD yang terlalu tinggi dapat menyebabkan pembentukan agregat atau perubahan viskositas di sekitar partikel, yang pada akhirnya menghambat proses transfer massa.

Hasil penelitian ini juga mencerminkan teknik pembuatan padatan kompleks yang digunakan, yaitu metode ko-evaporasi, yang memungkinkan obat dan *carrier* memiliki kontak yang sangat dekat serta menghasilkan dispersi amorf—dua faktor yang sangat menunjang kecepatan pelarutan. Perlu dicatat bahwa jumlah KOZ pada kontrol dipertahankan 10 mg untuk menghindari supersaturasi tidak wajar, dan nilai kelarutannya yang jauh lebih rendah menegaskan keterbatasan kelarutan KOZ dalam air. Secara keseluruhan, formulasi F5 (rasio KOZ:HP- β -CD = 1:2,5) teridentifikasi sebagai formulasi terbaik. Rasio di atas 1:3 tampaknya tidak memberikan keuntungan tambahan dan bahkan dapat menurunkan efisiensi pemuatan obat. Temuan-temuan ini, bila dikombinasikan dengan data fase kelarutan dan konstanta stabilitas, memberikan landasan rasional dalam pemilihan HP- β -CD untuk formulasi okular selanjutnya.

2.4.1.4 Uji Daya Hambat Jamur

Aktivitas antijamur dari KOZ murni dan KI-KOZ dievaluasi menggunakan metode difusi agar terhadap *C. albicans*. Seperti ditunjukkan pada Gambar 2.3B, ketiga kelompok menghasilkan zona hambat yang sebanding, yaitu dengan diameter sekitar 20 mm, tanpa perbedaan yang bermakna secara statistik ($p > 0,05$). Temuan ini menunjukkan bahwa proses kompleksasi KOZ dengan HP- β -CD tidak menurunkan aktivitas antijamur intrinsiknya. Polimer HP- β -CD tidak menunjukkan aktivitas antijamur intrinsik, sebagaimana dibuktikan oleh ukuran zona hambat yang serupa pada semua kelompok. Dengan demikian, hambatan pertumbuhan yang diamati sepenuhnya dikaitkan dengan aktivitas KOZ, menegaskan bahwa pendekatan formulasi yang digunakan tidak mengganggu potensi antijamur obat.



Gambar 2.3. Gambaran uji antijamur dari formula KOZ. Zona hambat dari sampel uji : DMSO (a), KOZ murni (b), HP- β -CD (c), β -CD (d), KOZ-HP- β -CD (e), dan KOZ- β -CD (f) (A); dan diameter zona hambat secara kuantitatif (B). Data disajikan sebagai rata-rata $\pm$ SD ($n = 3$).

2.4.1.5 Uji Fourier Transform-Infra Red (FTIR)

Analisis FT-IR memperlihatkan bahwa spektra kompleks KOZ-HP- β -CD berbeda secara sistematis dari spektra KOZ murni dan campuran fisik. Pita-pita khas ketokonazol pada ~ 1654 , ~ 1220 , dan ~ 814 cm^{-1} yang jelas pada sampel KOZ murni dan pada *physical mixture* mengalami penurunan intensitas dan/atau pergeseran pada sampel kompleks, sedangkan pita broad O-H dan region C-O khas HP- β -CD (~ 3400 cm^{-1} dan 1000 – 1050 cm^{-1}) tetap dominan pada kompleks. Perubahan amplitudo dan posisi ini konsisten dengan enkapsulasi sebagian struktur obat ke dalam rongga siklodekstrin dan terbentuknya interaksi non-kovalen (van-der-Waals dan hydrogen bonding) antara KOZ dan HP- β -CD, sehingga mengubah lingkungan vibrasional gugus-gugus tertentu pada KOZ. Temuan ini sejalan dengan laporan terdahulu yang menggunakan FT-IR sebagai bukti pembentukan kompleks KOZ dengan turunan β -CD serta dengan prinsip umum karakterisasi kompleks siklodekstrin (Ding et al., 2024).

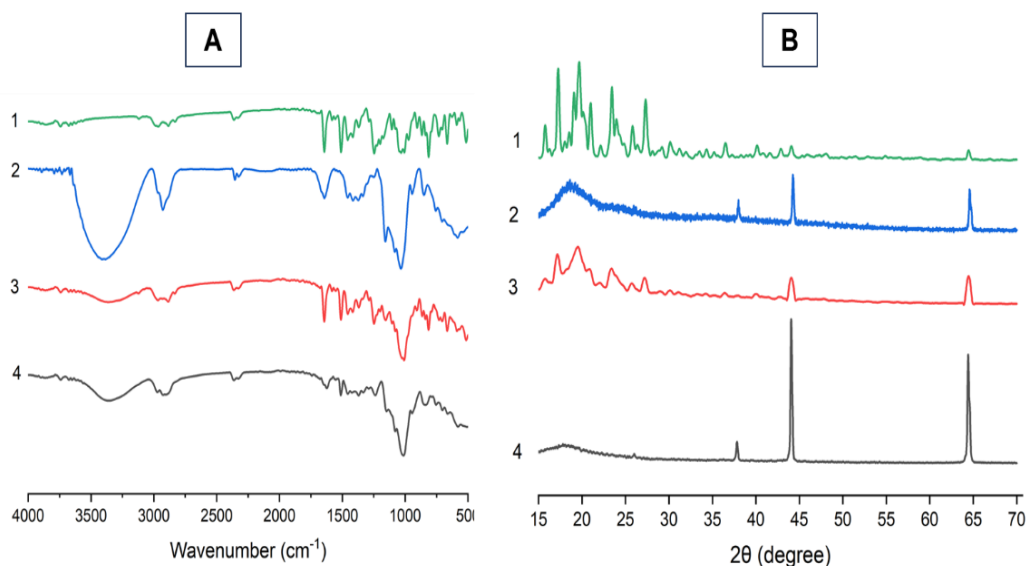
Analisis spektra FTIR dilakukan untuk mengidentifikasi perubahan karakteristik vibrasi gugus fungsi pada ketokonazol (KOZ), polimer hidrokisipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD), *physical mixture* (PM), dan kompleks inklusi KOZ-HP- β -CD. Tujuan utama adalah memastikan terbentuknya interaksi non-kovalen antara KOZ dan HP- β -CD yang menjadi indikator pembentukan kompleks inklusi. Spektra masing-masing sampel ditampilkan pada Gambar 2.4 (A). KOZ menunjukkan pola spektrum khas obat bersifat kristalin dengan beberapa puncak intensitas tinggi. Ciri yang paling menonjol adalah vibrasi cincin aromatik pada wilayah 1600 – 1500 cm^{-1} dan pita C-N stretching imidazol pada kisaran 1220 – 1280 cm^{-1} , yang selaras dengan laporan karakteristik KOZ dalam literatur spektroskopi obat antijamur.¹ Selain itu, pita lebar lemah di sekitar 3200 – 3050 cm^{-1} berkaitan dengan stretching C-H aromatik. Keberadaan puncak-puncak tajam ini mengonfirmasi struktur KOZ yang stabil secara kristal (Ding et al., 2024).

HP- β -CD menampilkan pita lebar khas gugus hidroksil (O-H) pada rentang 3600 – 3000 cm^{-1} akibat banyaknya ikatan hidrogen intramolekul dan intermolekul, konsisten dengan karakter karbohidrat tersubstitusi. Pita C-O-C glikosidik muncul pada 1150 – 1030 cm^{-1} , sesuai laporan struktur siklodekstrin tersubstitusi. Tidak ditemukannya puncak tajam khas KOZ dalam spektrum polimer menjadi acuan penting untuk proses identifikasi kompleksasi (Kim, 2020).

Spektrum kompleks menunjukkan perubahan signifikan dibanding spektrum KOZ murni dan HP- β -CD. Pertama, beberapa puncak KOZ pada 1600–1500 cm^{-1} (vibrasi cincin aromatik) tampak mengalami penurunan intensitas, yang umumnya terjadi ketika cincin aromatik obat terenkapsulasi ke dalam rongga hidrofobik siklodekstrin.⁵ Fenomena ini selaras dengan teori bahwa kompleksasi menyebabkan perubahan lingkungan vibrasi gugus fungsi non-polar obat. Selain itu, pita O–H HP- β -CD pada 3600–3000 cm^{-1} terlihat menjadi lebih melebar dan sedikit bergeser, menandakan adanya ikatan hidrogen baru antara KOZ dan gugus hidroksil siklodekstrin. Pergeseran dan pelebaran pita hidroksil merupakan salah satu indikator paling kuat terjadinya pembentukan kompleks inklusi.⁸ Menurunnya intensitas dan hilangnya beberapa puncak KOZ juga mendukung dugaan bahwa obat tersebut tidak lagi berada dalam keadaan kristalin bebas, melainkan berada dalam lingkungan molekuler baru di dalam rongga CD. Temuan ini konsisten dengan model interaksi host–guest yang telah dilaporkan pada berbagai kompleks inklusi antijamur lainnya (Ding et al., 2024) (Sarabia-Vallejo et al., 2023).

Spektrum fisik campuran (PM) memperlihatkan pola superimposisi dari spektrum KOZ dan HP- β -CD tanpa adanya pergeseran signifikan. Koeksistensi semua puncak khas kedua komponen dengan intensitas relatif tidak berubah menunjukkan tidak terjadi interaksi molekuler kuat maupun kompleksasi spontan selama proses pencampuran fisik. Temuan ini relevan sebagai pembandingan penting untuk memastikan bahwa perubahan pada sampel kompleks benar-benar berasal dari proses pembentukan inklusi, bukan dari pencampuran biasa (Valero et al., 2016).

Secara keseluruhan, hasil FTIR memberikan bukti kuat bahwa KOZ telah berhasil berinteraksi dengan HP- β -CD melalui mekanisme kompleksasi host–guest. Hal ini ditandai oleh menghilangnya puncak-puncak khas KOZ, perubahan intensitas vibrasi aromatik, serta pelebaran pita hidroksil HP- β -CD. Perubahan-perubahan tersebut mengindikasikan bahwa KOZ sebagian besar telah dimasukkan ke dalam rongga HP- β -CD, sehingga struktur kristalnya berkurang dan lingkungan vibrasinya berubah. Hal ini sejalan dengan laporan terbaru bahwa pembentukan kompleks inklusi dapat meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas KOZ.



Gambar 2.4. Karakteristik padatan KOZ dan formula kompleks inklusi, FTIR Spektra (A) dan XRD spektra (B) dari 4 sampel : (1) KOZ murni, (2) Polimer HP- β -CD, (3) Kompleks Inklusi KOZ-HP- β -CD, (4) campuran fisik dari KOZ and HP- β -CD

2.4.1.6 X-Ray Diffractometer (XRD)

Analisis difraksi sinar-X (XRD) berperan penting dalam mengevaluasi sifat kristalinitas ketokonazol (KOZ), hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD), campuran fisiknya, dan kompleks inklusi yang dihasilkan. Metode ini memungkinkan deteksi perubahan struktural pada material, terutama yang diinduksi oleh interaksi *host-guest*, yang dapat menyebabkan transisi obat dari keadaan kristal menjadi bentuk amorf atau semi-amorf setelah proses kompleksasi (Păduraru et al., 2013).

Difraktogram KOZ murni memperlihatkan banyak puncak tajam pada rentang 15–30° 2 θ , yang mencerminkan sifat kristalin dengan struktur kisi yang teratur. Puncak tajam tersebut merupakan karakteristik khas material kristalin. Hal inilah yang menegaskan bahwa KOZ memiliki tingkat kristalinitas yang tinggi dan sifat ini merupakan faktor utama yang berkontribusi terhadap kelarutannya yang rendah dalam lingkungan berair karena memutuskan interaksi pada kisi kristal membutuhkan energi yang relatif besar (Păduraru et al., 2013).

Sebaliknya, HP- β -CD menunjukkan pola difraksi amorf, yang ditandai oleh *broad halo* pada rentang 10–25° 2 θ tanpa puncak difraksi yang tajam (Yang dkk., 2015). Keadaan amorf ini disebabkan oleh disrupsi struktural dimana dengan adanya substitusi hidroksipropil dapat mengganggu pembentukan kisi kristal yang teratur (Braga dkk., 2006). Sifat amorf HP- β -CD dapat memberi keuntungan pada sistem kompleks inklusi dimana matriks amorf dapat meningkatkan dispersi molekul obat dan memfasilitasi pembentukan kompleks *host-guest* yang stabil (Nostro et al., 2003).

Pada campuran fisik, pola difraksi menampilkan superposisi antara puncak kristalin KOZ dan halo amorf HP- β -CD. Puncak-puncak difraksi KOZ muncul pada posisi hampir identik dengan KOZ murni, menunjukkan bahwa pencampuran fisik tidak mengubah struktur kristal KOZ, sehingga KOZ tetap berada pada keadaan kristalin. Kondisi ini penting sebagai kontrol, karena menunjukkan bahwa perubahan pola difraksi pada kompleks inklusi bukan merupakan akibat pencampuran atau pengolahan fisik, melainkan berasal dari interaksi molekuler yang lebih dalam antara KOZ dan HP- β -CD (Solomon et al., 2025).

Setelah pembentukan kompleks inklusi, terdapat perubahan yang signifikan pada difraktogram. Sebagian besar puncak tajam yang berkaitan dengan KOZ berkurang secara signifikan atau bahkan tidak ada sama sekali, sementara pola amorf yang lebih mendominasi (Păduraru et al., 2013). Keadaan ini menandakan bahwa terjadi gangguan terhadap struktur kristalin KOZ dan merupakan indikator terjadinya amorfisasi atau penggabungan molekul KOZ ke dalam rongga HP- β -CD (Dong et al., 2017). Hilangnya puncak kristalin pada kompleks inklusi merupakan bukti umum pembentukan kompleks, karena proses inklusi menyebabkan molekul obat tidak lagi mempertahankan struktur kristalin awalnya akibat masuknya molekul guest ke dalam rongga siklodekstrin yang memiliki lingkungan hidrofobik, sehingga obat terdispersi dalam keadaan tidak teratur. Hal ini juga sesuai dengan beberapa penelitian yang melaporkan bahwa hilangnya puncak kristal KOZ pada XRD sebagai bukti terbentuknya kompleks (Liu et al., 2022) (Khan et al., 2023).

Transformasi KOZ dari bentuk kristalin menjadi amorf melalui pembentukan kompleks inklusi memberikan keuntungan pada bidang farmasetik. Fasa amorf memiliki energi bebas yang lebih tinggi dan tidak memiliki keteraturan kisi, sehingga lebih mudah

larut dibandingkan bentuk kristalin. Dengan demikian, hilangnya puncak-puncak KOZ pada kompleks inklusi diperkirakan berkorelasi dengan peningkatan kelarutan dan laju disolusi, yang merupakan tujuan utama pengembangan sistem kompleks inklusi untuk obat BCS kelas II seperti ketokonazol (Amiri & Rahimi, 2014).

2.4.1.7 Uji Pelepasan Obat secara *In Vitro*

Profil pelepasan obat *in vitro* dari KOZ murni, campuran fisik KOZ dan HP- β -CD, serta KI-KOZ dievaluasi selama 24 jam (Gambar 2.2C). KOZ murni menunjukkan pelepasan kumulatif yang sangat terbatas, yakni $20,13 \pm 0,85\%$ setelah 24 jam. Profil pelepasan yang rendah ini disebabkan oleh kelarutan KOZ dalam air yang sangat buruk, sesuai karakteristik obat golongan BCS kelas II (Kakkar et al. 2015). Campuran fisik KOZ dan HP- β -CD menunjukkan peningkatan pelepasan menjadi $43,34 \pm 0,71\%$ setelah 24 jam, atau sekitar dua kali lebih tinggi dibandingkan KOZ murni. Peningkatan ini terutama dihasilkan oleh interaksi parsial antara KOZ dan HP- β -CD dalam campuran tersebut, di mana sebagian molekul KOZ dapat membentuk kompleks inklusi lemah atau berinteraksi dengan permukaan HP- β -CD yang bersifat hidrofilik. Namun, karena mayoritas KOZ tidak mengalami kompleksasi penuh, peningkatan kelarutan dan pelepasan tetap terbatas.

Sebaliknya, KI-KOZ menunjukkan pelepasan obat tertinggi, mencapai $95,83 \pm 1,67\%$ dalam 24 jam, lebih dari dua kali lipat dibandingkan campuran fisik dan hampir lima kali lipat lebih tinggi dibandingkan KOZ murni. Peningkatan pelepasan yang signifikan ini terjadi karena keberhasilan enkapsulasi molekuler KOZ di dalam kavitas hidrofobik HP- β -CD, yang mengganggu sifat kristalin obat, meningkatkan kemampuan membasahi (*wettability*), dan meningkatkan kelarutan dalam medium berair. Profil pelepasan yang mendekati lengkap ini mengindikasikan bahwa KOZ berada dalam bentuk amorf yang lebih mudah larut setelah dikomplekskan.

Analisis kinetika pelepasan menggunakan perangkat lunak DDSolver menunjukkan bahwa profil pelepasan KI-KOZ mengikuti model kinetika orde pertama dengan koefisien korelasi yang sangat tinggi ($R^2 = 0.994$). Model orde pertama mengimplikasikan bahwa laju pelepasan bergantung pada gradien konsentrasi antara formulasi dan medium pelepasan. Karakteristik pelepasan semacam ini menguntungkan untuk penghantaran obat okular karena memungkinkan terjadinya *initial burst release* diikuti fase pelepasan berkelanjutan, sehingga berpotensi memperpanjang ketersediaan obat di lokasi target.

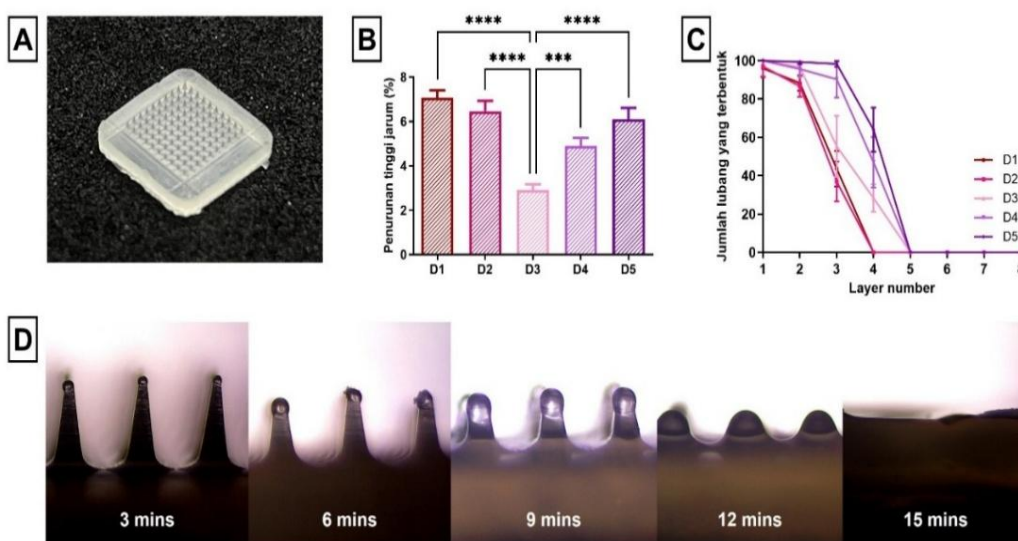
Secara keseluruhan, temuan ini menunjukkan bahwa kompleksasi KOZ dengan HP- β -CD secara substansial meningkatkan kelarutan dan laju disolusi KOZ, sehingga mampu mengatasi keterbatasan sifatnya yang sangat kurang larut dalam air. Strategi ini memberikan pendekatan yang menjanjikan untuk meningkatkan bioavailabilitas okular KOZ.

2.4.2 Formulasi DSMN bermuatan kompleks inklusi KOZ (DSMN-KOZ)

Lima formula DSMN-KOZ (D1–D5) berhasil dibuat menggunakan metode *micromolding*, kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Penggunaan setiap polimer dalam formulasi dilakukan secara terarah, karena AH (1–5% b/b) berperan dalam memberikan viskoelastisitas, biokompatibilitas okular, dan hidrasi cepat (Casey-Power et

al. 2022). AH banyak digunakan dalam produk oftalmik dan mikroneedle berbasis AH karena sifatnya yang biokompatibel, mampu menyerap air, dan memiliki karakteristik penyisipan yang aman. Pada konsentrasi tinggi, AH meningkatkan kekuatan kohesif dan integritas ujung jarum, namun tetap larut dengan cepat ketika kontak dengan cairan air mata (Kang et al. 2022). PVP K30 (10% b/b) berfungsi sebagai pembentuk gelas dan pembentuk film yang memberikan kekakuan pada matriks kering sehingga menghasilkan ujung jarum yang lebih tajam, memungkinkan proses *demolding* yang lebih stabil, serta meningkatkan pelepasan setelah jarum masuk ke jaringan. Berbagai grade PVP telah digunakan secara luas sebagai matriks DSMN dengan ketahanan mekanik yang telah terbukti (Thakur et al. 2016). Sifat-sifat ini, yang banyak dilaporkan pada sistem microneedle berbasis AH/PVP, sangat sesuai untuk penggunaan pada mata.

Morfologi DSMN yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 2.5A.



Gambar 2.5. Penampakan makroskopik dari DSMN (A); Uji kekuatan mekanik (B); Kemampuan penetrasi (C); dan Profil pelarutan ujung jarum pada interval waktu berbeda (D). Data disajikan sebagai rata-rata $\pm$ SD ($n = 3$).

2.4.3 Karakterisasi *Dissolving Microneedle* dengan Kompleks Inklusi Ketokonazol (DSMN-KOZ)

2.4.3.1 Uji Kekuatan Mekanik dan Kemampuan Penetrasi

Karakteristik penetrasi DSMN-KOZ dievaluasi untuk memastikan kemampuannya menembus model uji kulit simulasi. Gambar 2.5B menunjukkan persentase penurunan tinggi DSMN setelah diberikan gaya sebesar 32 N. Semua formulasi menunjukkan penurunan tinggi kurang dari 10%, menandakan kekuatan mekanik yang memadai untuk penetrasi kulit. Di antara lima formulasi yang diuji, D3 menunjukkan penurunan tinggi jarum paling rendah ($2,92 \pm 0,26\%$), diikuti oleh D4 ($4,90 \pm 0,36\%$), sedangkan D1, D2, dan D5 menunjukkan penurunan yang lebih tinggi (masing-masing $7,07 \pm 0,34\%$, $6,47 \pm 0,47\%$, dan $6,12 \pm 0,50\%$) ($p < 0,05$). Temuan ini menunjukkan bahwa konsentrasi AH yang lebih tinggi pada D3 memberikan integritas struktural yang lebih baik selama proses penetrasi. Secara mekanistik, hal ini sesuai

dengan prediksi fisika-polimer untuk matriks AH/PVP, di mana AH pada tingkat moderat dapat memperkuat jaringan PVP pembentuk gelas tanpa menyebabkan plastisasi berlebihan atau pelunakan higroskopis; sementara fraksi AH yang lebih tinggi dapat meningkatkan penyerapan air dan memicu pemendekan viskoelastik saat diberi beban. Studi terbaru pada AH-DMN juga menunjukkan bahwa performa mekanik meningkat hingga titik optimum dan kemudian menurun kembali ketika kadar AH melampaui ambang tertentu, bergantung pada grade atau berat molekul serta kadar padatan AH (Lu et al. 2024).

Kemampuan susunan DSMN untuk menembus lapisan Parafilm® M juga dievaluasi (Gambar 2.5C). Semua formulasi mampu menembus setidaknya tiga lapisan, yang setara dengan kedalaman minimal 378 μm . Meskipun D5 dan D4 cenderung lebih sering mencapai lapisan keempat, perbedaan antarformulasi terkait lapisan maksimum yang ditembus maupun jumlah lubang per lapisan tidak menunjukkan nilai signifikansi statistik ($p > 0,05$). Dengan tidak adanya perbedaan signifikan tersebut, kapasitas penetrasi D1–D5 dianggap sebanding dalam lingkup kekuatan uji penelitian ini. Secara praktis, setiap formulasi memenuhi ambang batas penetrasi yang telah ditentukan ($\geq$ tiga lapisan). Studi DSMN okular terbaru menunjukkan bahwa Parafilm® M memberikan hasil yang sebanding dengan *optical coherence tomography* (OCT) pada mata babi, sehingga penetrasi minimal tiga lapisan dianggap mencerminkan efektivitas penetrasi microneedle (Faizi et al. 2024). Hasil juga menunjukkan bahwa kadar SH moderat (3% b/b) pada D3 mampu mempertahankan integritas ujung jarum tanpa menyebabkan plastisasi berlebih, sehingga mengurangi risiko pembengkokan atau patahnya ujung jarum serta mempermudah proses pelarutan setelah penetrasi. Oleh karena itu, formulasi D3 dipilih sebagai formulasi DSMN untuk evaluasi lebih lanjut. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menegaskan bahwa kombinasi AH–PVP yang dipilih mampu memuat KI-KOZ secara stabil serta menghasilkan DSMN dengan kekuatan yang memadai dan kemampuan penetrasi yang efektif untuk evaluasi penghantaran obat secara okular.

2.4.3.2 Uji Waktu Melarut

Sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2.5D, ujung DSMN yang diformulasikan mengalami proses disolusi bertahap setelah dimasukkan ke dalam jaringan kornea dan mencapai disolusi sempurna dalam waktu 15 menit. Temuan ini mengonfirmasi bahwa ujung DSMN mampu larut ketika kontak dengan jaringan kornea, sehingga memungkinkan pelepasan KOZ secara efektif selama proses disolusi berlangsung. Selain itu, *baseplate* mikroneedle dapat dilepaskan dengan cepat setelah proses penyisipan, sehingga meminimalkan ketidaknyamanan maupun potensi iritasi pada permukaan okular.

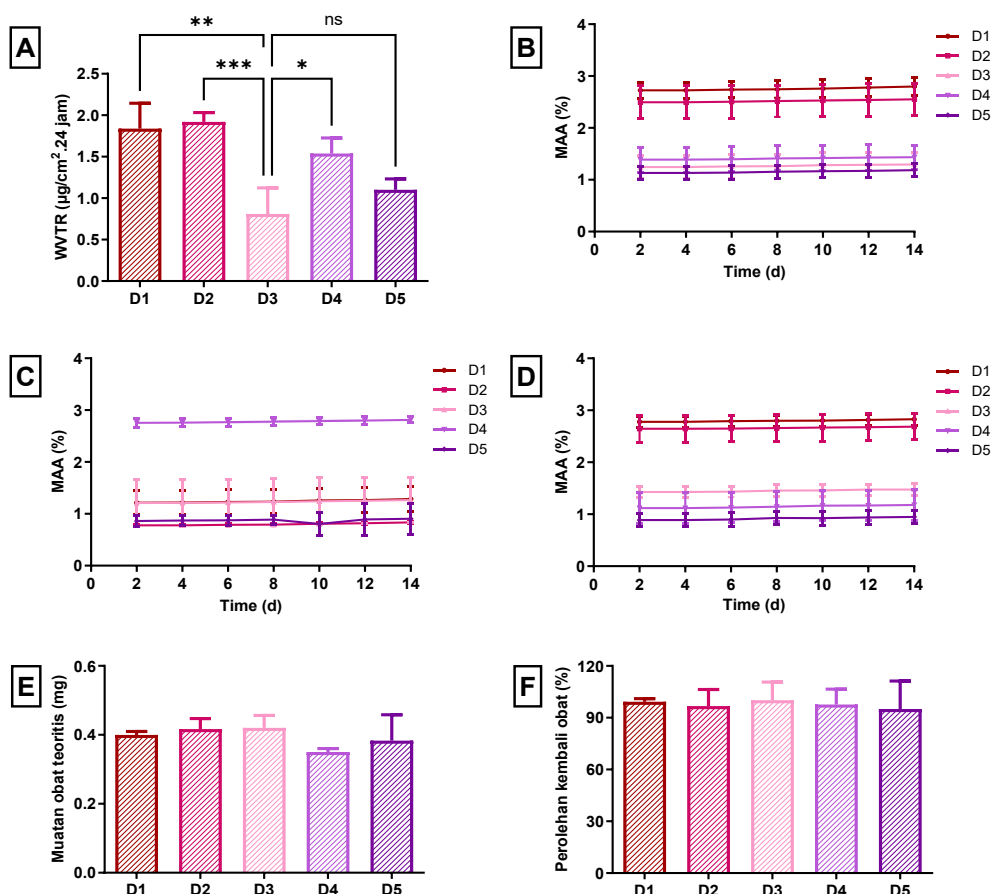
2.4.3.3 Uji Water Vapor Transmission Rate (WVTR)

Uji WVTR dilakukan untuk mengevaluasi stabilitas DSMN selama penyimpanan, dengan memastikan bahwa air tidak berpenetrasi melalui matriks mikroneedle yang berpotensi menurunkan stabilitas obat yang dimuat di dalamnya (Elim et al. 2023). Sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2.6A, DSMN D3 menunjukkan nilai WVTR terendah di antara seluruh formulasi yang diuji. Meskipun perbedaan antara D3 dan D5 tidak signifikan secara statistik ($p > 0,05$), nilai rata-rata WVTR D3 lebih rendah

dibandingkan D5 dan secara signifikan lebih rendah ($p < 0,05$) dibandingkan tiga formulasi lainnya. Temuan tersebut menunjukkan bahwa formulasi D3 memberikan stabilitas yang lebih baik terhadap transmisi uap air.

2.4.3.4 Moisture Absorption Ability (MAA)

Uji MAA dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan matriks mikroneedle dalam menyerap kelembapan lingkungan, karena penyerapan berlebih dapat memengaruhi stabilitas formulasi selama penyimpanan (Aziz et al. 2023). Sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2.6B–D, evaluasi dilakukan pada tiga kondisi RH yang berbeda. Pada seluruh kondisi, setiap formulasi menunjukkan nilai MAA kurang dari 10%. Hasil ini mengindikasikan bahwa semua formulasi memiliki kemampuan penyerapan kelembapan yang rendah, sehingga menunjukkan ketahanan yang baik terhadap kelembapan lingkungan serta stabilitas yang memadai selama penyimpanan.



Gambar 2.6. Laju transmisi uap air (WVTR) (A); kemampuan penyerapan kelembapan (MAA) pada RH 33% (B), RH 69% (C), dan RH 97% untuk formulasi DSMN (D); muatan obat dalam DSMN (E); dan perolehan kembali kandungan obat (F). Data disajikan sebagai rata-rata $\pm$ SD ($n = 3$).

2.4.3.5 Analisis Kerapatan Jarum dan *Drug Content*

Dosis obat yang terlepas dari DSMN ditentukan oleh massa matriks jarum kering yang larut secara *in situ* serta fraksi obat yang terkandung di dalam matriks tersebut. Pengukuran densitas matriks dari film hasil pencetakan dan volume jarum berdasarkan geometri cetakan memberikan estimasi konservatif terhadap massa jarum per *array*. Penggabungan metode ini dengan uji terhadap *array* yang diekstraksi memungkinkan verifikasi terhadap *process yield*, termasuk kehilangan selama proses pencetakan atau pengeringan, serta akurasi dosis (dua atribut mutu yang sangat penting untuk DSMN ocular). Pendekatan ini sejalan dengan praktik umum dalam pengembangan microneedle, di mana estimasi massa geometrik dan uji yang tervalidasi digunakan untuk memastikan kemampuan pemuatan obat, keseragaman kandungan, dan konsistensi antar-*array* (Moawad, Pouliot, and Brambilla 2025).

Dalam studi ini, seluruh formulasi microneedle menunjukkan *drug recovery* yang tinggi, yaitu $99,21 \pm 1,79\%$, $96,75 \pm 9,62\%$, $100,19 \pm 10,43\%$, $97,66 \pm 8,89\%$, dan $95,05 \pm 16,24\%$ masing-masing untuk D1, D2, D3, D4, dan D5. Secara statistik, seluruh formulasi (Gambar 2.6E–F) tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Persentase *drug recovery* yang tinggi ini mengindikasikan bahwa kehilangan obat selama proses pencetakan, pengeringan, maupun proses pelepasan dari cetakan sangat minimal. Hal ini menegaskan bahwa obat terdistribusi secara merata dalam matriks polimer dan menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memiliki presisi serta akurasi yang baik dalam mengestimasi jumlah obat dalam formulasi. Penggunaan PVP K30 sebagai pembentuk film hidrofilik diketahui dapat mengurangi kristalisasi selama proses pengupapan pelarut, sehingga membantu mempertahankan homogenitas obat dan meningkatkan *assay recovery* (Rusdin et al. 2024). Hasil ini konsisten dengan hasil penelitian ini maupun studi sebelumnya yang menggunakan pendekatan serupa.

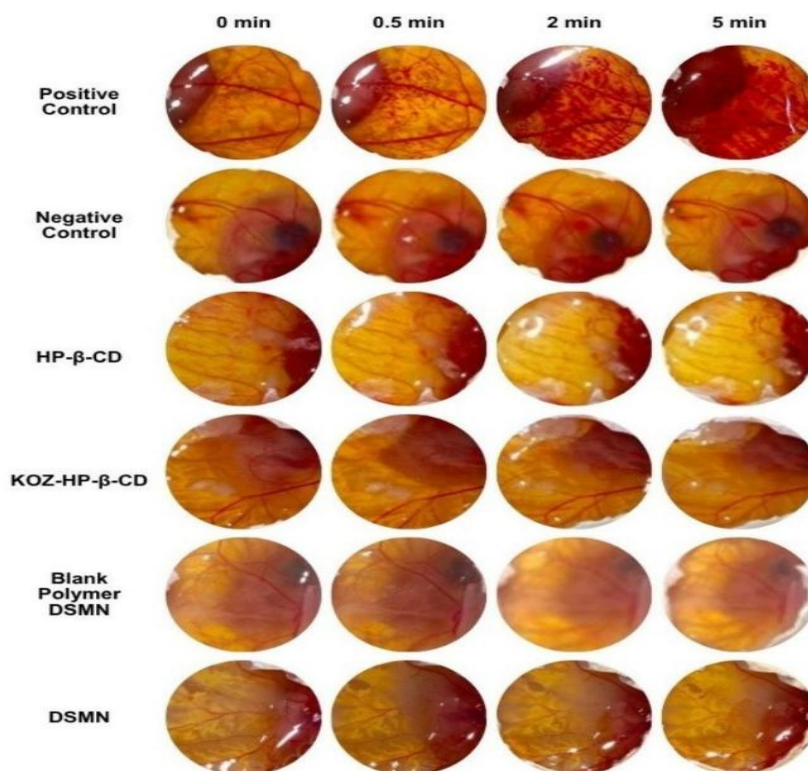
International Conference on Harmonization (ICH) merekomendasikan rentang *drug recovery* sebesar 95–105% untuk memastikan bahwa metode analisis yang digunakan mampu mengukur kandungan obat dalam formulasi secara akurat (Walfish 2006). Nilai *drug recovery* yang sebanding atau hampir kuantitatif juga sering dilaporkan pada microneedle jenis dissolving maupun hydrogel yang dianalisis menggunakan metode uji yang tervalidasi. Sebagai contoh, triamcinolone yang dimuat dalam tambalan microneedle menunjukkan *drug recovery* rata-rata 95–101%, dan DSMN berbasis nanosuspensi dilaporkan memiliki keseragaman kandungan yang tinggi ketika seluruh *array* dilarutkan dan diuji (Vora et al. 2018) (Zarei Chamgordani et al. 2024). Dengan demikian, persentase *drug recovery* dari seluruh formula berada dalam rentang yang dapat diterima, menunjukkan bahwa prosedur yang digunakan telah memenuhi standar yang disyaratkan.

2.4.3.6 Uji Het-CAM secara *In Vitro*

Uji HET-CAM digunakan sebagai metode yang cepat dan secara etis dapat diterima untuk mengevaluasi tolerabilitas okular dari pendekatan formulasi sebelum dilakukan studi *ex vivo* dan *in vivo*. Metode ini secara luas digunakan untuk mengidentifikasi iritan berat serta menyeleksi awal formulasi oftalmik. Hasilnya ditunjukkan pada Gambar 2.7, di mana kontrol positif (NaOH 0,1 M) menghasilkan perdarahan segera disertai lisis/koagulasi pembuluh dalam satu menit pertama, yang menegaskan sensitivitas uji. Sebaliknya, kontrol negatif (NaCl 0,9%) tidak menimbulkan

perubahan vaskular yang teramati sepanjang periode observasi 5 menit, sehingga memvalidasi kondisi dasar percobaan.

Di antara sampel yang diuji, HP- β -CD dan KI- KOZ menunjukkan perubahan yang sangat minimal, terbatas pada hiperemia ringan dan sementara tanpa perdarahan atau lisis. Formulasi yang hanya mengandung matriks polimer (DSMN blanko) tidak menunjukkan respons vaskular apa pun (eritema atau perdarahan titik). Menariknya, DSMN memperlihatkan iritasi yang sangat minimal hingga tidak terdeteksi sepanjang periode observasi, dengan bentuk vaskular yang tetap utuh dan tanpa tanda perdarahan, lisis, atau koagulasi, serta tidak dapat dibedakan dari kontrol negatif pada beberapa replikasi. Temuan HET-CAM yang serupa telah dilaporkan sebelumnya untuk sistem mikroneedle okular yang difabrikasi dari polimer hidrofilik (seperti PVP dan AH), yang menegaskan tolerabilitasnya yang baik untuk aplikasi periokular maupun korneal (Yu Wu et al. 2023).



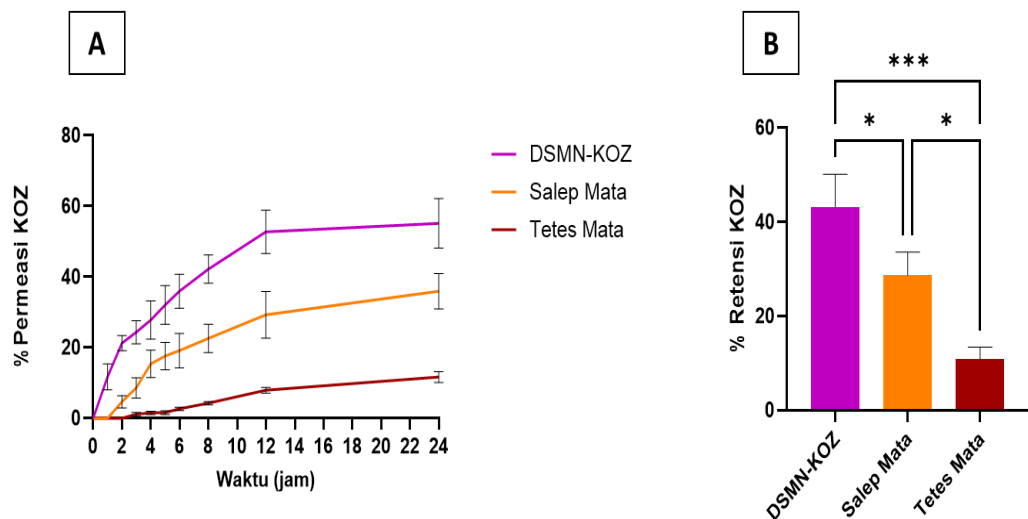
Gambar 2.7. Uji hasil tes HET-CAM pada interval waktu yang berbeda untuk kontrol positif, kontrol negatif dan sampel uji

2.4.3.7 Uji Permeasi *Ex-Vivo*

Pengujian permeasi *ex vivo* dilakukan untuk mengukur transfer massa trans-kornea ke dalam fase reseptor menggunakan metode difusi Franz yang sama. Permeasi KOZ dari DSMN-KOZ dibandingkan dengan salep mata dan tetes mata berisi KI-KOZ. Gambar 2.8A menunjukkan persentase obat yang dilepaskan dari ketiga formulasi

tersebut selama 24 jam. Setelah penyisipan DSMN-KOZ, KOZ dengan cepat muncul pada fase reseptor dan terus meningkat hingga 24 jam. Jumlah kumulatif obat yang terpermeasi dari DSMN mencapai $0,232 \pm 0,030$ mg pada 24 jam. Jika dinormalisasi terhadap dosis muatan sebesar 0,42 mg, maka sekitar 50% kandungan KOZ pada array berhasil terpermeasi dalam 24 jam. Sebaliknya, salep mata dan tetes mata menunjukkan kenaikan permeasi yang jauh lebih lambat, dengan jumlah terpermeasi masing-masing $35,962 \pm 4,98\%$ dan $11,688 \pm 1,56\%$ pada 24 jam. Selain itu, nilai permeasi 24 jam dari kedua formulasi tersebut berbeda signifikan dibandingkan DSMN-KOZ ($p < 0,05$). Hasil ini menegaskan keuntungan formulasi KOZ dalam bentuk kompleks inklusi HP- β -CD yang dimuat dalam sistem microneedle.

Berdasarkan dosis muatan, terlihat bahwa DSMN-KOZ hampir mencapai 50% dari dosis muatan sekitar 8 jam setelah aplikasi. Sebaliknya, salep mata dan tetes mata tidak mencapai 50% bahkan setelah 24 jam. Hal ini menegaskan keunggulan praktis dari segi kecepatan paparan untuk formulasi DSMN kompleks inklusi. Hasil permeasi ini selaras dengan data retensi yang diperoleh, di mana pemuatan intrastromal yang lebih cepat melalui *bypass* epitel dengan microneedle serta deposisi intrastromal, ditambah peningkatan kelarutan KOZ oleh HP- β -CD pada antarmuka jaringan, mempertahankan gradien konsentrasi donor-jaringan yang lebih kuat, sehingga meningkatkan perpindahan obat ke fase reseptor (Wang et al. 2023). Sementara itu, permeabilitas kornea yang rendah pada sistem salep mata dan tetes mata kemungkinan terjadi karena sistem tersebut sepenuhnya bergantung pada difusi trans-epitel melalui epitel utuh, di mana *tight junctions* dan pembersihan permukaan menjadi hambatan utama (Mannermaa, Vellonen & Urtti, 2006; Santana et al., 2023). Secara keseluruhan, hasil permeasi *ex vivo* ini menegaskan bahwa kombinasi DSMN dengan HP- β -CD menghasilkan penghantaran transkornea yang lebih cepat dan lebih tinggi dibandingkan pendekatan lainnya.



Gambar 2.8. Profil permeasi *ex vivo* (A) dan profil retensi *ex vivo* (B). Data disajikan sebagai rata-rata $\pm$ SD ($n = 3$).

2.4.3.8 Uji Retensi Okular secara Ex-Vivo

Uji retensi menunjukkan bahwa sediaan DSMN-KOZ mampu mempertahankan obat di jaringan okular secara signifikan lebih lama dibandingkan dengan formulasi konvensional. Retensi yang tinggi ini terutama disebabkan oleh deposisi obat secara langsung ke dalam jaringan, sehingga obat relatif terlindungi dari proses eliminasi permukaan seperti drainase lakrimal, *blinking*, dan pengenceran oleh lapisan air mata. Pada sistem konvensional, obat yang berada di permukaan mata cenderung cepat terbuang sehingga waktu kontak dengan jaringan sangat terbatas, menyebabkan rendahnya fraksi obat yang dapat bertahan dan berkontribusi terhadap efek terapeutik jangka panjang. Berdasarkan hasil pada Gambar 2.8B, DSMN-KOZ D3 menunjukkan kinerja yang lebih unggul dibandingkan salep maupun tetes mata, baik dalam hal konsentrasi obat di jaringan ($p < 0,05$).

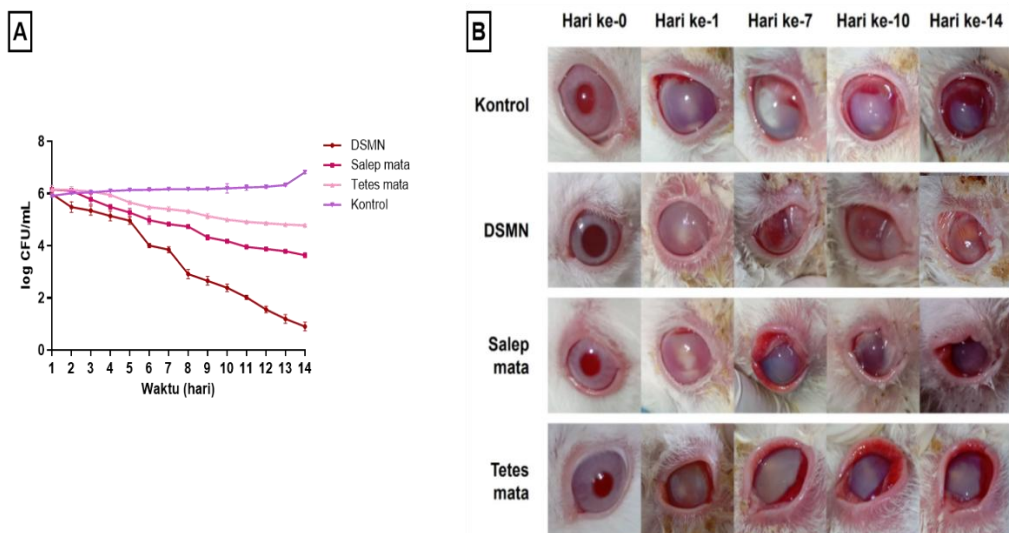
Setelah aplikasi DSMN-KOZ D3 setelah 24 jam, KOZ yang teretensi dalam jaringan sebesar $43,13 \pm 0,029\%$ sedangkan pada salep mata sebesar $28,71 \pm 0,02\%$ dan pada tetes mata sebesar $10,82 \pm 0,01\%$. Secara statistik, hasil memperlihatkan perbedaan yang signifikan antara DSMN-KOZ terhadap salep mata dan tetes mata ($p < 0,05$).

Perbedaan tersebut konsisten secara mekanistik dengan konsep bahwa DSMN menembus secara sementara lapisan epitel luar yang bersifat lipofilik—yang diketahui sebagai hambatan utama masuknya obat ke kornea—dan menempatkan obat langsung ke dalam stroma yang bersifat hidrofilik, sehingga mempercepat onset. Teknik *direct corneal microneedling* dan pemberian obat intrastromal sebelumnya telah terbukti mampu melokalisasi obat secara efektif di stroma pada model praklinis (Y. C. Kim et al. 2014). Selain itu, HP- β -CD meningkatkan kelarutan air obat hidrofobik, sehingga mengurangi kristalisasi atau presipitasi di permukaan jaringan dan memperbaiki absorpsi topikal okular. Hal ini mempertahankan gradien konsentrasi donor-jaringan yang kuat, yang mendukung baik kenaikan awal maupun paparan obat berkepanjangan. Sebaliknya, salep mata memang memperpanjang waktu tinggal pra-kornea, tetapi tetap bergantung pada difusi trans-epitel, sementara tetes mata mengalami pembersihan cepat melalui pergantian air mata dan drainase nasolakrimal, sehingga menghasilkan paparan jaringan terendah (Begum et al. 2020). Formulasi DSMN-KOZ D3 membentuk depot intrastromal yang kuat dengan onset cepat dan waktu tinggal ≥ 24 jam, sehingga mampu mengatasi permasalahan utama penghantaran obat antijamur pada kornea dan memberikan dasar kuat untuk melanjutkan D3 ke pengujian efektivitas komparatif berikutnya.

2.4.3.9 Aktivitas antijamur *in-vivo* dari *Dissovable Microneedle Ocular Patch* Kompleks Inklusi Ketokonazol dalam model kelinci

Pengujian aktivitas antijamur secara *in vivo* dilakukan pada model kelinci dengan keratitis jamur. Tujuannya adalah untuk mengonfirmasi potensi terapeutik DSMN di bawah kondisi fisiologis selama periode pengobatan 14 hari. Seperti ditunjukkan pada Gambar 2.9A, kelompok kontrol tanpa perlakuan mengalami progresi infeksi, dengan nilai log CFU/mL meningkat dari $5,92 \pm 0,03$ pada hari pertama menjadi $6,82 \pm 0,06$ pada hari ke-14 (~15% peningkatan), menegaskan bahwa keratitis jamur berlanjut ketika tidak diberikan terapi.

Sebaliknya, kelompok tetes mata menunjukkan efek antijamur yang moderat, dengan penurunan log CFU/mL dari $6,16 \pm 0,15$ menjadi $4,78 \pm 0,04$ (~22% penurunan). Kelompok salep mata menunjukkan efikasi yang lebih kuat, dengan nilai menurun dari $6,16 \pm 0,09$ menjadi $3,64 \pm 0,09$ (~40% penurunan), atau sekitar dua kali lipat lebih efektif dibanding tetes mata. Kelompok DSMN menghasilkan efek paling signifikan, dengan penurunan log CFU/mL dari $5,98 \pm 0,11$ pada hari pertama menjadi $0,90 \pm 0,17$ pada hari ke-14 (~85% penurunan). Penurunan ini lebih dari dua kali lipat dibandingkan salep dan hampir empat kali lipat lebih tinggi dibandingkan tetes mata.



Gambar 2.9. Efikasi antijamur formulasi okular KOZ terhadap *C. albicans*. Studi infeksi okular *in vivo* dengan hasil kultur swab selama 14 hari (A); dan foto representatif mata kelinci selama percobaan (B). Data disajikan sebagai rata-rata $\pm$ SD ($n = 3$).

Gambar representatif (Gambar 2.9B) semakin mendukung temuan tersebut. Pada hari ke-14, mata yang diobati dengan DSMN menunjukkan pemulihan hampir sempurna, selaras dengan rendahnya infeksi jamur yang tersisa. Sebaliknya, infeksi masih terlihat pada kelompok kontrol dan tetes mata, sementara kelompok salep mata hanya menunjukkan sedikit perbaikan. Secara keseluruhan, hasil ini menegaskan bahwa DSMN memberikan efikasi terapeutik yang jauh lebih unggul dibandingkan formulasi topikal konvensional, sesuai dengan bukti *ex vivo*, dan menyoroti potensinya sebagai terapi baru yang menjanjikan untuk keratitis jamur.

2.5 Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemuatan kompleks inklusi ketokonazol (KOZ) dengan hidropsipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD) ke dalam patch microneedle yang dapat larut (DSMN) mampu mengatasi keterbatasan kelarutan akuosa dan penetrasi okular KOZ, serta menghasilkan peningkatan efektivitas antijamur yang superior. DSMN teroptimasi menunjukkan kekuatan mekanik yang baik, kemampuan penyisipan yang konsisten, serta pelarutan ujung jarum yang cepat pada jaringan kornea. Nilai WVTR dan MAA menunjukkan ketahanan yang lebih baik terhadap kelembapan

lingkungan serta stabilitas penyimpanan yang lebih tinggi dibandingkan kandidat lainnya. Analisis wujud padat mendukung terjadinya amorfisasi tanpa adanya inkompatibilitas yang merugikan antara polimer dan obat. Hal ini sejalan juga dengan uji retensi *ex vivo* dan permeasi yang menunjukkan akumulasi intrastromal KOZ yang cepat dan paparan obat yang bertahan lama dari DSMN-KOZ, konsisten dengan efek depot lokal yang tidak dapat dicapai oleh sediaan tetes mata maupun salep. Selain itu, potensi antijamur KOZ tetap terjaga, dan model infeksi *in vivo* memperlihatkan bahwa DSMN-KOZ menghasilkan penurunan jumlah jamur yang lebih besar dan lebih bertahan lama dibandingkan formulasi topikal konvensional.

Secara keseluruhan, hasil ini menempatkan DSMN-KOZ sebagai sistem penghantaran obat okular yang minimal invasif dan praktis, yang mengombinasikan onset cepat dengan waktu residensi jaringan ≥ 24 jam serta efektivitas antijamur yang memadai, sehingga mendukung kelayakannya untuk dikembangkan lebih lanjut dalam terapi keratitis jamur.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didukung oleh Kementerian Pendidikan Tinggi, Ilmu Pengetahuan, dan Teknologi Indonesia melalui pemberian hibah “Penelitian Disertasi Doktor” dengan nomor kontrak 069/C3/DT.05.00/PL/2025.

Pernyataan Konflik Kepentingan

Para penulis menyatakan bahwa mereka tidak memiliki kepentingan finansial maupun hubungan pribadi yang dapat memengaruhi hasil penelitian yang dilaporkan dalam studi ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, Muhammad N, Saeed A Khan, Sajid K Sadozai, Islam A Khalil, Asem Anter, Marwa E Fouly, Ahmed H Osman, and Mohsin Kazi. 2022. “Nanoparticles Loaded Thermoresponsive In Situ Gel for Ocular Antibiotic Delivery against Bacterial Keratitis.” *Polymers* 14(6): 1135. doi:10.3390/polym14061135.
- Abdelbary, Ghada A, Maha M Amin, and Mohamed Y Zakaria. 2017. “Ocular Ketoconazole-Loaded Proniosomal Gels: Formulation, Ex Vivo Corneal Permeation and in Vivo Studies.” *Drug delivery* 24(1): 309–19. doi:10.1080/10717544.2016.1247928.
- Abdellatif, Menna M, Islam A Khalil, Yara E Elakkad, Hesham A Eliwa, Tamer M Samir, and Asmaa K Al-Mokaddem. 2020. “Formulation and Characterization of Sertaconazole Nitrate Mucoadhesive Liposomes for Vaginal Candidiasis.” *International journal of nanomedicine* 15: 4079–90. doi:10.2147/IJN.S250960.
- Ahmed, Bakr, Srishty Jaiswal, Srishti Naryal, Rohan M Shah, Raid G Alany, and Indu Pal Kaur. 2024. “In Situ Gelling Systems for Ocular Drug Delivery.” *Journal of Controlled Release* 371: 67–84. doi:https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2024.05.031.
- Ahmed, Sadek, Maha M Amin, Sarah Mohamed El-Korany, and Sinar Sayed. 2022. “Pronounced Capping Effect of Olaminosomes as Nanostructured Platforms in Ocular Candidiasis Management.” *Drug delivery* 29(1): 2945–58. doi:10.1080/10717544.2022.2120926.
- Ahmed, Sadek, Maha M Amin, and Sinar Sayed. 2023. “Ocular Drug Delivery: A Comprehensive Review.” *AAPS PharmSciTech* 24(2): 66. doi:10.1208/s12249-

023-02516-9.

- Aisyah, Andi Nur, Andi Dian Permana, Elly Wahyudin, Diany Elim, Ikbal Ikbal, Nana Novriana, Payung Datu, et al. 2024. "Formulation and Evaluation of Dissolving Microneedle for Transdermal Delivery of Piperine: The Effect of Polymers Concentration." *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 0(0): 1–20. doi:10.1080/09205063.2024.2320948.
- Akgun, Zeynep, and Ozlem Barut Selver. 2023. "Epidemiology and Etiology of Chemical Ocular Injury: A Brief Review." *World journal of clinical cases* 11(6): 1245–51. doi:10.12998/wjcc.v11.i6.1245.
- Akhter, Md Habban, Irfan Ahmad, Mohammad Y Alshahrani, Alhanouf I Al-Harbi, Habibullah Khalilullah, Obaid Afzal, Abdulmalik S A Altamimi, et al. 2022. "Drug Delivery Challenges and Current Progress in Nanocarrier-Based Ocular Therapeutic System." *Gels (Basel, Switzerland)* 8(2). doi:10.3390/gels8020082.
- Anjani, Qonita Kurnia, Juan Domínguez-Robles, Emilia Utomo, María Font, María Cristina Martínez-Ohárriz, Andi Dian Permana, Álvaro Cárcamo-Martínez, Eneko Larrañeta, and Ryan F Donnelly. 2021. "Inclusion Complexes of Rifampicin with Native and Derivatized Cyclodextrins: In Silico Modeling, Formulation, and Characterization." *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)* 15(1). doi:10.3390/ph15010020.
- Atta, Sarah, Chandrashan Perera, Regis P Kowalski, and Vishal Jhanji. 2022. "Fungal Keratitis: Clinical Features, Risk Factors, Treatment, and Outcomes." *Journal of Fungi* 8(9): 962. doi:10.3390/jof8090962.
- Awad, Ramy, Alaa Atef Ghaith, Khaled Awad, Marina Mamdouh Saad, and Ahmed Ak Elmassry. 2024. "Fungal Keratitis: Diagnosis, Management, and Recent Advances." *Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)* 18: 85–106. doi:10.2147/OPTH.S447138.
- Aziz, Anugerah Yaumil Ramadhani, Nurul Afia Hasir, Nurul Bahari Putri Imran, Muhammad Firdaus Hamdan, Ulfah Mahfufah, Nurfadilla Wafiah, Andi Arjuna, Rifka Nurul Utami, and Andi Dian Permana. 2023. "Development of Hydrogel-Forming Microneedles for Transdermal Delivery of Albendazole from Liquid Reservoir." *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 34(8): 1101–20. doi:10.1080/09205063.2022.2157671.
- Bawa, Priya, Viness Pillay, Yahya E Choonara, and Lisa C du Toit. 2009. "Stimuli-Responsive Polymers and Their Applications in Drug Delivery." *Biomedical materials (Bristol, England)* 4(2): 22001. doi:10.1088/1748-6041/4/2/022001.
- Begum, Ghazala, Thomas Leigh, Ella Courtie, Richard Moakes, Gibran Butt, Zubair Ahmed, Saaeha Rauz, Ann Logan, and Richard J Blanch. 2020. "Rapid Assessment of Ocular Drug Delivery in a Novel Ex Vivo Corneal Model." *Scientific Reports* 10(1): 11754. doi:10.1038/s41598-020-68254-1.
- Bhatnagar, Shubhmita, Amala Saju, Krishna Deepthi Cheerla, Sudeep Kumar Gade, Prashant Garg, and Venkata Vamsi Krishna Venuganti. 2018. "Corneal Delivery of Besifloxacin Using Rapidly Dissolving Polymeric Microneedles." *Drug delivery and translational research* 8(3): 473–83. doi:10.1007/s13346-017-0470-8.
- Boddupalli, Bindu M, Zulkar N K Mohammed, Ravinder A Nath, and David Banji. 2010. "Mucoadhesive Drug Delivery System: An Overview." *Journal of advanced pharmaceutical technology & research* 1(4): 381–87. doi:10.4103/0110-5558.76436.
- Bodratti, Andrew M, and Paschalis Alexandridis. 2018. "Formulation of Poloxamers for Drug Delivery." *Journal of Functional Biomaterials* 9(1): 11. doi:10.3390/jfb9010011.
- Brambilla, Elisa, Silvia Locarno, Salvatore Gallo, Francesco Orsini, Carolina Pini, Marco Farronato, Douglas V Thomaz, et al. 2022. "Poloxamer-Based Hydrogel as Drug Delivery System: How Polymeric Excipients Influence the Chemical-Physical Properties." *Polymers* 14(17): 3624. doi:10.3390/polym14173624.

- Brewster, Marcus E, and Thorsteinn Loftsson. 2007. "Cyclodextrins as Pharmaceutical Solubilizers." *Advanced Drug Delivery Reviews* 59(7): 645–66. doi:<https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.05.012>.
- Brown, Lottie, Astrid K. Leck, Michael Gichangi, Matthew J. Burton, and David W. Denning. 2021. "The Global Incidence and Diagnosis of Fungal Keratitis." *The Lancet Infectious Diseases* 21(3): e49–57. doi:10.1016/S1473-3099(20)30448-5.
- Butt, Sania Safdar, Yasmin Badshah, Maria Shabbir, and Mehak Rafiq. 2020. "Molecular Docking Using Chimera and Autodock Vina Software for Nonbioinformaticians." *JMIR Bioinformatics and Biotechnology* 1(1): e14232. doi:10.2196/14232.
- Casey-Power, Saoirse, Richie Ryan, Gautam Behl, Peter McLoughlin, Mark E Byrne, and Laurence Fitzhenry. 2022. "Hyaluronic Acid: Its Versatile Use in Ocular Drug Delivery with a Specific Focus on Hyaluronic Acid-Based Polyelectrolyte Complexes." *Pharmaceutics* 14(7). doi:10.3390/pharmaceutics14071479.
- Chaiwut, Chutima, Sarin Tadtong, Puriputt Akachaipabul, Jutamas Jiaranaikulwanitch, Sudarshan Singh, Siriporn Okonogi, Dwi Marlina Syukri, and Chuda Chittasupho. 2025. "Thermosensitive In Situ Ophthalmic Gel for Effective Local Delivery and Antifungal Activity of Ketoconazole Nanoparticles." *Gels* 11(1). doi:10.3390/gels11010013.
- Chaudhari, Pinal, Ranjitha Naik, Lakshmi Sruthi Mallela, Sanhita Roy, Sumit Birangal, Vivek Ghate, Sarojini Balladka Kunhanna, and Shaila A Lewis. 2022. "A Supramolecular Thermosensitive Gel of Ketoconazole for Ocular Applications: In Silico, in Vitro, and Ex Vivo Studies." *International Journal of Pharmaceutics* 613: 121409. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121409>.
- Chen, I-Cheng, Chen-Ying Su, Pei-Yu Chen, The C Hoang, Yi-Syue Tsou, and Hsu-Wei Fang. 2022. "Investigation and Characterization of Factors Affecting Rheological Properties of Poloxamer-Based Thermo-Sensitive Hydrogel." *Polymers* 14(24): 5353. doi:10.3390/polym14245353.
- Cirello, Amanda L, Jennifer L Dumouchel, Mithat Gunduz, Christine E Dunne, and Upendra A Argikar. 2017. "In Vitro Ocular Metabolism and Bioactivation of Ketoconazole in Rat, Rabbit and Human." *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 32(2): 121–26. doi:<https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2016.11.001>.
- Conde Penedo, Andrea, Victoria Díaz Tomé, Anxo Fernández Ferreiro, Miguel González Barcia, and Francisco J Otero Espinar. 2021. "Enhancement in Corneal Permeability of Riboflavin Using Cyclodextrin Derivates Complexes as a Previous Step to Transepithelial Cross-Linking." *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 162: 12–22. doi:10.1016/j.ejpb.2021.02.012.
- DelMonte, Derek W, and Terry Kim. 2011. "Anatomy and Physiology of the Cornea." *Journal of cataract and refractive surgery* 37(3): 588–98. doi:10.1016/j.jcrs.2010.12.037.
- Dewan, Mitali, Arpita Adhikari, Rathin Jana, and Dipankar Chattopadhyay. 2023. "Development, Evaluation and Recent Progress of Ocular in Situ Gelling Drug Delivery Vehicle Based on Poloxamer 407." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 88: 104885. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104885>.
- Drouhet, E, and B Dupont. 1983. "Laboratory and Clinical Assessment of Ketoconazole in Deep-Seated Mycoses." *The American journal of medicine* 74(1B): 30–47. doi:10.1016/0002-9343(83)90512-0.
- Dua, Harminder S, Darren Shu Jeng Ting, Ahmed Al Saadi, and Dalia G Said. 2020. "Chemical Eye Injury: Pathophysiology, Assessment and Management." *Eye (London, England)* 34(11): 2001–19. doi:10.1038/s41433-020-1026-6.
- Elim, Diany, Andi Maqfirah Nurul Fitri, Muhammad Alif Sya ban Mahfud, Nur Afika, Nurul Aisha Fitri Sultan, Hijrah, Rangga Meidianto Asri, and Andi Dian Permana. 2023.

- "Hydrogel Forming Microneedle-Mediated Transdermal Delivery of Sildenafil Citrate from Polyethylene Glycol Reservoir: An Ex Vivo Proof of Concept Study." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 222(November 2022): 113018. doi:10.1016/j.colsurfb.2022.113018.
- Faizi, Hafsa Shahid, Muhammad Iqbal Nasiri, Yu Wu, Deepakkumar Mishra, Ryan F Donnelly, Muhammad Usman Minhas, Lalitkumar K Vora, and Raghu Raj Singh Thakur. 2024. "Deferasirox Nanosuspension Loaded Dissolving Microneedles for Ocular Drug Delivery." *International journal of pharmaceutics* 664: 124614. doi:10.1016/j.ijpharm.2024.124614.
- Felton, Timothy, Peter F Troke, and William W Hope. 2014. "Tissue Penetration of Antifungal Agents." *Clinical microbiology reviews* 27(1): 68–88. doi:10.1128/CMR.00046-13.
- Gaballa, Sherif A, Omar H El Garhy, Hossam Moharram, and Hamdy Abdelkader. 2020. "Preparation and Evaluation of Cubosomes/Cubosomal Gels for Ocular Delivery of Beclomethasone Dipropionate for Management of Uveitis." *Pharmaceutical Research* 37(10): 198. doi:10.1007/s11095-020-02857-1.
- Gadziński, Piotr, Anna Froelich, Monika Wojtyłko, Antoni Białek, Julia Krysztofiak, and Tomasz Osmałek. 2022. "Microneedle-Based Ocular Drug Delivery Systems - Recent Advances and Challenges." *Beilstein journal of nanotechnology* 13: 1167–84. doi:10.3762/bjnano.13.98.
- Garg, Prashant, Venkata Vamsi Krishna Venuganti, Aravind Roy, and Girdhari Roy. 2019. "Novel Drug Delivery Methods for the Treatment of Keratitis: Moving Away from Surgical Intervention." *Expert opinion on drug delivery* 16(12): 1381–91. doi:10.1080/17425247.2019.1690451.
- Gaudana, Ripal, J Jwala, Sai H S Boddu, and Ashim K Mitra. 2009. "Recent Perspectives in Ocular Drug Delivery." *Pharmaceutical research* 26(5): 1197–1216. doi:10.1007/s11095-008-9694-0.
- Ghannoum, M A, and L B Rice. 1999. "Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance." *Clinical microbiology reviews* 12(4): 501–17. doi:10.1128/CMR.12.4.501.
- Glover, Katie, Deepakkumar Mishra, Shilpkala Gade, Lalitkumar K Vora, Yu Wu, Alejandro J Paredes, Ryan F Donnelly, and Thakur Raghu Raj Singh. 2023. "Microneedles for Advanced Ocular Drug Delivery." *Advanced Drug Delivery Reviews* 201: 115082. doi:https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.115082.
- Gupta, Bharti, Varsha Mishra, Sankalp Gharat, Munira Momin, and Abdelwahab Omri. 2021. "Cellulosic Polymers for Enhancing Drug Bioavailability in Ocular Drug Delivery Systems." *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)* 14(11). doi:10.3390/ph14111201.
- Harron, Dean. 2009. "Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: The ICH Process." In , 522–33. doi:10.1002/9781444317800.ch21.
- Hoffman, Jeremy J., Simon Arunga, Abeer H.A. Mohamed Ahmed, Victor H. Hu, and Matthew J. Burton. 2022. "Management of Filamentous Fungal Keratitis: A Pragmatic Approach." *Journal of Fungi* 8(10). doi:10.3390/jof8101067.
- Hu, Jie, Di Zhang, Shuli Chen, Xin Wang, Zhiyun Zheng, Shuangying Gui, and Ning He. 2025. "Minimally Invasive Treatment of Fungal Keratitis with Voriconazole Microneedle Corneal Patch." *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 211: 114717. doi:10.1016/j.ejpb.2025.114717.
- Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM). 2010. "Recommended Test Method Protocol : Hen ' s Egg Test – Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) Test Method." *ICCVAM Test Method Evaluation Report* 13(10): B30–38.

- Jambhekar, Sunil S, and Philip Breen. 2016. "Cyclodextrins in Pharmaceutical Formulations II: Solubilization, Binding Constant, and Complexation Efficiency." *Drug discovery today* 21(2): 363–68. doi:10.1016/j.drudis.2015.11.016.
- Kakkar, Shilpa, Sankunni Mohan Karuppayil, Jayant S Raut, Fabrizio Giansanti, Laura Papucci, Nicola Schiavone, and Indu Pal Kaur. 2015. "Lipid-Polyethylene Glycol Based Nano-Ocular Formulation of Ketoconazole." *International Journal of Pharmaceutics* 495(1): 276–89. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.08.088.
- Kang, Huizhi, Zhuo Zuo, Ru Lin, Muzi Yao, Yang Han, and Jing Han. 2022. "The Most Promising Microneedle Device: Present and Future of Hyaluronic Acid Microneedle Patch." *Drug delivery* 29(1): 3087–3110. doi:10.1080/10717544.2022.2125600.
- Kawase, Kazuhide, Wenzhong Lin, Yumiko Aoyama, Tetsuya Yamamoto, Masamitsu Shimazawa, and Hideaki Hara. 2010. "Effects of Timolol-Related Ophthalmic Solutions on Cultured Human Conjunctival Cells." *Japanese journal of ophthalmology* 54(6): 615–21. doi:10.1007/s10384-010-0881-2.
- Kemenkes RI. 2018. 2018 *Peta Jalan Penanggulangan Gangguan Penglihatan Di Indonesia Tahun 2017-2030*. <http://www.p2ptm.kemkes.go.id/dokumen-ptm/buku-peta-jalan-penanggulangan-gangguan-penglihatan-di-indonesia-tahun-2017-2030>.
- Khan, Javed, Aatif Khan, Aman Khan, Danish Khan, Abdul Shaikh, and Mirza Salman Baig. 2024. "In Situ Gel: A Promising Ocular Drug Delivery System." *International Journal of Advancement in Life Sciences Research* 07: 65–77. doi:10.31632/ijalsr.2024.v07i03.006.
- Khatoon, Hena, Siti M M Faudzi, and Tamás Sohajda. 2025. "Mechanisms and Therapeutic Applications of B-Cyclodextrin in Drug Solubilisation and Delivery Systems." *Chemistry & Biodiversity*. doi:10.1002/cbdv.202500359.
- Khattab, Abeer, Sarah Marzok, and Magdy Ibrahim. 2019. "Development of Optimized Mucoadhesive Thermosensitive Pluronic Based in Situ Gel for Controlled Delivery of Latanoprost: Antiglaucoma Efficacy and Stability Approaches." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 53: 101134. doi:https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101134.
- Khiev, Dawin, Zeinab A Mohamed, Riddhi Vichare, Ryan Paulson, Sofia Bhatia, Subhra Mohapatra, Glenn P Lobo, et al. 2021. "Emerging Nano-Formulations and Nanomedicines Applications for Ocular Drug Delivery." *Nanomaterials (Basel, Switzerland)* 11(1). doi:10.3390/nano11010173.
- Kim, Dong-Hyun, Sang-Eun Lee, Yong-Chul Pyo, Tran Phuong, and Jeong-Sook Park. 2019. "Solubility Enhancement and Application of Cyclodextrins in Local Drug Delivery." *Journal of Pharmaceutical Investigation* 50: 1–11. doi:10.1007/s40005-019-00434-2.
- Kim, Yoo C, Hans E Grossniklaus, Henry F Edelhauser, and Mark R Prausnitz. 2014. "Intrastromal Delivery of Bevacizumab Using Microneedles to Treat Corneal Neovascularization." *Investigative ophthalmology & visual science* 55(11): 7376–86. doi:10.1167/iovs.14-15257.
- Kurniawansyah, Insan Sunan, Taofik Rusdiana, Iyan Sopyan, Handrian Ramoko, Habibah A. Wahab, and Anas Subarnas. 2020. "In Situ Ophthalmic Gel Forming Systems of Poloxamer 407 and Hydroxypropyl Methyl Cellulose Mixtures for Sustained Ocular Delivery of Chloramphenicol: Optimization Study by Factorial Design." *Heliyon* 6(11). doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05365.
- Lachowicz, Malwina, Andrzej Stańczak, and Michał Kołodziejczyk. 2020. "Characteristic of Cyclodextrins: Their Role and Use in the Pharmaceutical Technology." *Current drug targets* 21(14): 1495–1510. doi:10.2174/1389450121666200615150039.
- Lakhani, Prit, Akash Patil, and Soumyajit Majumdar. 2019. "Challenges in the Polyene- and Azole-Based Pharmacotherapy of Ocular Fungal Infections." *Journal of ocular pharmacology and therapeutics : the official journal of the Association for Ocular*

- Pharmacology and Therapeutics* 35(1): 6–22. doi:10.1089/jop.2018.0089.
- Larrañeta, Eneko, Jessica Moore, Eva M Vicente-Pérez, Patricia González-Vázquez, Rebecca Lutton, A David Woolfson, and Ryan F Donnelly. 2014. “A Proposed Model Membrane and Test Method for Microneedle Insertion Studies.” *International journal of pharmaceutics* 472(1–2): 65–73. doi:10.1016/j.ijpharm.2014.05.042.
- Lee, Jae-ung, Sung-Sik Lee, Sungyul Lee, and Han B Oh. 2020. “Noncovalent Complexes of Cyclodextrin with Small Organic Molecules: Applications and Insights into Host–Guest Interactions in the Gas Phase and Condensed Phase.” *Molecules* 25(18): 4048. doi:10.3390/molecules25184048.
- Li, Liping, Fan Jia, Youxiang Wang, Jiamin Liu, Yi Tian, Xinghuai Sun, Yuan Lei, and Jian Ji. 2023. “Trans-Corneal Drug Delivery Strategies in the Treatment of Ocular Diseases.” *Advanced Drug Delivery Reviews* 198: 114868. doi:https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.114868.
- Liu, Shuai, Shuohan Xu, Hang Lu, Xueyu Gong, Huaipeng Li, Xinyu Fan, and Hongwei Yang. 2025. “Exploring the Potential of a Thermosensitive in Situ Gel with Periplaneta Americana Extracts for Efficient Wound Healing.” *Frontiers in Pharmacology* Volume 16. doi:10.3389/fphar.2025.1672818.
- Loftsson, T., & Duchêne, D. 2020. “Cyclodextrins and Their Pharmaceutical Applications.” *International Journal of Pharmaceutics*.
- Loftsson, T, and M Masson. 2001. “Cyclodextrins in Topical Drug Formulations: Theory and Practice.” *International journal of pharmaceutics* 225(1–2): 15–30. doi:10.1016/s0378-5173(01)00761-x.
- Loftsson, Thorsteinn, and Marcus E Brewster. 2011. “Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins: Effects on Drug Permeation through Biological Membranes.” *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 63(9): 1119–35. doi:10.1111/j.2042-7158.2011.01279.x.
- Loftsson, Thorsteinn, Pekka Jarho, Már Másson, and Tomi Järvinen. 2005. “Cyclodextrins in Drug Delivery.” *Expert Opinion on Drug Delivery* 2(2): 335–51. doi:10.1517/17425247.2.1.335.
- Lu, Geng, Baohua Li, Luping Lin, Xiaofang Li, and Junfeng Ban. 2024. “Mechanical Strength Affecting the Penetration in Microneedles and PLGA Nanoparticle-Assisted Drug Delivery: Importance of Preparation and Formulation.” *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 173: 116339. doi:10.1016/j.biopha.2024.116339.
- Mahmoudi, Shahram, Ahmad Masoomi, Kazem Ahmadikia, Seyed Ali Tabatabaei, Mohammad Soleimani, Sassan Rezaie, Hossein Ghahvechian, and Ali Banafsheafshan. 2018. “Fungal Keratitis: An Overview of Clinical and Laboratory Aspects.” *Mycoses* 61(12): 916–30. doi:10.1111/myc.12822.
- Majeed, Bashir J M, Mohammed A Saadallah, Israa H Al-Ani, Mohamed K El-Tanani, Khaldun M Al Azzam, Hassan H Abdallah, and Feras Al-Hajji. 2024. “Evaluation of Solubility, Dissolution Rate, and Oral Bioavailability of β -Cyclodextrin and Hydroxypropyl β -Cyclodextrin as Inclusion Complexes of the Tyrosine Kinase Inhibitor, Alectinib.” *Pharmaceutics* 17(6): 737. doi:10.3390/ph17060737.
- Mangolim, Camila Sampaio, Cristiane Moriwaki, Ana Claudia Nogueira, Francielle Sato, Mauro Luciano Baesso, Antônio Medina Neto, and Graciette Matioli. 2014. “Curcumin- β -Cyclodextrin Inclusion Complex: Stability, Solubility, Characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-Ray Diffraction and Photoacoustic Spectroscopy, and Food Application.” *Food Chemistry* 153: 361–70. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.067.
- Moawad, Fatma, Roxane Pouliot, and Davide Brambilla. 2025. “Dissolving Microneedles in Transdermal Drug Delivery: A Critical Analysis of Limitations and Translation Challenges.” *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release*

- Society* 383: 113794. doi:10.1016/j.jconrel.2025.113794.
- Morsi, Nadia, Dalia Ghorab, Hanan Refai, and Hoda Teba. 2016. "Ketorolac Tromethamine Loaded Nanodispersion Incorporated into Thermosensitive in Situ Gel for Prolonged Ocular Delivery." *International Journal of Pharmaceutics* 506(1): 57–67. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.04.021.
- Mostafa, Mahmoud, Adel Al Fatease, Raid G Alany, and Hamdy Abdelkader. 2023. "Recent Advances of Ocular Drug Delivery Systems: Prominence of Ocular Implants for Chronic Eye Diseases." *Pharmaceutics* 15(6). doi:10.3390/pharmaceutics15061746.
- Muankaew, Chutimon, Phatsawee Jansook, and Thorsteinn Loftsson. 2017. "Evaluation of γ -Cyclodextrin Effect on Permeation of Lipophilic Drugs: Application of Cellophane/Fused Octanol Membrane." *Pharmaceutical development and technology* 22(4): 562–70. doi:10.1080/10837450.2016.1180394.
- Müller, Guilherme Gubert, Newton Kara-José, and Rosane Silvestre de Castro. 2013. "Antifúngicos Em Infecções Oculares: Drogas e Vias de Administração." *Revista Brasileira de Oftalmologia* 72.
- Musuc, Adina M. 2024. "Cyclodextrins: Advances in Chemistry, Toxicology, and Multifaceted Applications." *Molecules* 29(22): 5319. doi:10.3390/molecules29225319.
- Niu, Lingzhi, Xin Liu, Zhiming Ma, Yuan Yin, Lixia Sun, Longfei Yang, and Yajuan Zheng. 2020. "Fungal Keratitis: Pathogenesis, Diagnosis and Prevention." *Microbial pathogenesis* 138: 103802. doi:10.1016/j.micpath.2019.103802.
- Omidian, Hossein, Arnavaz Akhzarmehr, and Erma J Gill. 2025. "Cyclodextrin–Hydrogel Hybrids in Advanced Drug Delivery." *Gels* 11(3): 177. doi:10.3390/gels11030177.
- Onugwu, Adaeze Linda, Chinekwu Sherridan Nwagwu, Obinna Sabastine Onugwu, Adaeze Chidiebere Echezona, Chinazom Precious Agbo, Stella Amarachi Ihim, Prosper Emeh, et al. 2023. "Nanotechnology Based Drug Delivery Systems for the Treatment of Anterior Segment Eye Diseases." *Journal of Controlled Release* 354: 465–88. doi:https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.01.018.
- Pantsar, Tatu, and Antti Poso. 2018. "Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction." *Molecules* 23(8): 1899. doi:10.3390/molecules23081899.
- Patel, Ashaben. 2013. "Ocular Drug Delivery Systems: An Overview." *World Journal of Pharmacology* 2(2): 47. doi:10.5497/wjp.v2.i2.47.
- Patel, Ashaben, Kishore Cholkar, Vibhuti Agrahari, and Ashim Mitra. 2015. "Ocular Drug Delivery Systems: An Overview." *World journal of pharmacology* 2: 47–64. doi:10.5497/wjp.v2.i2.47.
- Patel, Ashaben, Kishore Cholkar, Vibhuti Agrahari, and Ashim K Mitra. 2013. "Ocular Drug Delivery Systems: An Overview." *World journal of pharmacology* 2(2): 47–64. doi:10.5497/wjp.v2.i2.47.
- Permana, Andi Dian, Rifka Nurul Utami, Patricia Layadi, Achmad Himawan, Nana Juniarti, Qonita Kurnia Anjani, Emilia Utomo, et al. 2021. "Thermosensitive and Mucoadhesive in Situ Ocular Gel for Effective Local Delivery and Antifungal Activity of Itraconazole Nanocrystal in the Treatment of Fungal Keratitis." *International Journal of Pharmaceutics* 602: 120623. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120623.
- Pickel, Julia, Shivananda Narayana, Tiruvengada Krishnan, Seema Ramakrishnan, Puja Prativa Samantaray, Travis C Porco, Travis Redd, Thomas M Lietman, and Jennifer Rose-Nussbaumer. 2020. "The Prognostic Value of Persistent Culture Positivity in Fungal Keratitis in the Mycotic Antimicrobial Localized Injection Trial." *American Journal of Ophthalmology* 215: 1–7. doi:https://doi.org/10.1016/j.ajo.2020.02.021.
- Popescu, Irina, Marieta Constantin, Maria Bercea, Bogdan-Paul Coşman, Dana M Suflet, and Gheorghe Fundueanu. 2023. "Poloxamer/Carboxymethyl Pullulan Aqueous

- Systems—Miscibility and Thermogelation Studies Using Viscometry, Rheology and Dynamic Light Scattering." *Polymers* 15(8): 1909. doi:10.3390/polym15081909.
- Putri, Rasma Adelia, Cindy Kristina Enggi, Sulistiawati Sulistiawati, Habiburrahim Burhanuddin, Israini Wiyulanda Iskandar, Rizki Rachmad Saputra, Latifah Rahman, et al. 2024. "Development of Itraconazole Ocular Delivery System Using β -Cyclodextrin Complexation Incorporated into Dissolving Microneedles for Potential Improvement Treatment of Fungal Keratitis." *Journal of biomaterials science. Polymer edition*: 1–28. doi:10.1080/09205063.2024.2380129.
- Qutub, Mohammad, Amol Tatode, Tanvi Premchandani, Jayshree Taksande, Dadaso Mane, and Milind Umekar. 2024. "Blending Induced Variations in Poloxamer's/Pluronic's® Gelation: Thermodynamic and Rheological Perspectives." *JCIS Open* 16: 100126. doi:https://doi.org/10.1016/j.jciso.2024.100126.
- Ranta, Veli-Pekka, and Arto Urtti. 2006. "Transscleral Drug Delivery to the Posterior Eye: Prospects of Pharmacokinetic Modeling." *Advanced Drug Delivery Reviews* 58(11): 1164–81. doi:https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.07.025.
- Rojekar, Satish, Swapnali Parit, Amol D Gholap, Ajit Manchare, Sopan N Nangare, Navnath Hatvate, Vrashabh V Sugandhi, Keshav R Paudel, and Rahul G Ingle. 2024. "Revolutionizing Eye Care: Exploring the Potential of Microneedle Drug Delivery." *Pharmaceutics* 16(11): 1398. doi:10.3390/pharmaceutics16111398.
- Rupenthal, Ilva D, Colin R Green, and Raid G Alany. 2011. "Comparison of Ion-Activated in Situ Gelling Systems for Ocular Drug Delivery. Part 1: Physicochemical Characterisation and in Vitro Release." *International journal of pharmaceutics* 411(1–2): 69–77. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.03.042.
- Rusdin, Agus, Amirah Mohd Gazzali, Nur Ain Thomas, Sandra Megantara, Diah Lia Aulifa, Arif Budiman, and Muchtaridi Muchtaridi. 2024. "Advancing Drug Delivery Paradigms: Polyvinyl Pyrrolidone (PVP)-Based Amorphous Solid Dispersion for Enhanced Physicochemical Properties and Therapeutic Efficacy." *Polymers* 16(2). doi:10.3390/polym16020286.
- Russo, Eleonora, and Carla Villa. 2019. "Poloxamer Hydrogels for Biomedical Applications." *Pharmaceutics* 11(12). doi:10.3390/pharmaceutics11120671.
- Sahay, Pranita, Deepali Singhal, Ritu Nagpal, Prafulla K Maharana, Marjan Farid, Rachel Gelman, Rajesh Sinha, et al. 2019. "Pharmacologic Therapy of Mycotic Keratitis." *Survey of Ophthalmology* 64(3): 380–400. doi:https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2019.02.007.
- Said, Dalia G, Muneer Otri, Ammar Miri, Anusha Kailasanathan, Tasneem Khatib, and Harminder S Dua. 2011. "The Challenge of Fungal Keratitis." *British Journal of Ophthalmology* 95(12): 1623 LP – 1624. doi:10.1136/bjophthalmol-2011-301148.
- dos Santos, Cristina, M Pilar Buera, and M Florencia Mazzobre. 2012. "Influence of Ligand Structure and Water Interactions on the Physical Properties of β -Cyclodextrins Complexes." *Food Chemistry* 132(4): 2030–36. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.044.
- Saokham, Phennapha, Chutimon Muankaew, Phatsawee Jansook, and Thorsteinn Loftsson. 2018. "Solubility of Cyclodextrins and Drug/Cyclodextrin Complexes." *Molecules* 23(5). doi:10.3390/molecules23051161.
- Sapiun, Zulfiayu, Arlan K Imran, Siti Nur Fatimah S. Mohamad, Andi Nur Aisyah, Stephani Stephani, Achmad Himawan, Marianti Manggau, et al. 2024. "Hispidulin-Rich Fraction of Clerodendrum Fragrans Wild. (Sesewanua) Dissolving Microneedle as Antithrombosis Candidate: A Proof of Concept Study." *International Journal of Pharmaceutics*: 124766. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124766.
- Sathyanarayana, Sandeep Divate, Narayana Charyulu Rompicherla, and Anoop Narayanan. 2020. "Development of Thermosensitive Ophthalmic in Situ Gels of Bimatoprost for Glaucoma Therapy." 54(2). doi:10.5530/ijper.54.2s.71.

- Schott, Jennifer A, Chi-Linh Do-Thanh, Weida Shan, Nicolette G Puskar, Sheng Dai, and Shannon M Mahurin. 2021. "FTIR Investigation of the Interfacial Properties and Mechanisms of CO₂ Sorption in Porous Ionic Liquids." *Green Chemical Engineering* 2(4): 392–401. doi:<https://doi.org/10.1016/j.gce.2021.09.003>.
- Senjoti, F G, P Timmins, B R Conway, and A M Smith. 2020. "Optimizing Ophthalmic Delivery of a Poorly Water Soluble Drug from an Aqueous in Situ Gelling System." *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 154: 1–7. doi:[10.1016/j.ejpb.2020.06.016](https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2020.06.016).
- Soliman, K., Ullah, K., Shah, A., Jones, D. S., & Singh, T. R. R. 2019. "Poloxamer-Based in Situ Gelling Thermoresponsive Systems for Ocular Drug Delivery Applications School of Pharmacy , Queen ' s University Belfast , Medical Biology Centre , 97 Lisburn Road , Belfast Department of Pharmacy , COMSATS University Islamabad , A." 24(8): 1575-1586.
- Soliman, Karim A, K Ullah, A Shah, David S Jones, and Thakur R R Singh. 2019. "Poloxamer-Based in Situ Gelling Thermoresponsive Systems for Ocular Drug Delivery Applications." *Drug Discovery Today* 24(8): 1575–86. doi:<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.05.036>.
- Stegemann, S, F Leveiller, D Franchi, H de Jong, and H Lindén. 2007. "When Poor Solubility Becomes an Issue: From Early Stage to Proof of Concept." *European journal of pharmaceutical sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences* 31(5): 249–61. doi:[10.1016/j.ejps.2007.05.110](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2007.05.110).
- Sulistiawati, Sulistiawati, Cindy Kristina Enggi, Israini Wiyulanda Iskandar, Rizki Rachmad Saputra, Sartini Sartini, Yusnita Rifai, Latifah Rahman, Muhammad Aswad, and Andi Dian Permana. 2024. "Bioavailability Enhancement of Sildenafil Citrate via Hydrogel-Forming Microneedle Strategy in Combination with Cyclodextrin Complexation." *International Journal of Pharmaceutics* 655(March): 124053. doi:[10.1016/j.ijpharm.2024.124053](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124053).
- Sun, Xiaowen, Junxiang Zhu, Chengqin Liu, Dongfeng Wang, and Chang Yun Wang. 2022. "Fabrication of Fucoxanthin/2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Inclusion Complex Assisted by Ultrasound Procedure to Enhance Aqueous Solubility, Stability and Antitumor Effect of Fucoxanthin." *Ultrasonics Sonochemistry* 90(October): 106215. doi:[10.1016/j.ultsonch.2022.106215](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106215).
- Szente, Lajos, Ashutosh Singhal, Andras Domokos, and Byeongwoon Song. 2018. "Cyclodextrins: Assessing the Impact of Cavity Size, Occupancy, and Substitutions on Cytotoxicity and Cholesterol Homeostasis." *Molecules* 23(5): 1228. doi:[10.3390/molecules23051228](https://doi.org/10.3390/molecules23051228).
- Thakur, Raghu Raj Singh, Ismaiel A Tekko, Farhan Al-Shammari, Ahlam A Ali, Helen McCarthy, and Ryan F Donnelly. 2016. "Rapidly Dissolving Polymeric Microneedles for Minimally Invasive Intraocular Drug Delivery." *Drug Delivery and Translational Research* 6(6): 800–815. doi:[10.1007/s13346-016-0332-9](https://doi.org/10.1007/s13346-016-0332-9).
- Thakur Singh, Raghu Raj, Ismaiel Tekko, Kathryn McAvoy, Hannah McMillan, David Jones, and Ryan F Donnelly. 2017. "Minimally Invasive Microneedles for Ocular Drug Delivery." *Expert opinion on drug delivery* 14(4): 525–37. doi:[10.1080/17425247.2016.1218460](https://doi.org/10.1080/17425247.2016.1218460).
- Thomas, P A, and J Kaliyamurthy. 2013. "Mycotic Keratitis: Epidemiology, Diagnosis and Management." *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 19(3): 210–20. doi:[10.1111/1469-0691.12126](https://doi.org/10.1111/1469-0691.12126).
- Ting, Darren Shu Jeng, Charlotte Shan Ho, Rashmi Deshmukh, Dalia G Said, and Harminder S Dua. 2021. "Infectious Keratitis: An Update on Epidemiology, Causative Microorganisms, Risk Factors, and Antimicrobial Resistance." *Eye*

- (London, England) 35(4): 1084–1101. doi:10.1038/s41433-020-01339-3.
- Tirucherai, Giridhar S, and Ashim K Mitra. 2003. "Effect of Hydroxypropyl Beta Cyclodextrin Complexation on Aqueous Solubility, Stability, and Corneal Permeation of Acyl Ester Prodrugs of Ganciclovir." *AAPS PharmSciTech* 4(3): E45. doi:10.1208/pt040345.
- Torres, M A, J Mohamed, H Cavazos-Adame, and L A Martinez. 1985. "Topical Ketoconazole for Fungal Keratitis." *American journal of ophthalmology* 100(2): 293–98. doi:10.1016/0002-9394(85)90795-0.
- Trucillo, Paolo. 2022. "Drug Carriers: A Review on the Most Used Mathematical Models for Drug Release." *Processes* 10(6): 1094. doi:10.3390/pr10061094.
- Valente, Artur J M, and Olle Söderman. 2014. "The Formation of Host-Guest Complexes between Surfactants and Cyclodextrins." *Advances in colloid and interface science* 205: 156–76. doi:10.1016/j.cis.2013.08.001.
- Volpe-Zanutto, Fabiana, Lalitkumar K Vora, Ismaiel A Tekko, Peter E McKenna, Andi Dian Permana, Akmal H Sabri, Qonita K Anjani, et al. 2022. "Hydrogel-Forming Microarray Patches with Cyclodextrin Drug Reservoirs for Long-Acting Delivery of Poorly Soluble Cabotegravir Sodium for HIV Pre-Exposure Prophylaxis." *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society* 348: 771–85. doi:10.1016/j.jconrel.2022.06.028.
- Vora, Lalit K, Pradeep R Vavia, Eneko Larrañeta, Steven E J Bell, and Ryan F Donnelly. 2018. "Novel Nanosuspension-Based Dissolving Microneedle Arrays for Transdermal Delivery of a Hydrophobic Drug." *Journal of interdisciplinary nanomedicine* 3(2): 89–101. doi:10.1002/jin2.41.
- Walfish, S. 2006. "Analytical Methods: A Statistical Perspective on the ICH Q2A and Q2B Guidelines for Validation of Analytical Methods TYPES OF ANALYTICAL METHODS." <http://www.biopharminternational.com/biopharm/content/printContentPopup.jsp?id=392483>.
- Wang, Qiuxiang, Aiwen Zhang, Lu Zhu, Xuewen Yang, Guihua Fang, and Bo Tang. 2023. "Cyclodextrin-Based Ocular Drug Delivery Systems: A Comprehensive Review." *Coordination Chemistry Reviews* 476: 214919. doi:10.1016/j.ccr.2022.214919.
- Wu, Yu, Lalitkumar K Vora, Ryan F Donnelly, and Thakur Raghu Raj Singh. 2023. "Rapidly Dissolving Bilayer Microneedles Enabling Minimally Invasive and Efficient Protein Delivery to the Posterior Segment of the Eye." *Drug delivery and translational research* 13(8): 2142–58. doi:10.1007/s13346-022-01190-x.
- Wu, Yumei, Yuanyuan Liu, Xinyue Li, Dereje Kebebe, Bing Zhang, Jing Ren, Jun Lu, et al. 2019. "Research Progress of In-Situ Gelling Ophthalmic Drug Delivery System." *Asian journal of pharmaceutical sciences* 14(1): 1–15. doi:10.1016/j.ajps.2018.04.008.
- Xia, Huiyun, Jingjing Yang, Fei Song, Guojuan Pu, Fudan Dong, Zhen Liang, and Junjie Zhang. 2024. "Development of Ion-Triggered in Situ Gel Containing Ketoconazole/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin for Ocular Delivery: In Vitro and in Vivo Evaluation." *Drug delivery* 31(1): 2424217. doi:10.1080/10717544.2024.2424217.
- Xu, Peng-Wei, Xiao-Fan Yuan, Hang Li, Yuan Zhu, and Bing Zhao. 2023. "Preparation, Characterization, and Physicochemical Property of the Inclusion Complexes of Cannabisin A with β -Cyclodextrin and Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin." *Journal of Molecular Structure* 1272: 134168. doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134168.
- Yadav, Khushwant S, Rahul Rajpurohit, and Sushmita Sharma. 2019. "Glaucoma: Current Treatment and Impact of Advanced Drug Delivery Systems." *Life Sciences* 221: 362–76. doi:https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.02.029.
- Yang, Yingjia, and Alastair Lockwood. 2022. "Topical Ocular Drug Delivery Systems:

- Innovations for an Unmet Need.” *Experimental Eye Research* 218: 109006. doi:https://doi.org/10.1016/j.exer.2022.109006.
- Yao, Yashu, Yan Xie, Chao Hong, Guowen Li, Hongyi Shen, and Guang Ji. 2014. “Development of a Myricetin/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Inclusion Complex: Preparation, Characterization, and Evaluation.” *Carbohydrate Polymers* 110: 329–37. doi:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.006.
- Youssef, Ahmed, Narendar Dudhipala, and Soumyajit Majumdar. 2020. “Ciprofloxacin Loaded Nanostructured Lipid Carriers Incorporated into In-Situ Gels to Improve Management of Bacterial Endophthalmitis.” *Pharmaceutics* 12(6). doi:10.3390/pharmaceutics12060572.
- Zarei Chamgordani, Nasrin, Sasan Asiaei, Fatemeh Ghorbani-Bidkorpeh, Masoud Babaee Foroutan, Mostafa Dahmardehei, and Hamid Reza Moghimi. 2024. “A Long-Lasting Triamcinolone-Loaded Microneedle Patch for Prolonged Dermal Delivery.” *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR* 23(1): e138857. doi:10.5812/ijpr-138857.
- Zhang, Junjie, Liya Wang, Changfeng Gao, Li Zhang, and Huiyun Xia. 2008. “Ocular Pharmacokinetics of Topically-Applied Ketoconazole Solution Containing Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrin to Rabbits.” *Journal of ocular pharmacology and therapeutics: the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics* 24(5): 501–6. doi:10.1089/jop.2008.0015.
- Zhao, Lin, Jiamei Chen, Bai Bai, Guili Song, Jingwen Zhang, Han Yu, Shiwei Huang, Zhang Wang, and Guanghua Lu. 2023. “Topical Drug Delivery Strategies for Enhancing Drug Effectiveness by Skin Barriers, Drug Delivery Systems and Individualized Dosing.” *Frontiers in pharmacology* 14: 1333986. doi:10.3389/fphar.2023.1333986.
- Zheng, Pinxuan, Xueying Liu, Yanqing Jiao, Xuran Mao, Zhaorong Zong, Qi Jia, Heng Bo Jiang, Eui-Seok Lee, and Qi Chen. 2024. “Preparation and Evaluation of Poloxamer/Carbopol In-Situ Gel Loaded with Quercetin: In-Vitro Drug Release and Cell Viability Study.” *Tissue engineering and regenerative medicine* 21(8): 1153–71. doi:10.1007/s13770-024-00671-z.
- Abbas, Muhammad N, Saeed A Khan, Sajid K Sadozai, Islam A Khalil, Asem Anter, Marwa E Fouly, Ahmed H Osman, and Mohsin Kazi. 2022. “Nanoparticles Loaded Thermoresponsive In Situ Gel for Ocular Antibiotic Delivery against Bacterial Keratitis.” *Polymers* 14(6): 1135. doi:10.3390/polym14061135.
- Abdelbary, Ghada A, Maha M Amin, and Mohamed Y Zakaria. 2017. “Ocular Ketoconazole-Loaded Proniosomal Gels: Formulation, Ex Vivo Corneal Permeation and in Vivo Studies.” *Drug delivery* 24(1): 309–19. doi:10.1080/10717544.2016.1247928.
- Abdellatif, Menna M, Islam A Khalil, Yara E Elakkad, Hesham A Eliwa, Tamer M Samir, and Asmaa K Al-Mokaddem. 2020. “Formulation and Characterization of Sertaconazole Nitrate Mucoadhesive Liposomes for Vaginal Candidiasis.” *International journal of nanomedicine* 15: 4079–90. doi:10.2147/IJN.S250960.
- Ahmed, Bakr, Srishti Jaiswal, Srishti Naryal, Rohan M Shah, Raid G Alany, and Indu Pal Kaur. 2024. “In Situ Gelling Systems for Ocular Drug Delivery.” *Journal of Controlled Release* 371: 67–84. doi:https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2024.05.031.
- Ahmed, Sadek, Maha M Amin, Sarah Mohamed El-Korany, and Sinar Sayed. 2022. “Pronounced Capping Effect of Olaminosomes as Nanostructured Platforms in Ocular Candidiasis Management.” *Drug delivery* 29(1): 2945–58. doi:10.1080/10717544.2022.2120926.
- Ahmed, Sadek, Maha M Amin, and Sinar Sayed. 2023. “Ocular Drug Delivery: A Comprehensive Review.” *AAPS PharmSciTech* 24(2): 66. doi:10.1208/s12249-023-02516-9.

- Aisyah, Andi Nur, Andi Dian Permana, Elly Wahyudin, Diany Elim, Ikbal Ikbal, Nana Novriana, Payung Datu, et al. 2024. "Formulation and Evaluation of Dissolving Microneedle for Transdermal Delivery of Piperine: The Effect of Polymers Concentration." *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 0(0): 1–20. doi:10.1080/09205063.2024.2320948.
- Akgun, Zeynep, and Ozlem Barut Selver. 2023. "Epidemiology and Etiology of Chemical Ocular Injury: A Brief Review." *World journal of clinical cases* 11(6): 1245–51. doi:10.12998/wjcc.v11.i6.1245.
- Akhter, Md Habban, Irfan Ahmad, Mohammad Y Alshahrani, Alhanouf I Al-Harbi, Habibullah Khalilullah, Obaid Afzal, Abdulmalik S A Altamimi, et al. 2022. "Drug Delivery Challenges and Current Progress in Nanocarrier-Based Ocular Therapeutic System." *Gels (Basel, Switzerland)* 8(2). doi:10.3390/gels8020082.
- Anjani, Qonita Kurnia, Juan Domínguez-Robles, Emilia Utomo, María Font, María Cristina Martínez-Ohárriz, Andi Dian Permana, Álvaro Cárcamo-Martínez, Eneko Larrañeta, and Ryan F Donnelly. 2021. "Inclusion Complexes of Rifampicin with Native and Derivatized Cyclodextrins: In Silico Modeling, Formulation, and Characterization." *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)* 15(1). doi:10.3390/ph15010020.
- Atta, Sarah, Chandrashan Perera, Regis P Kowalski, and Vishal Jhanji. 2022. "Fungal Keratitis: Clinical Features, Risk Factors, Treatment, and Outcomes." *Journal of Fungi* 8(9): 962. doi:10.3390/jof8090962.
- Awad, Ramy, Alaa Atef Ghaith, Khaled Awad, Marina Mamdouh Saad, and Ahmed Ak Elmassry. 2024. "Fungal Keratitis: Diagnosis, Management, and Recent Advances." *Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)* 18: 85–106. doi:10.2147/OPTH.S447138.
- Aziz, Anugerah Yaumil Ramadhani, Nurul Afia Hasir, Nurul Bahari Putri Imran, Muhammad Firdaus Hamdan, Ulfah Mahfufah, Nurfadilla Wafiah, Andi Arjuna, Rifka Nurul Utami, and Andi Dian Permana. 2023. "Development of Hydrogel-Forming Microneedles for Transdermal Delivery of Albendazole from Liquid Reservoir." *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 34(8): 1101–20. doi:10.1080/09205063.2022.2157671.
- Bawa, Priya, Viness Pillay, Yahya E Choonara, and Lisa C du Toit. 2009. "Stimuli-Responsive Polymers and Their Applications in Drug Delivery." *Biomedical materials (Bristol, England)* 4(2): 22001. doi:10.1088/1748-6041/4/2/022001.
- Begum, Ghazala, Thomas Leigh, Ella Courtie, Richard Moakes, Gibran Butt, Zubair Ahmed, Saaeha Rauz, Ann Logan, and Richard J Blanch. 2020. "Rapid Assessment of Ocular Drug Delivery in a Novel Ex Vivo Corneal Model." *Scientific Reports* 10(1): 11754. doi:10.1038/s41598-020-68254-1.
- Bhatnagar, Shubhmita, Amala Saju, Krishna Deepthi Cheerla, Sudeep Kumar Gade, Prashant Garg, and Venkata Vamsi Krishna Venuganti. 2018. "Corneal Delivery of Besifloxacin Using Rapidly Dissolving Polymeric Microneedles." *Drug delivery and translational research* 8(3): 473–83. doi:10.1007/s13346-017-0470-8.
- Boddupalli, Bindu M, Zulkar N K Mohammed, Ravinder A Nath, and David Banji. 2010. "Mucoadhesive Drug Delivery System: An Overview." *Journal of advanced pharmaceutical technology & research* 1(4): 381–87. doi:10.4103/0110-5558.76436.
- Bodratti, Andrew M, and Paschalis Alexandridis. 2018. "Formulation of Poloxamers for Drug Delivery." *Journal of Functional Biomaterials* 9(1): 11. doi:10.3390/jfb9010011.
- Brambilla, Elisa, Silvia Locarno, Salvatore Gallo, Francesco Orsini, Carolina Pini, Marco Farronato, Douglas V Thomaz, et al. 2022. "Poloxamer-Based Hydrogel as Drug Delivery System: How Polymeric Excipients Influence the Chemical-Physical Properties." *Polymers* 14(17): 3624. doi:10.3390/polym14173624.
- Brewster, Marcus E, and Thorsteinn Loftsson. 2007. "Cyclodextrins as Pharmaceutical

- Solubilizers." *Advanced Drug Delivery Reviews* 59(7): 645–66. doi:<https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.05.012>.
- Brown, Lottie, Astrid K. Leck, Michael Gichangi, Matthew J. Burton, and David W. Denning. 2021. "The Global Incidence and Diagnosis of Fungal Keratitis." *The Lancet Infectious Diseases* 21(3): e49–57. doi:10.1016/S1473-3099(20)30448-5.
- Butt, Sania Safdar, Yasmin Badshah, Maria Shabbir, and Mehak Rafiq. 2020. "Molecular Docking Using Chimera and Autodock Vina Software for Nonbioinformaticians." *JMIR Bioinformatics and Biotechnology* 1(1): e14232. doi:10.2196/14232.
- Casey-Power, Saoirse, Richie Ryan, Gautam Behl, Peter McLoughlin, Mark E Byrne, and Laurence Fitzhenry. 2022. "Hyaluronic Acid: Its Versatile Use in Ocular Drug Delivery with a Specific Focus on Hyaluronic Acid-Based Polyelectrolyte Complexes." *Pharmaceutics* 14(7). doi:10.3390/pharmaceutics14071479.
- Chaiwut, Chutima, Sarin Tadtong, Puriputt Akachaipabul, Jutamas Jiaranaikulwanitch, Sudarshan Singh, Siriporn Okonogi, Dwi Marlina Syukri, and Chuda Chittasupho. 2025. "Thermosensitive In Situ Ophthalmic Gel for Effective Local Delivery and Antifungal Activity of Ketoconazole Nanoparticles." *Gels* 11(1). doi:10.3390/gels11010013.
- Chaudhari, Pinal, Ranjitha Naik, Lakshmi Sruthi Mallela, Sanhita Roy, Sumit Birangal, Vivek Ghate, Sarojini Balladka Kunhanna, and Shaila A Lewis. 2022. "A Supramolecular Thermosensitive Gel of Ketoconazole for Ocular Applications: In Silico, in Vitro, and Ex Vivo Studies." *International Journal of Pharmaceutics* 613: 121409. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121409>.
- Chen, I-Cheng, Chen-Ying Su, Pei-Yu Chen, The C Hoang, Yi-Syue Tsou, and Hsu-Wei Fang. 2022. "Investigation and Characterization of Factors Affecting Rheological Properties of Poloxamer-Based Thermo-Sensitive Hydrogel." *Polymers* 14(24): 5353. doi:10.3390/polym14245353.
- Cirello, Amanda L, Jennifer L Dumouchel, Mithat Gunduz, Christine E Dunne, and Upendra A Argikar. 2017. "In Vitro Ocular Metabolism and Bioactivation of Ketoconazole in Rat, Rabbit and Human." *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 32(2): 121–26. doi:<https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2016.11.001>.
- Conde Penedo, Andrea, Victoria Díaz Tomé, Anxo Fernández Ferreiro, Miguel González Barcia, and Francisco J Otero Espinar. 2021. "Enhancement in Corneal Permeability of Riboflavin Using Cyclodextrin Derivates Complexes as a Previous Step to Transepithelial Cross-Linking." *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 162: 12–22. doi:10.1016/j.ejpb.2021.02.012.
- DelMonte, Derek W, and Terry Kim. 2011. "Anatomy and Physiology of the Cornea." *Journal of cataract and refractive surgery* 37(3): 588–98. doi:10.1016/j.jcrs.2010.12.037.
- Dewan, Mitali, Arpita Adhikari, Rathin Jana, and Dipankar Chattopadhyay. 2023. "Development, Evaluation and Recent Progress of Ocular in Situ Gelling Drug Delivery Vehicle Based on Poloxamer 407." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 88: 104885. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104885>.
- Drouhet, E, and B Dupont. 1983. "Laboratory and Clinical Assessment of Ketoconazole in Deep-Seated Mycoses." *The American journal of medicine* 74(1B): 30–47. doi:10.1016/0002-9343(83)90512-0.
- Dua, Harminder S, Darren Shu Jeng Ting, Ahmed Al Saadi, and Dalia G Said. 2020. "Chemical Eye Injury: Pathophysiology, Assessment and Management." *Eye (London, England)* 34(11): 2001–19. doi:10.1038/s41433-020-1026-6.
- Elim, Diany, Andi Maqfirah Nurul Fitri, Muhammad Alif Sya ban Mahfud, Nur Afika, Nurul Aisha Fitri Sultan, Hijrah, Rangga Meidianto Asri, and Andi Dian Permana. 2023. "Hydrogel Forming Microneedle-Mediated Transdermal Delivery of Sildenafil Citrate

- from Polyethylene Glycol Reservoir: An Ex Vivo Proof of Concept Study." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 222(November 2022): 113018. doi:10.1016/j.colsurfb.2022.113018.
- Faizi, Hafsa Shahid, Muhammad Iqbal Nasiri, Yu Wu, Deepakkumar Mishra, Ryan F Donnelly, Muhammad Usman Minhas, Lalitkumar K Vora, and Raghu Raj Singh Thakur. 2024. "Deferasirox Nanosuspension Loaded Dissolving Microneedles for Ocular Drug Delivery." *International journal of pharmaceutics* 664: 124614. doi:10.1016/j.ijpharm.2024.124614.
- Felton, Timothy, Peter F Troke, and William W Hope. 2014. "Tissue Penetration of Antifungal Agents." *Clinical microbiology reviews* 27(1): 68–88. doi:10.1128/CMR.00046-13.
- Gaballa, Sherif A, Omar H El Garhy, Hossam Moharram, and Hamdy Abdelkader. 2020. "Preparation and Evaluation of Cubosomes/Cubosomal Gels for Ocular Delivery of Beclomethasone Dipropionate for Management of Uveitis." *Pharmaceutical Research* 37(10): 198. doi:10.1007/s11095-020-02857-1.
- Gadziński, Piotr, Anna Froelich, Monika Wojtyłko, Antoni Białek, Julia Krysztofiak, and Tomasz Osmałek. 2022. "Microneedle-Based Ocular Drug Delivery Systems - Recent Advances and Challenges." *Beilstein journal of nanotechnology* 13: 1167–84. doi:10.3762/bjnano.13.98.
- Garg, Prashant, Venkata Vamsi Krishna Venuganti, Aravind Roy, and Girdhari Roy. 2019. "Novel Drug Delivery Methods for the Treatment of Keratitis: Moving Away from Surgical Intervention." *Expert opinion on drug delivery* 16(12): 1381–91. doi:10.1080/17425247.2019.1690451.
- Gaudana, Ripal, J Jwala, Sai H S Boddu, and Ashim K Mitra. 2009. "Recent Perspectives in Ocular Drug Delivery." *Pharmaceutical research* 26(5): 1197–1216. doi:10.1007/s11095-008-9694-0.
- Ghannoum, M A, and L B Rice. 1999. "Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance." *Clinical microbiology reviews* 12(4): 501–17. doi:10.1128/CMR.12.4.501.
- Glover, Katie, Deepakkumar Mishra, Shilpkala Gade, Lalitkumar K Vora, Yu Wu, Alejandro J Paredes, Ryan F Donnelly, and Thakur Raghu Raj Singh. 2023. "Microneedles for Advanced Ocular Drug Delivery." *Advanced Drug Delivery Reviews* 201: 115082. doi:https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.115082.
- Gupta, Bharti, Varsha Mishra, Sankalp Gharat, Munira Momin, and Abdelwahab Omri. 2021. "Cellulosic Polymers for Enhancing Drug Bioavailability in Ocular Drug Delivery Systems." *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)* 14(11). doi:10.3390/ph14111201.
- Harron, Dean. 2009. "Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: The ICH Process." In , 522–33. doi:10.1002/9781444317800.ch21.
- Hoffman, Jeremy J., Simon Arunga, Abeer H.A. Mohamed Ahmed, Victor H. Hu, and Matthew J. Burton. 2022. "Management of Filamentous Fungal Keratitis: A Pragmatic Approach." *Journal of Fungi* 8(10). doi:10.3390/jof8101067.
- Hu, Jie, Di Zhang, Shuli Chen, Xin Wang, Zhiyun Zheng, Shuangying Gui, and Ning He. 2025. "Minimally Invasive Treatment of Fungal Keratitis with Voriconazole Microneedle Corneal Patch." *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 211: 114717. doi:10.1016/j.ejpb.2025.114717.
- Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM). 2010. "Recommended Test Method Protocol: Hen ' s Egg Test – Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) Test Method." *ICCVAM Test Method Evaluation Report* 13(10): B30–38.
- Jambhekar, Sunil S, and Philip Breen. 2016. "Cyclodextrins in Pharmaceutical

- Formulations II: Solubilization, Binding Constant, and Complexation Efficiency." *Drug discovery today* 21(2): 363–68. doi:10.1016/j.drudis.2015.11.016.
- Kakkar, Shilpa, Sankunny Mohan Karuppayil, Jayant S Raut, Fabrizio Giansanti, Laura Papucci, Nicola Schiavone, and Indu Pal Kaur. 2015. "Lipid-Polyethylene Glycol Based Nano-Ocular Formulation of Ketoconazole." *International Journal of Pharmaceutics* 495(1): 276–89. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.08.088.
- Kang, Huizhi, Zhuo Zuo, Ru Lin, Muzi Yao, Yang Han, and Jing Han. 2022. "The Most Promising Microneedle Device: Present and Future of Hyaluronic Acid Microneedle Patch." *Drug delivery* 29(1): 3087–3110. doi:10.1080/10717544.2022.2125600.
- Kawase, Kazuhide, Wenzhong Lin, Yumiko Aoyama, Tetsuya Yamamoto, Masamitsu Shimazawa, and Hideaki Hara. 2010. "Effects of Timolol-Related Ophthalmic Solutions on Cultured Human Conjunctival Cells." *Japanese journal of ophthalmology* 54(6): 615–21. doi:10.1007/s10384-010-0881-2.
- Kemenkes RI. 2018. 2018 *Peta Jalan Penanggulangan Gangguan Penglihatan Di Indonesia Tahun 2017-2030*. <http://www.p2ptm.kemkes.go.id/dokumen-ptm/buku-peta-jalan-penanggulangan-gangguan-penglihatan-di-indonesia-tahun-2017-2030>.
- Khan, Javed, Aatif Khan, Aman Khan, Danish Khan, Abdul Shaikh, and Mirza Salman Baig. 2024. "In Situ Gel: A Promising Ocular Drug Delivery System." *International Journal of Advancement in Life Sciences Research* 07: 65–77. doi:10.31632/ijalsr.2024.v07i03.006.
- Khatoon, Hena, Siti M M Faudzi, and Tamás Sohajda. 2025. "Mechanisms and Therapeutic Applications of B-Cyclodextrin in Drug Solubilisation and Delivery Systems." *Chemistry & Biodiversity*. doi:10.1002/cbdv.202500359.
- Khattab, Abeer, Sarah Marzok, and Magdy Ibrahim. 2019. "Development of Optimized Mucoadhesive Thermosensitive Pluronic Based in Situ Gel for Controlled Delivery of Latanoprost: Antiglaucoma Efficacy and Stability Approaches." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 53: 101134. doi:https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101134.
- Khiev, Dawin, Zeinab A Mohamed, Riddhi Vichare, Ryan Paulson, Sofia Bhatia, Subhra Mohapatra, Glenn P Lobo, et al. 2021. "Emerging Nano-Formulations and Nanomedicines Applications for Ocular Drug Delivery." *Nanomaterials (Basel, Switzerland)* 11(1). doi:10.3390/nano11010173.
- Kim, Dong-Hyun, Sang-Eun Lee, Yong-Chul Pyo, Tran Phuong, and Jeong-Sook Park. 2019. "Solubility Enhancement and Application of Cyclodextrins in Local Drug Delivery." *Journal of Pharmaceutical Investigation* 50: 1–11. doi:10.1007/s40005-019-00434-2.
- Kim, Yoo C, Hans E Grossniklaus, Henry F Edelhauser, and Mark R Prausnitz. 2014. "Intrastromal Delivery of Bevacizumab Using Microneedles to Treat Corneal Neovascularization." *Investigative ophthalmology & visual science* 55(11): 7376–86. doi:10.1167/iovs.14-15257.
- Kurniawansyah, Insan Sunan, Taofik Rusdiana, Iyan Sopyan, Handrian Ramoko, Habibah A. Wahab, and Anas Subarnas. 2020. "In Situ Ophthalmic Gel Forming Systems of Poloxamer 407 and Hydroxypropyl Methyl Cellulose Mixtures for Sustained Ocular Delivery of Chloramphenicol: Optimization Study by Factorial Design." *Heliyon* 6(11). doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05365.
- Lachowicz, Malwina, Andrzej Stańczak, and Michał Kołodziejczyk. 2020. "Characteristic of Cyclodextrins: Their Role and Use in the Pharmaceutical Technology." *Current drug targets* 21(14): 1495–1510. doi:10.2174/1389450121666200615150039.
- Lakhani, Prit, Akash Patil, and Soumyajit Majumdar. 2019. "Challenges in the Polyene- and Azole-Based Pharmacotherapy of Ocular Fungal Infections." *Journal of ocular pharmacology and therapeutics : the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics* 35(1): 6–22. doi:10.1089/jop.2018.0089.

- Larrañeta, Eneko, Jessica Moore, Eva M Vicente-Pérez, Patricia González-Vázquez, Rebecca Lutton, A David Woolfson, and Ryan F Donnelly. 2014. "A Proposed Model Membrane and Test Method for Microneedle Insertion Studies." *International journal of pharmaceutics* 472(1–2): 65–73. doi:10.1016/j.ijpharm.2014.05.042.
- Lee, Jae-ung, Sung-Sik Lee, Sungyul Lee, and Han B Oh. 2020. "Noncovalent Complexes of Cyclodextrin with Small Organic Molecules: Applications and Insights into Host–Guest Interactions in the Gas Phase and Condensed Phase." *Molecules* 25(18): 4048. doi:10.3390/molecules25184048.
- Li, Liping, Fan Jia, Youxiang Wang, Jiamin Liu, Yi Tian, Xinghuai Sun, Yuan Lei, and Jian Ji. 2023. "Trans-Corneal Drug Delivery Strategies in the Treatment of Ocular Diseases." *Advanced Drug Delivery Reviews* 198: 114868. doi:https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.114868.
- Liu, Shuai, Shuohan Xu, Hang Lu, Xueyu Gong, Huaipeng Li, Xinyu Fan, and Hongwei Yang. 2025. "Exploring the Potential of a Thermosensitive in Situ Gel with *Periplaneta Americana* Extracts for Efficient Wound Healing." *Frontiers in Pharmacology* Volume 16. doi:10.3389/fphar.2025.1672818.
- Loftsson, T., & Duchêne, D. 2020. "Cyclodextrins and Their Pharmaceutical Applications." *International Journal of Pharmaceutics*.
- Loftsson, T, and M Masson. 2001. "Cyclodextrins in Topical Drug Formulations: Theory and Practice." *International journal of pharmaceutics* 225(1–2): 15–30. doi:10.1016/s0378-5173(01)00761-x.
- Loftsson, Thorsteinn, and Marcus E Brewster. 2011. "Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins: Effects on Drug Permeation through Biological Membranes." *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 63(9): 1119–35. doi:10.1111/j.2042-7158.2011.01279.x.
- Loftsson, Thorsteinn, Pekka Jarho, Már Másson, and Tomi Järvinen. 2005. "Cyclodextrins in Drug Delivery." *Expert Opinion on Drug Delivery* 2(2): 335–51. doi:10.1517/17425247.2.1.335.
- Lu, Geng, Baohua Li, Luping Lin, Xiaofang Li, and Junfeng Ban. 2024. "Mechanical Strength Affecting the Penetration in Microneedles and PLGA Nanoparticle-Assisted Drug Delivery: Importance of Preparation and Formulation." *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 173: 116339. doi:10.1016/j.biopha.2024.116339.
- Mahmoudi, Shahram, Ahmad Masoomi, Kazem Ahmadikia, Seyed Ali Tabatabaei, Mohammad Soleimani, Sassan Rezaie, Hossein Ghahvechian, and Ali Banafsheafshan. 2018. "Fungal Keratitis: An Overview of Clinical and Laboratory Aspects." *Mycoses* 61(12): 916–30. doi:10.1111/myc.12822.
- Majeed, Bashar J M, Mohammed A Saadallah, Israa H Al-Ani, Mohamed K El-Tanani, Khaldun M Al Azzam, Hassan H Abdallah, and Feras Al-Hajji. 2024. "Evaluation of Solubility, Dissolution Rate, and Oral Bioavailability of β -Cyclodextrin and Hydroxypropyl β -Cyclodextrin as Inclusion Complexes of the Tyrosine Kinase Inhibitor, Alectinib." *Pharmaceutics* 17(6): 737. doi:10.3390/ph17060737.
- Mangolim, Camila Sampaio, Cristiane Moriwaki, Ana Claudia Nogueira, Francielle Sato, Mauro Luciano Baesso, Antônio Medina Neto, and Graciette Matioli. 2014. "Curcumin– β -Cyclodextrin Inclusion Complex: Stability, Solubility, Characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-Ray Diffraction and Photoacoustic Spectroscopy, and Food Application." *Food Chemistry* 153: 361–70. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.067.
- Moawad, Fatma, Roxane Pouliot, and Davide Brambilla. 2025. "Dissolving Microneedles in Transdermal Drug Delivery: A Critical Analysis of Limitations and Translation Challenges." *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society* 383: 113794. doi:10.1016/j.jconrel.2025.113794.

- Morsi, Nadia, Dalia Ghorab, Hanan Refai, and Hoda Teba. 2016. "Ketorolac Tromethamine Loaded Nanodispersion Incorporated into Thermosensitive in Situ Gel for Prolonged Ocular Delivery." *International Journal of Pharmaceutics* 506(1): 57–67. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.04.021>.
- Mostafa, Mahmoud, Adel Al Fatease, Raid G Alany, and Hamdy Abdelkader. 2023. "Recent Advances of Ocular Drug Delivery Systems: Prominence of Ocular Implants for Chronic Eye Diseases." *Pharmaceutics* 15(6). doi:10.3390/pharmaceutics15061746.
- Muankaew, Chutimon, Phatsawee Jansook, and Thorsteinn Loftsson. 2017. "Evaluation of γ -Cyclodextrin Effect on Permeation of Lipophilic Drugs: Application of Cellophane/Fused Octanol Membrane." *Pharmaceutical development and technology* 22(4): 562–70. doi:10.1080/10837450.2016.1180394.
- Müller, Guilherme Gubert, Newton Kara-José, and Rosane Silvestre de Castro. 2013. "Antifúngicos Em Infecções Oculares: Drogas e Vias de Administração." *Revista Brasileira de Oftalmologia* 72.
- Musuc, Adina M. 2024. "Cyclodextrins: Advances in Chemistry, Toxicology, and Multifaceted Applications." *Molecules* 29(22): 5319. doi:10.3390/molecules29225319.
- Niu, Lingzhi, Xin Liu, Zhiming Ma, Yuan Yin, Lixia Sun, Longfei Yang, and Yajuan Zheng. 2020. "Fungal Keratitis: Pathogenesis, Diagnosis and Prevention." *Microbial pathogenesis* 138: 103802. doi:10.1016/j.micpath.2019.103802.
- Omidian, Hossein, Arnavaz Akharmehr, and Erma J Gill. 2025. "Cyclodextrin–Hydrogel Hybrids in Advanced Drug Delivery." *Gels* 11(3): 177. doi:10.3390/gels11030177.
- Onugwu, Adaeze Linda, Chinekwu Sherridan Nwagwu, Obinna Sabastine Onugwu, Adaeze Chidiebere Echezona, Chinazom Precious Agbo, Stella Amarachi Ihim, Prosper Emeh, et al. 2023. "Nanotechnology Based Drug Delivery Systems for the Treatment of Anterior Segment Eye Diseases." *Journal of Controlled Release* 354: 465–88. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.01.018>.
- Pantsar, Tatu, and Antti Poso. 2018. "Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction." *Molecules* 23(8): 1899. doi:10.3390/molecules23081899.
- Patel, Ashaben. 2013. "Ocular Drug Delivery Systems: An Overview." *World Journal of Pharmacology* 2(2): 47. doi:10.5497/wjp.v2.i2.47.
- Patel, Ashaben, Kishore Cholkar, Vibhuti Agrahari, and Ashim Mitra. 2015. "Ocular Drug Delivery Systems: An Overview." *World journal of pharmacology* 2: 47–64. doi:10.5497/wjp.v2.i2.47.
- Patel, Ashaben, Kishore Cholkar, Vibhuti Agrahari, and Ashim K Mitra. 2013. "Ocular Drug Delivery Systems: An Overview." *World journal of pharmacology* 2(2): 47–64. doi:10.5497/wjp.v2.i2.47.
- Permana, Andi Dian, Rifka Nurul Utami, Patricia Layadi, Achmad Himawan, Nana Juniarti, Qonita Kurnia Anjani, Emilia Utomo, et al. 2021. "Thermosensitive and Mucoadhesive in Situ Ocular Gel for Effective Local Delivery and Antifungal Activity of Itraconazole Nanocrystal in the Treatment of Fungal Keratitis." *International Journal of Pharmaceutics* 602: 120623. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120623>.
- Pickel, Julia, Shivananda Narayana, Tiruvengada Krishnan, Seema Ramakrishnan, Puja Prativa Samantaray, Travis C Porco, Travis Redd, Thomas M Lietman, and Jennifer Rose-Nussbaumer. 2020. "The Prognostic Value of Persistent Culture Positivity in Fungal Keratitis in the Mycotic Antimicrobial Localized Injection Trial." *American Journal of Ophthalmology* 215: 1–7. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajo.2020.02.021>.
- Popescu, Irina, Marieta Constantin, Maria Bercea, Bogdan-Paul Coşman, Dana M Suflet, and Gheorghe Fundueanu. 2023. "Poloxamer/Carboxymethyl Pullulan Aqueous Systems—Miscibility and Thermogelation Studies Using Viscometry, Rheology and

- Dynamic Light Scattering." *Polymers* 15(8): 1909. doi:10.3390/polym15081909.
- Putri, Rasma Adelia, Cindy Kristina Enggi, Sulistiawati Sulistiawati, Habiburrahman Burhanuddin, Israini Wiyulanda Iskandar, Rizki Rachmad Saputra, Latifah Rahman, et al. 2024. "Development of Itraconazole Ocular Delivery System Using β -Cyclodextrin Complexation Incorporated into Dissolving Microneedles for Potential Improvement Treatment of Fungal Keratitis." *Journal of biomaterials science. Polymer edition*: 1–28. doi:10.1080/09205063.2024.2380129.
- Qutub, Mohammad, Amol Tatode, Tanvi Premchandani, Jayshree Taksande, Dadaso Mane, and Milind Umekar. 2024. "Blending Induced Variations in Poloxamer's/Pluronic's® Gelation: Thermodynamic and Rheological Perspectives." *JCIS Open* 16: 100126. doi:https://doi.org/10.1016/j.jciso.2024.100126.
- Ranta, Veli-Pekka, and Arto Urtti. 2006. "Transscleral Drug Delivery to the Posterior Eye: Prospects of Pharmacokinetic Modeling." *Advanced Drug Delivery Reviews* 58(11): 1164–81. doi:https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.07.025.
- Rojekar, Satish, Swapnali Parit, Amol D Gholap, Ajit Manchare, Sopan N Nangare, Navnath Hatvate, Vrashabh V Sugandhi, Keshav R Paudel, and Rahul G Ingle. 2024. "Revolutionizing Eye Care: Exploring the Potential of Microneedle Drug Delivery." *Pharmaceutics* 16(11): 1398. doi:10.3390/pharmaceutics16111398.
- Rupenthal, Ilva D, Colin R Green, and Raid G Alany. 2011. "Comparison of Ion-Activated in Situ Gelling Systems for Ocular Drug Delivery. Part 1: Physicochemical Characterisation and in Vitro Release." *International journal of pharmaceutics* 411(1–2): 69–77. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.03.042.
- Rusdin, Agus, Amirah Mohd Gazzali, Nur Ain Thomas, Sandra Megantara, Diah Lia Aulifa, Arif Budiman, and Muchtaridi Muchtaridi. 2024. "Advancing Drug Delivery Paradigms: Polyvinyl Pyrrolidone (PVP)-Based Amorphous Solid Dispersion for Enhanced Physicochemical Properties and Therapeutic Efficacy." *Polymers* 16(2). doi:10.3390/polym16020286.
- Russo, Eleonora, and Carla Villa. 2019. "Poloxamer Hydrogels for Biomedical Applications." *Pharmaceutics* 11(12). doi:10.3390/pharmaceutics11120671.
- Sahay, Pranita, Deepali Singhal, Ritu Nagpal, Prafulla K Maharana, Marjan Farid, Rachel Gelman, Rajesh Sinha, et al. 2019. "Pharmacologic Therapy of Mycotic Keratitis." *Survey of Ophthalmology* 64(3): 380–400. doi:https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2019.02.007.
- Said, Dalia G, Muneer Otri, Ammar Miri, Anusha Kailasanathan, Tasneem Khatib, and Harminder S Dua. 2011. "The Challenge of Fungal Keratitis." *British Journal of Ophthalmology* 95(12): 1623 LP – 1624. doi:10.1136/bjophthalmol-2011-301148.
- dos Santos, Cristina, M Pilar Buera, and M Florencia Mazzobre. 2012. "Influence of Ligand Structure and Water Interactions on the Physical Properties of β -Cyclodextrins Complexes." *Food Chemistry* 132(4): 2030–36. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.044.
- Saokham, Phennapha, Chutimon Muankaew, Phatsawee Jansook, and Thorsteinn Loftsson. 2018. "Solubility of Cyclodextrins and Drug/Cyclodextrin Complexes." *Molecules* 23(5). doi:10.3390/molecules23051161.
- Sapiun, Zulfiayu, Arlan K Imran, Siti Nur Fatimah S. Mohamad, Andi Nur Aisyah, Stephani Stephani, Achmad Himawan, Marianti Manggau, et al. 2024. "Hispidulin-Rich Fraction of Clerodendrum Fragrans Wild. (Sesewanua) Dissolving Microneedle as Antithrombosis Candidate: A Proof of Concept Study." *International Journal of Pharmaceutics*: 124766. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124766.
- Sathyanarayana, Sandeep Divate, Narayana Charyulu Rompicherla, and Anoop Narayanan. 2020. "Development of Thermosensitive Ophthalmic in Situ Gels of Bimatoprost for Glaucoma Therapy." 54(2). doi:10.5530/ijper.54.2s.71.
- Schott, Jennifer A, Chi-Linh Do-Thanh, Weida Shan, Nicolette G Puskar, Sheng Dai, and

- Shannon M Mahurin. 2021. "FTIR Investigation of the Interfacial Properties and Mechanisms of CO₂ Sorption in Porous Ionic Liquids." *Green Chemical Engineering* 2(4): 392–401. doi:<https://doi.org/10.1016/j.gce.2021.09.003>.
- Senjoti, F G, P Timmins, B R Conway, and A M Smith. 2020. "Optimizing Ophthalmic Delivery of a Poorly Water Soluble Drug from an Aqueous in Situ Gelling System." *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 154: 1–7. doi:[10.1016/j.ejpb.2020.06.016](https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2020.06.016).
- Soliman, K., Ullah, K., Shah, A., Jones, D. S., & Singh, T. R. R. 2019. "Poloxamer-Based in Situ Gelling Thermoresponsive Systems for Ocular Drug Delivery Applications School of Pharmacy , Queen ' s University Belfast , Medical Biology Centre , 97 Lisburn Road , Belfast Department of Pharmacy , COMSATS University Islamabad , A." 24(8): 1575-1586.
- Soliman, Karim A, K Ullah, A Shah, David S Jones, and Thakur R R Singh. 2019. "Poloxamer-Based in Situ Gelling Thermoresponsive Systems for Ocular Drug Delivery Applications." *Drug Discovery Today* 24(8): 1575–86. doi:<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.05.036>.
- Stegemann, S, F Leveiller, D Franchi, H de Jong, and H Lindén. 2007. "When Poor Solubility Becomes an Issue: From Early Stage to Proof of Concept." *European journal of pharmaceutical sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences* 31(5): 249–61. doi:[10.1016/j.ejps.2007.05.110](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2007.05.110).
- Sulistiawati, Sulistiawati, Cindy Kristina Enggi, Israini Wiyulanda Iskandar, Rizki Rachmad Saputra, Sartini Sartini, Yusnita Rifai, Latifah Rahman, Muhammad Aswad, and Andi Dian Permana. 2024. "Bioavailability Enhancement of Sildenafil Citrate via Hydrogel-Forming Microneedle Strategy in Combination with Cyclodextrin Complexation." *International Journal of Pharmaceutics* 655(March): 124053. doi:[10.1016/j.ijpharm.2024.124053](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124053).
- Sun, Xiaowen, Junxiang Zhu, Chengqin Liu, Dongfeng Wang, and Chang Yun Wang. 2022. "Fabrication of Fucoxanthin/2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Inclusion Complex Assisted by Ultrasound Procedure to Enhance Aqueous Solubility, Stability and Antitumor Effect of Fucoxanthin." *Ultrasonics Sonochemistry* 90(October): 106215. doi:[10.1016/j.ultsonch.2022.106215](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106215).
- Szente, Lajos, Ashutosh Singhal, Andras Domokos, and Byeongwoon Song. 2018. "Cyclodextrins: Assessing the Impact of Cavity Size, Occupancy, and Substitutions on Cytotoxicity and Cholesterol Homeostasis." *Molecules* 23(5): 1228. doi:[10.3390/molecules23051228](https://doi.org/10.3390/molecules23051228).
- Thakur, Raghu Raj Singh, Ismaiel A Tekko, Farhan Al-Shammari, Ahlam A Ali, Helen McCarthy, and Ryan F Donnelly. 2016. "Rapidly Dissolving Polymeric Microneedles for Minimally Invasive Intraocular Drug Delivery." *Drug Delivery and Translational Research* 6(6): 800–815. doi:[10.1007/s13346-016-0332-9](https://doi.org/10.1007/s13346-016-0332-9).
- Thakur Singh, Raghu Raj, Ismaiel Tekko, Kathryn McAvoy, Hannah McMillan, David Jones, and Ryan F Donnelly. 2017. "Minimally Invasive Microneedles for Ocular Drug Delivery." *Expert opinion on drug delivery* 14(4): 525–37. doi:[10.1080/17425247.2016.1218460](https://doi.org/10.1080/17425247.2016.1218460).
- Thomas, P A, and J Kaliyamurthy. 2013. "Mycotic Keratitis: Epidemiology, Diagnosis and Management." *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 19(3): 210–20. doi:[10.1111/1469-0691.12126](https://doi.org/10.1111/1469-0691.12126).
- Ting, Darren Shu Jeng, Charlotte Shan Ho, Rashmi Deshmukh, Dalia G Said, and Harminder S Dua. 2021. "Infectious Keratitis: An Update on Epidemiology, Causative Microorganisms, Risk Factors, and Antimicrobial Resistance." *Eye (London, England)* 35(4): 1084–1101. doi:[10.1038/s41433-020-01339-3](https://doi.org/10.1038/s41433-020-01339-3).

- Tirucherai, Giridhar S, and Ashim K Mitra. 2003. "Effect of Hydroxypropyl Beta Cyclodextrin Complexation on Aqueous Solubility, Stability, and Corneal Permeation of Acyl Ester Prodrugs of Ganciclovir." *AAPS PharmSciTech* 4(3): E45. doi:10.1208/pt040345.
- Torres, M A, J Mohamed, H Cavazos-Adame, and L A Martinez. 1985. "Topical Ketoconazole for Fungal Keratitis." *American journal of ophthalmology* 100(2): 293–98. doi:10.1016/0002-9394(85)90795-0.
- Trucillo, Paolo. 2022. "Drug Carriers: A Review on the Most Used Mathematical Models for Drug Release." *Processes* 10(6): 1094. doi:10.3390/pr10061094.
- Valente, Artur J M, and Olle Söderman. 2014. "The Formation of Host-Guest Complexes between Surfactants and Cyclodextrins." *Advances in colloid and interface science* 205: 156–76. doi:10.1016/j.cis.2013.08.001.
- Volpe-Zanutto, Fabiana, Lalitkumar K Vora, Ismaiel A Tekko, Peter E McKenna, Andi Dian Permana, Akmal H Sabri, Qonita K Anjani, et al. 2022. "Hydrogel-Forming Microarray Patches with Cyclodextrin Drug Reservoirs for Long-Acting Delivery of Poorly Soluble Cabotegravir Sodium for HIV Pre-Exposure Prophylaxis." *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society* 348: 771–85. doi:10.1016/j.jconrel.2022.06.028.
- Vora, Lalit K, Pradeep R Vavia, Eneko Larrañeta, Steven E J Bell, and Ryan F Donnelly. 2018. "Novel Nanosuspension-Based Dissolving Microneedle Arrays for Transdermal Delivery of a Hydrophobic Drug." *Journal of interdisciplinary nanomedicine* 3(2): 89–101. doi:10.1002/jin2.41.
- Walfish, S. 2006. "Analytical Methods: A Statistical Perspective on the ICH Q2A and Q2B Guidelines for Validation of Analytical Methods TYPES OF ANALYTICAL METHODS." <http://www.biopharminternational.com/biopharm/content/printContentPopup.jsp?id=392483>.
- Wang, Qiuxiang, Aiwen Zhang, Lu Zhu, Xuewen Yang, Guihua Fang, and Bo Tang. 2023. "Cyclodextrin-Based Ocular Drug Delivery Systems: A Comprehensive Review." *Coordination Chemistry Reviews* 476: 214919. doi:10.1016/j.ccr.2022.214919.
- Wu, Yu, Lalitkumar K Vora, Ryan F Donnelly, and Thakur Raghu Raj Singh. 2023. "Rapidly Dissolving Bilayer Microneedles Enabling Minimally Invasive and Efficient Protein Delivery to the Posterior Segment of the Eye." *Drug delivery and translational research* 13(8): 2142–58. doi:10.1007/s13346-022-01190-x.
- Wu, Yumei, Yuanyuan Liu, Xinyue Li, Dereje Kebebe, Bing Zhang, Jing Ren, Jun Lu, et al. 2019. "Research Progress of In-Situ Gelling Ophthalmic Drug Delivery System." *Asian journal of pharmaceutical sciences* 14(1): 1–15. doi:10.1016/j.ajps.2018.04.008.
- Xia, Huiyun, Jingjing Yang, Fei Song, Guojuan Pu, Fudan Dong, Zhen Liang, and Junjie Zhang. 2024. "Development of Ion-Triggered in Situ Gel Containing Ketoconazole/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin for Ocular Delivery: In Vitro and in Vivo Evaluation." *Drug delivery* 31(1): 2424217. doi:10.1080/10717544.2024.2424217.
- Xu, Peng-Wei, Xiao-Fan Yuan, Hang Li, Yuan Zhu, and Bing Zhao. 2023. "Preparation, Characterization, and Physicochemical Property of the Inclusion Complexes of Cannabisin A with β -Cyclodextrin and Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin." *Journal of Molecular Structure* 1272: 134168. doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134168.
- Yadav, Khushwant S, Rahul Rajpurohit, and Sushmita Sharma. 2019. "Glaucoma: Current Treatment and Impact of Advanced Drug Delivery Systems." *Life Sciences* 221: 362–76. doi:https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.02.029.
- Yang, Yingjia, and Alastair Lockwood. 2022. "Topical Ocular Drug Delivery Systems: Innovations for an Unmet Need." *Experimental Eye Research* 218: 109006.

- doi:<https://doi.org/10.1016/j.exer.2022.109006>.
- Yao, Yashu, Yan Xie, Chao Hong, Guowen Li, Hongyi Shen, and Guang Ji. 2014. "Development of a Myricetin/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Inclusion Complex: Preparation, Characterization, and Evaluation." *Carbohydrate Polymers* 110: 329–37. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.006>.
- Youssef, Ahmed, Narendar Dudhipala, and Soumyajit Majumdar. 2020. "Ciprofloxacin Loaded Nanostructured Lipid Carriers Incorporated into In-Situ Gels to Improve Management of Bacterial Endophthalmitis." *Pharmaceutics* 12(6). doi:10.3390/pharmaceutics12060572.
- Zarei Chamgordani, Nasrin, Sasan Asiaei, Fatemeh Ghorbani-Bidkorpeh, Masoud Babaei Foroutan, Mostafa Dahmardehei, and Hamid Reza Moghimi. 2024. "A Long-Lasting Triamcinolone-Loaded Microneedle Patch for Prolonged Dermal Delivery." *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR* 23(1): e138857. doi:10.5812/ijpr-138857.
- Zhang, Junjie, Liya Wang, Changfeng Gao, Li Zhang, and Huiyun Xia. 2008. "Ocular Pharmacokinetics of Topically-Applied Ketoconazole Solution Containing Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrin to Rabbits." *Journal of ocular pharmacology and therapeutics: the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics* 24(5): 501–6. doi:10.1089/jop.2008.0015.
- Zhao, Lin, Jiamei Chen, Bai Bai, Guili Song, Jingwen Zhang, Han Yu, Shiwei Huang, Zhang Wang, and Guanghua Lu. 2023. "Topical Drug Delivery Strategies for Enhancing Drug Effectiveness by Skin Barriers, Drug Delivery Systems and Individualized Dosing." *Frontiers in pharmacology* 14: 1333986. doi:10.3389/fphar.2023.1333986.
- Zheng, Pinxuan, Xueying Liu, Yanqing Jiao, Xuran Mao, Zhaorong Zong, Qi Jia, Heng Bo Jiang, Eui-Seok Lee, and Qi Chen. 2024. "Preparation and Evaluation of Poloxamer/Carbopol In-Situ Gel Loaded with Quercetin: In-Vitro Drug Release and Cell Viability Study." *Tissue engineering and regenerative medicine* 21(8): 1153–71. doi:10.1007/s13770-024-00671-z.

BAB III

TRANSFORMASI KETOKONAZOL KE DALAM SISTEM THERMORESPONSIVE OPHTHALMIC IN SITU GEL OKULAR MELALUI KOMPLEKSASI HP- β -SIKLODEKSTRIN: SUATU PENDEKATAN INOVATIF UNTUK TERAPI KERATITIS JAMUR

3.1 Abstrak

Latar belakang. Pengobatan keratitis jamur merupakan salah satu program pemerintah yang utama karena jika tidak diobati secara efektif maka dapat mengakibatkan kebutaan. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan sediaan *thermoreponsive ophthalmic in situ gel* yang menginkorporasikan kompleks inklusi ketokonazol–hidroksipropil- β -siklodekstrin (gel TOR-KOZ) guna meningkatkan kelarutan, retensi okular, dan efektivitas antijamur. **Metode.** Gel TOR-KOZ diformulasikan menggunakan Poloxamer 407, Poloxamer 188, dan HPMC K100, kemudian dikarakterisasi melalui evaluasi suhu gelasi (*Tsol-gel*), pH, viskositas, sifat mukoadhesif, analisis kandungan zat aktif, permeasi *ex vivo*, uji retensi okular, uji iritasi HET-CAM, serta aktivitas antijamur secara *in vivo*. **Hasil.** Hasil menunjukkan bahwa formula optimal T12 memiliki *Tsol-gel* 37°C, pH 7,4, dan viskositas meningkat dari 69,53 cps (sol) menjadi 7066 cps (gel). Kekuatan mukoadhesif tercatat 150,64 dyne/cm², sedangkan analisis kandungan zat aktif berada pada 99,31%. Studi permeasi *ex vivo* menunjukkan bahwa penghantaran transkorneal dari gel TOR-KOZ pada jam ke 24 sekitar 31,141%. Uji retensi menunjukkan bahwa sekitar 50,11% obat tertahan di mata. Hasil HET-CAM mengonfirmasi keamanan sediaan tanpa indikasi iritasi. Aktivitas antijamur secara *in vivo* pada model infeksi kornea pada kelinci memperlihatkan penurunan beban jamur hingga mencapai 66%, setelah 14 hari terapi. **Kesimpulan.** Secara keseluruhan, formulasi gel TOR-KOZ berhasil meningkatkan retensi okular dan aktivitas antijamur dengan profil keamanan yang baik, sehingga berpotensi sebagai sistem penghantaran obat okular yang lebih efektif untuk terapi infeksi jamur.

Kata kunci : Ketokonazole, Thermoresponsive in situ gel, keratitis jamur

3.2 Pendahuluan

Keratitis jamur pada mata masih menjadi masalah klinis yang serius terutama di wilayah tropis. Penyakit ini biasanya diakibatkan oleh infeksi *Candida albicans*. (S. Ahmed et al. 2022). Pengobatan yang tidak tepat pada penyakit ini dapat mengakibatkan gangguan penglihatan yang permanen. Saat ini pengobatan secara topikal masih menjadi pilihan utama, namun keberhasilan terapi ini dibatasi oleh kelarutan obat antifungi yang rendah dan mudah tereliminasi cepat di permukaan mata akibat basuhan air mata dan refleks berkedip, sehingga bioavailabilitas okular sangat rendah (S. Ahmed, Amin, and Sayed 2023).

Salah satu antifungi yang biasa digunakan untuk menangani keratitis jamur pada mata adalah ketokonazol (KOZ). KOZ merupakan senyawa dengan berat molekul yang besar yaitu 531,4 g/mol. Senyawa ini tergolong dalam *Biopharmaceutical Classification*

System (BCS) kelas II yang memiliki kelarutan yang rendah dan permeabilitas yang tinggi dengan sifat senyawa lipofilik, nilai Log P = 4.3 dan kelarutan 0,29 mg/L (Kakkar et al. 2015). Sifat kelarutan dari KOZ ini dapat mempengaruhi efektivitas pengobatan karena lingkungan mata yang pertama kontak dengan obat adalah air mata, sehingga KOZ tidak bisa larut dalam air mata.

Keterbatasan dari KOZ ini dapat diatasi dengan kompleksasi menggunakan polimer siklodekstrin yang akan membentuk kompleks inklusi. Siklodextrin akan mengkapsulasi KOZ yang bersifat lipofilik, sehingga meningkatkan kelarutan terlarut, mencegah kristalisasi, dan mungkin meningkatkan permeasi dan stabilitas obat dalam matriks air (dos Santos, Buera, and Mazzobre 2012) (Majeed et al. 2024). Hidroksi propil beta siklodekstrin (HP- β -CD) merupakan salah satu jenis siklodextrin yang umum digunakan sebagai kompleks inklusi dibanding dengan β siklodekstrin, disebabkan β siklodekstrin mempunyai kelarutan yang rendah di air. Gugus hidroksipropil pada HP- β -CD dapat memecahkan ikatan hydrogen intramolekuler, sehingga membuat HP- β -CD lebih larut dibanding β -CD (Xu et al. 2023).

Selain keterbatasan dari KOZ, mata sebagai lokasi pengobatan juga memiliki sistem pertahanan sendiri. Di mata terdapat air mata yang berfungsi sebagai pembersihan mata atau *washout* serta refleks berkedip yang dapat menghilangkan sediaan dari mata (Li et al. 2023). Pemberian obat secara topikal secara umum hanya memberikan 1-5% dari dosis obat yang dapat menembus kornea (Yang and Lockwood 2022). Oleh karena itu dibutuhkan suatu sistem yang efektif untuk menghantarkan dan mempertahankan kontak KI-KOZ di mata.

Salah satu pendekatan yang dapat mengatasi halangan mata di atas adalah penggunaan *thermoreponsive in situ gel* (TOR). TOR adalah sediaan yang berbentuk larutan pada suhu rendah dan berubah menjadi gel ketika mencapai suhu fisiologis permukaan mata ($\sim 34\text{--}37^\circ\text{C}$). Teknologi ini menawarkan banyak keuntungan yaitu mudah diteteskan, mampu memperpanjang kontak obat dengan kornea, meningkatkan retensi, serta menghasilkan pelepasan obat yang lebih stabil (Chaiwut et al. 2025). Poloxamer 407 (P407) dan Poloxamer 188 (P188) merupakan dua polimer nonionik yang paling sering digunakan dalam formulasi in situ gel okular karena profil keamanan yang baik, sifat gelasi yang dapat dikontrol, dan kompatibilitasnya dengan banyak zat aktif (Dewan et al. 2023) (Soliman, K., Ullah, K., Shah, A., Jones, D. S., & Singh 2019).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian mengenai *Thermoresponsive Ophthalmic In Situ Gel* yang menginkorporasi KI-KOZ menjadi sangat relevan, mutakhir, dan memiliki kontribusi nyata terhadap pengembangan sistem penghantaran obat mata yang lebih efektif dan aman.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasetik dan Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin serta di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Makassar,

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Ketokonazol (KOZ) yang telah dibuat dalam bentuk kompleks inklusi HP- β -CD (karakteristik kompleks inklusi telah dibahas pada Bab II). Pluronic® F127 (F127) atau Poloxamer 407 (P407), Pluronic® F68 (F68) atau Poloxamer 188 (P188) dan HPMC K100 diperoleh dari Sigma-Aldrich Pte

Ltd). Etanol 96% p.a (Merck®) dan benzalkonium clorida (BZK). Semua bahan dan reagen lainnya yang digunakan memiliki kualitas derajat analitik.

3.3.1 Optimasi Formula Sediaan Gel TOR-KOZ

Tabel 3.1 Rancangan Formula Sediaan Gel TOR-KOZ

Komposisi (%b/b)	Formula														
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15
P407	20	20	17,5	20	15	17,5	17,5	17,5	15	15	20	17,5	15	20	15
P188	0	7,5	0	0	0	7,5	3,75	3,75	7,5	7,5	3,75	3,75	0	7,5	3,75
HPMC	0,5	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5	0,5	1,5	0,5	1	1	1,5	1,5	1
KI-KOZ	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
BZK	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Air suling	ad 100														

Formula sediaan gel TOR-KOZ dirancang dalam 15 formula. Respons diamati sebagai karakteristik fisika-kimia gel okular yang dihasilkan, meliputi suhu sol-gel (Tsol-gel), pH, viskositas pada suhu 4°C, 25°C dan 37°C, kekuatan mukoadhesif dan kandungan obat. Formulasi optimum ditentukan sebagai gel in situ dengan suhu sol-gel pada suhu 37°C.

3.3.2 Formulasi *Thermoresponsive Ophthalmic In Situ Gel Kompleks Inklusi Ketokonazol HP β Siklodextrin* (gel TOR-KOZ)

Sediaan gel TOR-KOZ dibuat berdasarkan rancangan pada Tabel 3.1 yang dibuat menggunakan modifikasi metode dingin. Kedua poloxamer dilarutkan dalam air suling pada suhu 4°C sambil diaduk terus-menerus. Campuran kemudian didiamkan dalam lemari es selama 24 jam untuk memaksimalkan proses pelarutan. Setelah itu ditambahkan KI-KOZ yang optimal setara dengan 10% b/v KOZ murni (dimana uji karakteristiknya telah dipaparkan pada Bab II) dan benzalkonium klorida sebagai pengawet (Permana et al. 2021)

3.3.3 Karakteristik gel TOR-KOZ

3.3.3.1 Penentuan Suhu Sol-Gel (Tsol-gel)

Suhu transisi sol-gel ditentukan dengan menempatkan 2 mL gel TOR-KOZ dalam tabung reaksi dan dipanaskan dalam penangas air. Tabung diputar 90°. Setiap kenaikan 1°C suhu pada air penangas dilakukan penentuan Tsol-gel di mana gel tidak mengalir saat tabung diputar. Pengujian dilakukan dengan replikasi tiga kali (Khattab, Marzok, and Ibrahim 2019).

3.3.3.2 Penentuan pH

Nilai pH ditentukan menggunakan pH meter digital yang telah dikalibrasi sebelumnya. Pengukuran diulang tiga kali (n=3)

3.3.3.3 Penentuan Viskositas

Viskositas gel TOR-KOZ diukur menggunakan viskometer Brookfield. Pengukuran dilakukan pada tiga suhu berbeda yaitu 4°C sebagai tempat penyimpanan suhu, 25°C yaitu suhu kamar, dan fisiologis mata suhu 37°C. Sebanyak 5 g sampel gel TOR-KOZ disiapkan dalam gelas kimia, dan spindel diputar dengan kecepatan rata-rata 10 sampai 100 rpm.

3.3.3.4 Uji Kekuatan Mukoadhesif

Uji kekuatan mukoadhesif dilakukan dengan metode skala keseimbangan yaitu telah dilakukan pada penelitian sebelumnya dengan modifikasi. Dua buah vial disiapkan pada satu sisi neraca dalam keadaan bertolakan. Mata babi ditempelkan pada dasar setiap vial. Pada salah satu vial, 3 mL gel TOR-KOZ ditempatkan pada permukaan mata pada vial tersebut. Kemudian dasar vial yang lain ditempelkan pada permukaan mata yang terdapat gel dan dibiarkan selama dua menit. Di sisi lain skala, diberi beban hingga kedua vial terpisah. Kekuatan mukoadhesif dihitung dengan mengukur berat beban yang diberikan pada rumus (1). Pengujian ini dilakukan di suhu terkontrol (37°C) dan diulang tiga kali.

$$\text{Kekuatan Bioadhesi (dyne cm}^2\text{)} = \frac{m \times g}{A} \quad (1)$$

Dimana m adalah berat beban yang diberikan (g), g adalah percepatan gravitasi (980 cm/s²) dan A adalah luas permukaan membran mata yang kontak dengan gel (Morsi et al. 2016).

3.3.3.5 Analisis Kandungan Zat Aktif

Sejumlah gel TOR-KOZ (setara 10 mg KOZ) dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% absolut, disonikasi selama 4 jam, kemudian disentrifugasi menggunakan Eppendorf Centrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Absorbansi supernatan kemudian ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 224 nm.

3.3.3.6 Uji *Hen's Egg Test on The Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) secara In Vitro*

Uji iritasi okular *in vitro* dilakukan menggunakan metode HET-CAM sesuai dengan "*ICCVAM-Recommended Test Method Protocol*" untuk mengevaluasi potensi iritasi okular dari gel TOR-KOZ (ICCVAM, 2010). Telur ayam yang telah dibuahi diinkubasi pada suhu 37 ± 2°C dengan kelembapan relatif 58 ± 2% selama 8 hari. Pada hari ke-9, telur yang masih hidup diidentifikasi melalui proses *candling* dan kemudian dibuka secara hati-hati pada bagian kantung udara untuk mengekspos membran korioalantois (CAM).

Bahan uji, NaOH 0,1 M (kontrol positif) dan NaCl 0,9% (kontrol negatif), disiapkan dalam kondisi steril. Sebanyak 0,3 mL dari masing-masing sampel diaplikasikan secara perlahan pada permukaan CAM. Perubahan morfologis diamati dan didokumentasikan pada menit ke-0, 0,5, 2, dan 5 setelah aplikasi, dengan fokus pada

tanda-tanda iritasi seperti perdarahan (*hemorrhage*), lisis, dan koagulasi pembuluh darah.

Table 3.2. Skema Penilaian untuk Pengujian Iritasi menggunakan metode uji HET-CAM

Efek	Skor		
	0.5 menit	2 menit	5 menit
<i>Hemorrhage</i>	7	5	3
Lisis	5	3	1
Koagulasi	9	7	5

Tabel 3.3. Skor iritasi sistem klasifikasi HET-CAM

Skor	Klasifikasi
0-0,9	Tidak isitasi atau praktis tidak mengiritasi
1-4,9	Lemah atau sedikit mengiritasi Weak
5-8,9 or 5-9,9	Iritasi sedang
9-21 or 10-21	Iritasi kuat atau parah

Skor HETCAM dihitung dengan persamaan :

$$\text{Skor HETCAM} = \text{Skor hemorrhage} + \text{skor lisis} + \text{skor koagulasi.} \quad (2)$$

3.3.3.7 Uji Permeasi *Ex-Vivo*

Studi permeasi secara *ex vivo* dilakukan dengan menggunakan kornea mata babi pada peralatan sel difusi Franz. Kornea babi dipasang di antara kompartemen donor dan kompartemen reseptor di sel Franz. Gel TOR-KOZ diaplikasikan pada bagian atas kornea dengan tekanan manual selama 30 detik. Sebuah silinder seberat 5,0 g ditempatkan di atas gel TOR-KOZ (setara 10 mg KOZ) untuk menghindari pergeseran selama percobaan. Cairan air mata buatan (pH 7,4) digunakan sebagai media di kompartemen reseptor. Kompartemen donor ditempatkan di atas kompartemen reseptor. Pengujian ini dilakukan pada suhu $37 \pm 2^\circ\text{C}$ dan diaduk pada kecepatan 100 rpm. Pengambilan sampel medium (1 mL) dari kompartemen reseptor dilakukan pada interval waktu yang telah ditentukan (0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 dan 24 jam ($n=3$)) dan segera diganti dengan medium segar dalam volume yang sama. Sampel yang dikumpulkan kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 249 nm. Hal yang sama dilakukan untuk sediaan salep mata dan tetes mata (setara 10 mg KOZ).

3.3.3.8 Uji Retensi Okular secara *Ex Vivo*

Uji retensi okular untuk sediaan gel TOR-KOZ, salep mata dan tetes mata dilakukan dengan menggunakan kornea mata babi pada pengujian permeasi. Kornea dikeluarkan dan kemudian dibersihkan dengan air mata buatan. Selanjutnya kornea tersebut dipotong-potong dan diekstraksi menggunakan etanol 96% sebanyak 10 mL. Sampel disonikasi selama 30 menit, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm

selama 15 menit. Serapan supernatan diukur menggunakan spektrofotometer UV Vis pada panjang gelombang 224 nm (Abdellatif et al. 2020).

3.3.3.9 Aktivitas antijamur *in-vivo* dari gel TOR-KOZ dalam model kelinci

Aktivitas antijamur *in vivo* dievaluasi menggunakan model infeksi keratitis jamur pada kelinci. Semua prosedur hewan telah ditinjau dan disetujui oleh Komite Etik Hewan Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin (nomor protokol 1182/UN4.17/KP.06.05/2025). Kelinci jantan berwarna putih (usia 4–6 minggu, berat 2,0–2,5 kg) diaklimatisasi selama 7 hari dalam kondisi terkontrol (suhu ruangan, kelembaban relatif 50–60%) sebelum percobaan dimulai. Setelah 7 hari, hewan dianestesi menggunakan dietil eter, dan 100 μ L suspensi *C. albicans* (1×10^7 CFU/mL) diinjeksi secara intrastromal ke dalam kornea. Setelah terbukti terjadi perkembangan keratitis, kelinci dibagi secara acak ke dalam empat kelompok ($n = 3$): (i) kontrol tanpa perlakuan, (ii) gel TOR-KOZ, (iii) salep mata, dan (iv) sediaan tetes mata.

Perlakuan diberikan setiap hari selama 14 hari berturut-turut. Untuk kelompok gel TOR-KOZ (setara 0,42 mg), gel diaplikasikan pada permukaan kornea. Untuk kelompok tetes mata dan salep mata (setara 0,42 mg), sediaan diteteskan atau dioleskan langsung pada permukaan kornea. Sampel jamur dari mata dikumpulkan setiap hari menggunakan swab steril. Setiap swab dicelupkan ke dalam 9 mL air steril, dan sejumlah 1 mL diencerkan secara serial (10^{-1} hingga 10^{-5}). Dari setiap pengenceran, 1 mL dituangkan ke cawan petri berisi PDA. Cawan kemudian diputar perlahan untuk memastikan distribusi yang merata dan diinkubasi pada 25°C selama 48 jam. Jumlah koloni jamur dihitung menggunakan *colony counter* berdasarkan metode hitung cawan standar (*standard plate count method*).

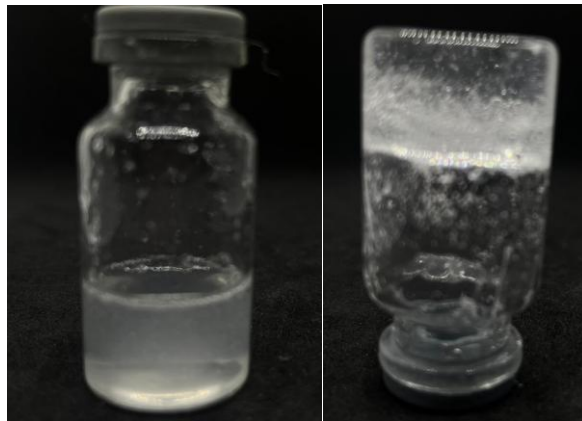
3.3.4 Analisis Statistik

Analisis statistik dan pembuatan grafik pada penelitian ini dilakukan menggunakan GraphPad Prism versi 10.4.0 (GraphPad Software, USA). Kecuali dinyatakan lain, seluruh hasil disajikan sebagai rerata $\pm$ simpangan baku. Perbedaan antara dua kelompok dianalisis menggunakan *paired t-test*, sedangkan perbandingan antar kelompok (>2 kelompok) dievaluasi menggunakan *one-way analysis of variance* (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji *post hoc* yang sesuai apabila diperlukan. Nilai $p < 0,05$ dianggap menunjukkan signifikansi secara statistik.

3.4 Hasil dan Pembahasan

3.4.1 Penentuan Suhu Sol-Gel (Tsol-gel)

Penentuan Tsol-gel merupakan pengujian yang sangat penting dalam sistem penghantaran obat di okular. Transisi sol-gel mengacu pada perubahan larutan cair menjadi gel yang diakibatkan oleh rangsangan lingkungan seperti perubahan suhu. Dengan adanya perubahan ini, keadaan cair memberikan kemudahan sediaan untuk diaplikasikan, sedangkan keadaan gel setelah kontak dengan perubahan suhu, memberikan kesempatan obat untuk kontak lebih lama dengan jaringan mata sehingga obat bisa terlokalisasi dan memberikan efek terapeutik yang berkepanjangan.



Gambar 3.1 Pengujian Tzol-gel pada gel TOR-KOZ

Untuk sediaan *thermoresponsive in situ gel*, kisaran Tzol-gel yang dapat diterima adalah 30–37 °C (Khattab, Marzok, and Ibrahim 2019). Pada tabel 3.4 memperlihatkan suhu Tzol-gel untuk 15 formula. Terdapat 3 formula yang masuk dalam rentang kisaran Tzol-gel yang diterima yaitu formula T4 pada suhu 32 °C, T12 pada suhu 37 °C dan T14 pada suhu 32°C. Sedangkan 12 formula lain tidak masuk dalam kisaran yang ditentukan. Dua formula (T2 dan T11) berada di bawah suhu 30 °C dan 10 formula (T1, T3, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T13, T15) berada di atas suhu 37 °C.

Formulasi yang menggels <~32–33°C (mis.T2, T11) berisiko menggels saat penyimpanan di suhu ruang pada daerah beriklim hangat atau bahkan selama penanganan, sehingga sulit untuk ditetesi sebagai tetes mata (mengganggu instilasi dan *dose uniformity*). Formulasi yang menggels >37°C (43–70°C) tidak akan membentuk gel pada permukaan mata sehingga akan bersifat seperti tetes biasa (larutan encer). Hal ini mengakibatkan minimalnya retensi dan bioavailabilitas yang diharapkan dari *in-situ gel*.

Dalam pembuatan *thermoresponsive gel in situ*, polimer yang banyak digunakan adalah poloxamer. Salah satunya adalah P407 dimana bahan ini terdiri dari 70% polietilen oksida (PEO) dan 30% polipropilena oksida (PPO). Polimer ini dalam sistem gel *in situ* dapat meningkatkan ketersediaan hayati dan memperpanjang durasi tinggal obat dalam aplikasi mata (Sathyanarayana, Rempicherla, and Narayanan 2020) (Soliman et al. 2019) (Gaudana et al. 2009). Blok rangkap tiga kopolimer PEO-PPO-PEO mengalami gelasi pada suhu tubuh dalam konsentrasi di atas 15% (b/b). Mekanisme yang menjelaskan transisi fase sol-gel pada suhu yang meningkat adalah desolvasi polimer secara bertahap, peningkatan agregasi misel, dan peningkatan keterikatan jaringan polimer (Yumei Wu et al. 2019). Namun, penggunaan P407 saja dapat menimbulkan tantangan seperti waktu tinggal yang relatif singkat dan P407 memiliki beberapa keterbatasan untuk aplikasi tertentu karena kekuatan gelnnya yang tidak mencukupi dan pelarutan yang cepat merupakan kekurangan bahan ini (Chen et al. 2022). Untuk mengatasi keterbatasan ini dan meningkatkan sifat gel, P188 ditambahkan ke dalam formulasi hidrogel bersama dengan P407 (Soliman et al. 2019) (Kurniawansyah et al. 2020). Pada penelitian Liu dkk. menunjukkan bahwa rasio polimer termoreversibel

seperti P407 dan P188 secara signifikan memengaruhi Tgel, membangun kontrol yang tepat atas transisi yang diperlukan untuk aplikasi klinis (Liu et al. 2025).

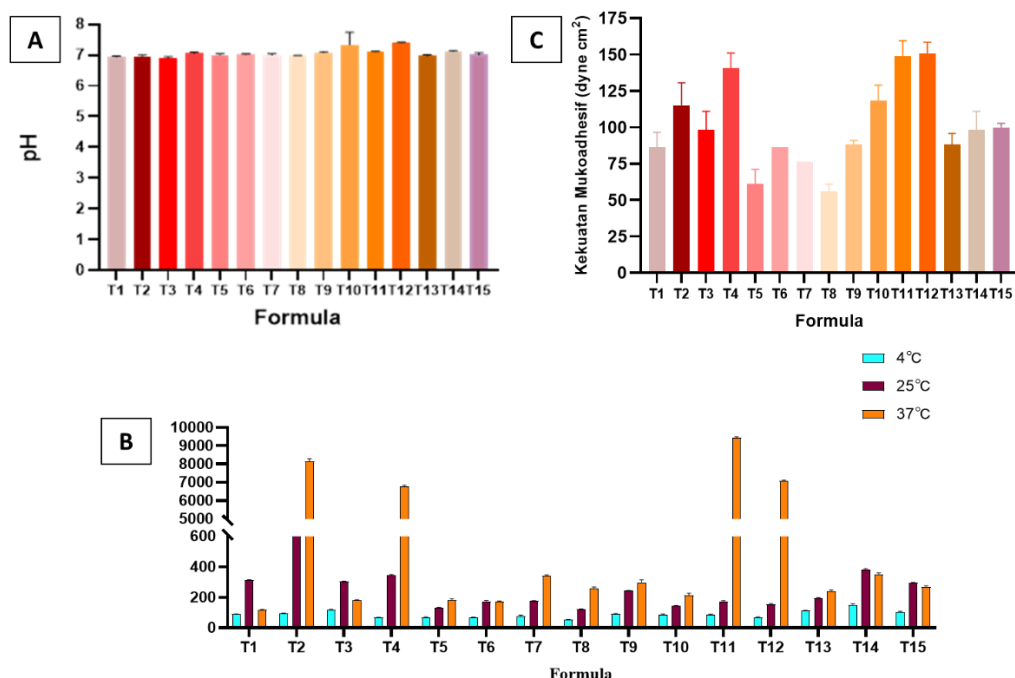
Tabel 3.4 Suhu Tsol-gel Sediaan gel TOR-KOZ

Formula	Suhu Sediaan berubah Jadi Gel (°C)
T1	46
T2	28
T3	45
T4	32
T5	70
T6	49
T7	52
T8	63
T9	43
T10	45
T11	29
T12	37
T13	45
T14	32
T15	43

3.4.2 Penentuan pH

Pada pengukuran pH sediaan diperoleh 13 formula (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T11, T13, T14 dan T15) mempunyai pH dibawah 7,25. Sedangkan dua formula lainnya (T10 dan T12) (Gambar 3.2A), memiliki pH dikisaran pH mata normal yaitu 7,25-7,4. (DeMonte and Kim 2011). pH sediaan diusahakan mendekati pH fisiologis mata untuk meminimalkan iritasi dan ketidaknyamanan. Jika sediaan memiliki pH sangat berbeda dari fisiologis (terlalu asam atau terlalu basa), dapat memicu refleks air mata, rasa perih, iritasi, atau ketidaknyamanan.

Tiga formula (T4, T12 dan T14) yang memiliki suhu Tsol-gel yang memenuhi syarat namun formula T4 dan T14 memiliki pH yang tidak masuk dalam persyaratan yaitu 7,06 dan 7,12. Hanya T12 yang memiliki pH masuk dalam range persyaratan (7,40).



Gambar 3.2 pH Sediaan gel TOR-KOZ (A); Viskositas Sediaan gel TOR-KOZ) (cps) (n=3) pada suhu 4°C, 25°C, dan 37°C (B); Kekuatan Mukoadhesif dari 15 Formula. Data disajikan dalam bentuk rata-rata (n=3)

3.4.3 Penentuan Viskositas

Untuk menilai sifat termoreversible dari gel in situ berbasis P407 dan P188, viskositas diukur pada suhu 4°C, 25°C, dan 37°C. Profil viskositas pada gambar 3.2B menunjukkan pola kenaikan bertahap yang serupa dengan fenomena gelasi termal yang umum untuk kopolimer blok PEO–PPO–PEO. Dalam hal ini, perubahan suhu menyebabkan perubahan transisi struktural dari fase sol encer ke fase gel.

Secara umum, sediaan TOR pada suhu 4°C memiliki viskositas yang rendah sehingga berada dalam keadaan fase *sol*. Kondisi ini menunjukkan keadaan molekuler di mana segmen PPO tetap hidrofilik dan belum terjadinya pembentukan micelle yang stabil sehingga poloxamer berada dalam bentuk unimer yang terdispersi bebas dalam larutan. Viskositas rendah pada suhu ini disebabkan oleh minimnya interaksi antar-polimer dan tingginya mobilitas rantai molekul. Fenomena ini konsisten dengan perilaku larutan poloxamer di bawah *critical micellization temperature* (CMT), dimana micellization belum berlangsung hingga suhu meningkat (Russo and Villa 2019) (Qutub et al. 2024) (Bodratti and Alexandridis 2018).

Peningkatan viskositas yang signifikan mulai teramati ketika suhu dinaikkan hingga 25 °C, meskipun sediaan masih berada dalam fase sol kental. Pada rentang suhu ini, segmen polypropylene oxide (PPO) mengalami peningkatan hidrofobisitas akibat dehidrasi parsial, sehingga memicu pembentukan micelle dengan inti hidrofobik. Pembentukan micelle awal ini meningkatkan resistensi aliran dan viskositas sistem, namun jaringan gel tiga dimensi belum terbentuk karena asosiasi antar-micelle masih

belum cukup rapat. Fenomena ini menggambarkan fase pre-gelation, di mana suhu kamar berperan sebagai zona transisi penting antara keadaan sol dan gel pada sistem poloxamer dengan konsentrasi menengah (Chen et al. 2022) (Popescu et al. 2023) (Abbas et al. 2022).

Terjadi peningkatan viskositas yang signifikan pada suhu 37 °C (hampir sama dengan suhu fisiologis okular) yang menunjukkan terbentuknya jaringan gel tiga dimensi yang stabil. Pada kondisi ini, segmen PPO menjadi sangat hidrofobik, menyebabkan pembungkusan micelle yang rapat dan peningkatan interaksi antar-micelle. Proses ini menghasilkan struktur gel yang viskoelastik serta meningkatkan retensi sediaan pada permukaan okular. Kekuatan gel pada suhu fisiologis penting untuk mengurangi kehilangan air, meningkatkan bioavailabilitas, dan memperpanjang waktu tinggal obat di mata. Hasil ini konsisten dengan pengamatan bahwa poloxamer tetap sebagai larutan pada suhu rendah dan berubah menjadi viskoelastik gel pada suhu tubuh, serta menunjukkan transisi gelasi yang tajam sekitar 30–37 °C (Brambilla et al. 2022) (Qutub et al. 2024)(Zheng et al. 2024).

Diketahui bahwa fungsi masing-masing poloxamer turut mempengaruhi profil viskositas. Dengan fraksi PPO yang lebih tinggi daripada P188, poloxamer 407 dengan blok PPO lebih panjang cenderung mengalami micellization dan gelasi termal pada suhu lebih rendah karena peningkatan hidrofobisitas inti micelle, sedangkan poloxamer yang lebih hidrofilik (seperti P188 dengan fraksi PEO lebih besar) menunjukkan gelasi pada suhu yang lebih tinggi. Kombinasi kedua poloxamer ini memungkinkan penyesuaian viskositas dan suhu gelasi yang ideal untuk aplikasi okular. Fenomena ini konsisten dengan perilaku triblok PEO–PPO–PEO di mana rasio PPO/PEO dan panjang blok PPO memengaruhi *critical micelle temperature* (CMT) serta pembentukan jaringan gel pada suhu fisiologis (Russo and Villa 2019) (Qutub et al. 2024) (Bodratti and Alexandridis 2018).

Secara keseluruhan, profil viskositas pada ketiga suhu mengindikasikan bahwa formula berhasil menunjukkan karakteristik *thermo-triggered in situ gelling system* yang diinginkan, dengan viskositas rendah pada suhu rendah untuk memfasilitasi penetesan, dan peningkatan viskositas tajam pada suhu fisiologis untuk memastikan gelasi dan retensi okular yang optimal.

Berdasarkan gambar di atas diperoleh bahwa semua formula pada suhu 4°C menjadi sol sehingga memiliki viskositas yang rendah pula (50-120 cp). Seiring kenaikan suhu pada menuju ke suhu 25°C, maka viskositas juga meningkat. Namun pada suhu 37°C, beberapa formula mengalami penurunan viskositas yaitu pada formula T1 dan T3. Penurunan viskositas yang diamati pada T1 dan T3 pada 37 °C kemungkinan disebabkan oleh komposisi poloxamer yang tidak cukup mendukung pembentukan jaringan gel 3D yang stabil pada suhu fisiologis. Tanpa dukungan HPMC yang memadai dan proporsi blok PPO yang optimal, struktur gel gagal terbentuk secara kompak, sehingga viskositas menurun kembali saat suhu mencapai 37 °C fenomena yang selaras dengan konsep transisi micellization dan gelation pada poloxamer.

3.4.4 Uji Kekuatan Mukoadhesif

Pengujian sifat mukoadhesif dilakukan untuk mengetahui sifat pelekatan sediaan pada jaringan mata. Sifat bioadhesif ini sangat diperlukan dalam formulasi sediaan mata

karena dapat membantu lama obat dalam bekerja di jaringan mata sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas obat. Bahan yang ditambahkan dalam formula di atas untuk tujuan tersebut adalah HPMC K100. HPMC merupakan salah satu derivat selulosa yang bersifat mukoadhesif dan sekaligus sebagai pengental yang meningkatkan interaksi dengan lapisan musin pada jaringan mata. Saat HPMC berkontak dengan jaringan yang berlendir (musin), polimer menyebar dan menyebabkan pembengkakan (*swelling*) sediaan. Setelah terjadi hal ini, kemudian polimer mukoadhesif diaktifkan dengan adanya kelembaban, yang menyebabkan molekul-molekul terpecah bebas dan bergabung melalui gaya van der Waals dan ikatan hidrogen dengan glikoprotein pada musin, serta penetrasi rantai polimer ke dalam lapisan mukus melalui proses *interpenetration* yang memperkuat adhesi (Gupta et al. 2021).

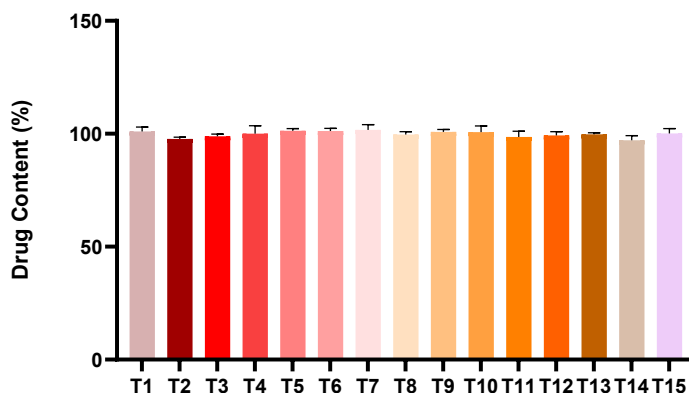
Pada gambar 3.2C menunjukkan bahwa T11 dan T12 menghasilkan kekuatan mukoadhesif yang besar ($148,95 \text{ dyne.m}^2$ dan $150,64 \text{ dyne.m}^2$) dibanding dengan formula lain. Namun T11 tidak memenuhi persyaratan di Tsol-gel (29°C) dan nilai pH pada 7,10. Sedangkan formula lain menghasilkan kekuatan mukoadhesif berada di bawah kedua formula di atas.

Formula T12 yang mengandung secara berturut-turut P407, P188 dan HPMC K100 (17,5%; 3,75%; 1%). Sehingga untuk pengujian selanjutnya formula T12 menjadi formula yang paling optimum digunakan.

3.4.5 Analisis Kandungan Zat Aktif

Analisis kandungan zat aktif dalam sediaan gel TOR-KOZ dilakukan untuk memastikan kadar konsentrasi zat aktif dalam sediaan. Semua formula memperlihatkan kadar $\pm 10 \text{ mg per g}$. Hasil yang diperoleh dapat dilihat bahwa kandungan zat aktif semua formula berada di sekitaran persyaratan ICH (Konferensi Internasional tentang Harmonisasi) yaitu 95–105% (Harron 2009). Hasil ini menunjukkan bahwa

semua formula memenuhi persyaratan pedoman ICH termasuk formula terpilih (T12 sebesar 99,31%). Secara statistik, seluruh formulasi (Gambar 3.3) tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$), yang berarti bahwa semua eksipien yang digunakan dalam formulasi TOR tidak secara signifikan memengaruhi kadar obat setelah dimasukkan ke dalam basis TOR.



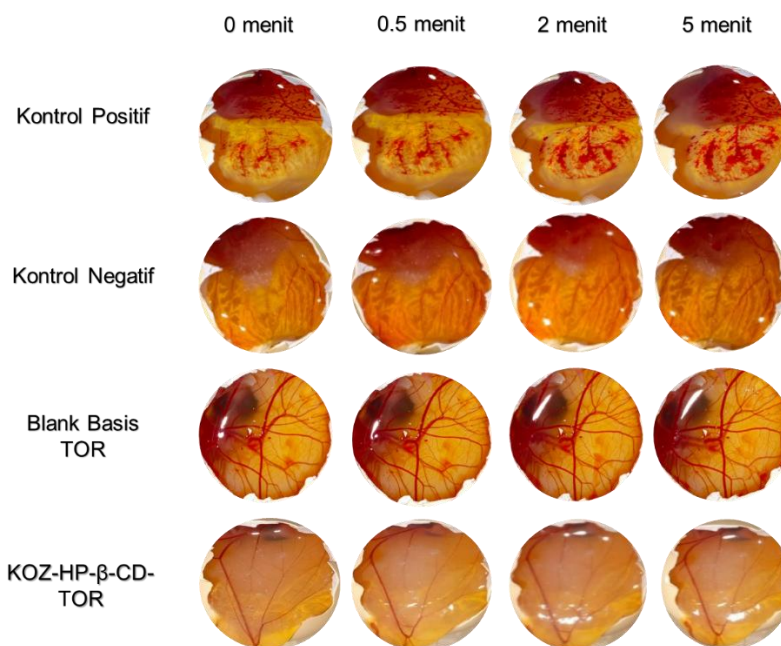
Gambar 3.3 Kandungan zat aktif dari 15 Formula gel TOR-KOZ (Data disajikan sebagai rata-rata $\pm$ SD ($n=3$)).

3.4.6 Uji *Hen's Egg Test on The Chorioallantoic Membrane* (HET-CAM) secara *In Vitro*

Uji *Hen's Egg Test on the Chorioallantoic Membrane* (HET-CAM) merupakan metode alternatif untuk menilai potensi iritasi mukosa konjungtiva dan kornea pada tahap awal formulasi oftalmik, berdasarkan timbulnya tiga endpoint vasokular: *hemorrhage* (pendarahan), *vessel lysis* (lisis pembuluh), dan *coagulation* (koagulasi). Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada gambar 3.4 menunjukkan bahwa kontrol positif (NaOH 0,1 M) memberikan efek hemoragik yang signifikan pada telur, menunjukkan potensi iritasi yang tinggi. Sedangkan kontrol negatif (NaCl 0,9%), blank basis TOR dan gel TOR-KOZ tidak memperlihatkan adanya pendarahan.

NaOH 0,1 M merupakan golongan alkali kuat yang bersifat hidrofilik dan lipofilik. Bahan ini menyebabkan pelarutan jaringan dengan melepaskan ion hidroksil yang menginduksi penyabunan asam lemak dalam membran sel (mengubah lemak/minyak menjadi garam asam lemak) sehingga membuat jaringan rentan terhadap degradasi enzimatis. Hal ini akhirnya menyebabkan kerusakan endotelium kapiler dan kebocoran darah (Dua et al. 2020) (Akgun and Selver 2023). NaCl 0,9% tidak memberikan reaksi karena NaCl 0,9% merupakan larutan yang isotonis dengan darah.

Sediaan uji baik basis maupun gel menghasilkan hasil yang negatif seperti hasil dari kontrol negatif menunjukkan bahwa sediaan aman untuk penggunaan pada mata tanpa memberikan iritasi. Salah satu hal yang menyebabkan hasil ini dikarenakan pH dari sediaan mendekati pH kondisi fisiologis pada mata yaitu pada pH 7.



Gambar 3.4 Hasil uji HET-CAM pada berbagai interval waktu untuk kontrol positif, kontrol negatif, dan sampel uji.

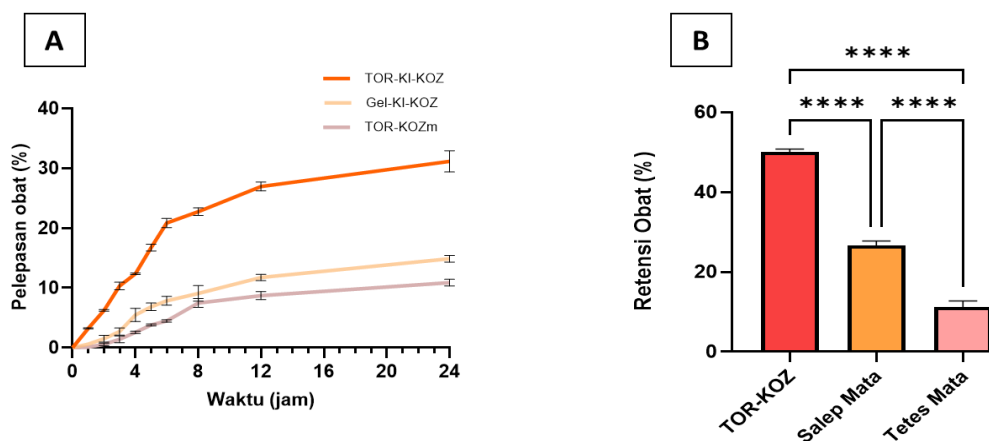
3.4.7 Uji Permeasi *Ex-Vivo*

Hasil uji permeasi (gambar 3.5A) menunjukkan bahwa gel in situ yang mengandung kompleks inklusi ketokonazol (gel TOR-KOZ) menunjukkan jumlah kumulatif obat yang terpermeasi mencapai $3,114 \pm 0,179$ mg pada 24 jam yaitu sekitar 31,141% dari dosis muatan 10 mg. Sedangkan untuk sediaan salep mata dan tetes mata konvensional yang mengandung KI-KOZ menunjukkan jumlah kumulatif obat yang rendah dibanding gel TOR-KOZ, dengan jumlah masing-masing $14,893 \pm 0,563\%$ dan $10,875 \pm 0,586\%$ pada 24 jam. Secara statistik menunjukkan bahwa persen permeasi kedua sediaan tersebut berbeda signifikan jika dibandingkan dengan sediaan gel TOR-KOZ ($p < 0,05$).

Sistem gel in situ menawarkan keuntungan tambahan berupa viskositas rendah sebelum terkena stimulus dan menjadi gel setelah kontak dengan lingkungan fisiologis, sehingga meningkatkan waktu kontak dengan membran serta memungkinkan pelepasan dan permeasi obat secara lebih terkontrol. Studi-studi sebelumnya menegaskan bahwa gel in situ berbasis polimer ion-sensitive atau termo-responsive dapat meningkatkan permeasi obat dibandingkan gel konvensional karena meningkatkan retensi dan memodifikasi difusi obat (Senjoti et al. 2020).

Salep mata yang mengandung KI-KOZ menunjukkan laju pelepasan yang lebih besar dibanding tetes mata. Hal ini disebabkan adanya zat aktif yang sudah berbentuk kompleks inklusi yang memungkinkan kelarutan di lingkungan berair. Mekanisme ini sesuai dengan laporan bahwa HP- β -CD meningkatkan kelarutan obat BCS II melalui pembentukan kompleks yang lebih mudah terdispersi dalam medium berair (Thorsteinn Loftsson and Brewster 2011). Sediaan tetes mata menunjukkan permeasi paling rendah, meski mengandung kompleks inklusi. Namun sistem penghantaran terbatas pada bentuk sediaan tetes mata yang berupa larutan, dimana mudah terbersihkan oleh cairan air mata.

Secara keseluruhan, hasil ini menegaskan bahwa kombinasi kompleks inklusi dengan platform gel in situ memberikan kinerja permeasi optimal melalui peningkatan kelarutan, stabilitas, fraksi obat terdispersi, dan waktu kontak membran. Temuan ini konsisten dengan literatur bahwa strategi penggabungan peningkatan kelarutan dan peningkatan retensi formulasi di permukaan membran memberikan efek sinergis terhadap permeasi obat topikal atau transmukosa (Loftsson, T., & Duchêne 2020) (Boddupalli et al. 2010).



Gambar 3.5 Profil pelepasan obat secara ex vivo (A) dan Profil Retensi korneal secara Ex Vivo (B) (n=3)

3.4.8 Uji Retensi Kornea Okular Ex Vivo

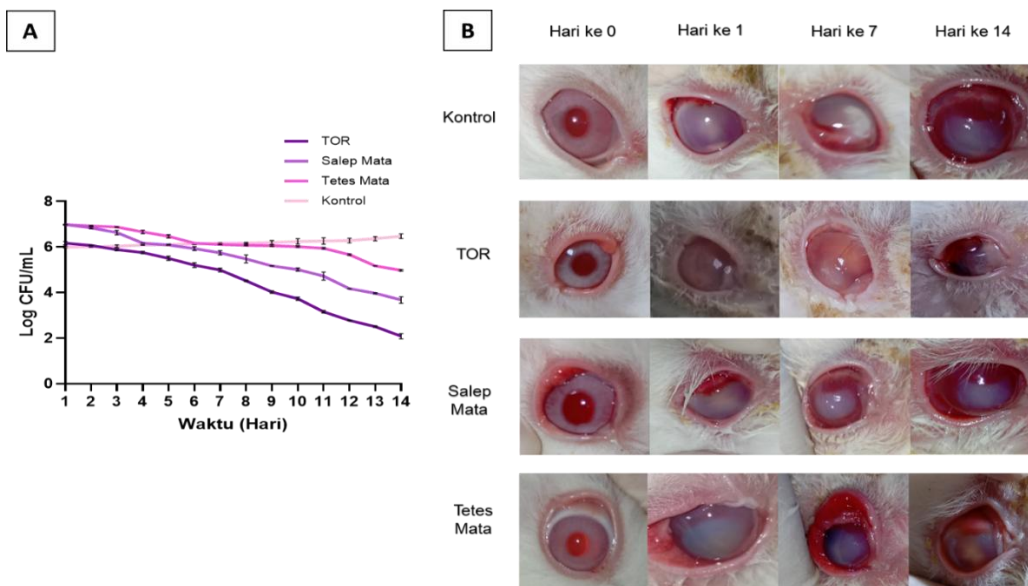
Berdasarkan diagram pada gambar 3.5B memperlihatkan bahwa sediaan gel TOR-KOZ memiliki nilai retensi obat sebesar $50,11 \pm 0,07\%$; sediaan salep mata sebesar $26,69 \pm 0,11\%$ dan tetes mata sebesar $11,21 \pm 0,15\%$. Secara statistik tampak perbedaan yang signifikan antar kelompok sediaan ($p < 0,0001$). Dapat dilihat dari gambar dan persen retensi menunjukkan bahwa bentuk sediaan gel TOR-KOZ dengan sifat mukoadhesifnya memberikan andil dalam membantu zat aktif untuk bisa tinggal di membran kornea mata dibanding dengan sediaan gel konvensional.

Gel TOR-KOZ menunjukkan retensi tertinggi. Hal ini disebabkan karena adanya proses gelasi in situ pada suhu mata sehingga meningkatkan viskositas gel setelah aplikasi yang memberikan waktu untuk interaksi bioadhesif polimer dengan mukin. Di lain pihak, kompleks inklusi meningkatkan fraksi KOZ terdispersi secara homogen, sehingga obat tidak cepat mengendap atau tereliminasi. Hal ini menyebabkan obat bertahan lama di permukaan dan jaringan anterior mata, sehingga sangat ideal untuk terapi keratitis jamur. Salep mata memiliki retensi lebih rendah yang disebabkan karena meski terdapat viskositas yang baik dari basis salep namun tidak terdapat sifat mukoadhesif yang lama setelah aplikasi sehingga dapat tereliminasi lebih cepat oleh air mata atau kedipan mata. Meskipun terdapat kompleks inklusi yang dapat meningkatkan kelarutan, ketiadaan gelasi in situ membatasi waktu tinggal. Sediaan tetes mata memiliki retensi yang paling rendah di antara ketiganya. Mudahny dieleminasi oleh cairan mata merupakan factor utama yang menyebabkan obat tidak dapat kontak lama dengan jaringan sehingga obat tidak dapat teretensi dalam jumlah banyak di jaringan.

3.4.9 Aktivitas antijamur *in-vivo* dari gel TOR-KOZ dalam model kelinci

Untuk mengetahui aktivitas antijamur dari sediaan tersebut, maka dilakukan uji aktivitas antijamur secara *in vivo* menggunakan hewan uji kelinci. Dari hasil pengamatan dan pengujian jumlah koloni, menunjukkan perbedaan kemampuan masing-masing perlakuan (pemberian sediaan) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida*

albicans. Secara umum, untuk 3 sediaan yang diuji meliputi gel TOR-KOZ, salep mata dan tetes mata) menghasilkan penurunan jumlah koloni namun berbeda masing-masing sesuai karakteristik formulasi. Sediaan gel TOR-KOZ memiliki efek antijamur yang paling besar dari kedua sediaan yang dibandingkan.



Gambar 3.6 Uji daya hambat formulasi KOZ terhadap *C. albicans*. Uji aktivitas antijamur secara in vivo pada kelinci selama 14 hari (A); dan foto mata kelinci selama perlakuan selama 14 hari (B). Data disajikan dalam rata-rata $\pm$ SD ($n = 3$).

Gel TOR-KOZ menunjukkan penurunan yang paling signifikan dari nilai awal log CFU/mL $6,17 \pm 0,0804$ menjadi $2,08 \pm 0,1144$ pada hari ke-14 dengan total reduksi mencapai 66%. Hasil yang signifikan ini kemungkinan dikarenakan kombinasi dari dua mekanisme yaitu peningkatan kelarutan dan permeasi KOZ melalui kompleksasi dengan HP- β -CD (Loftsson, T., & Duchêne 2020), serta mekanisme gelasi in situ bersifat mukoadhesif yang memperpanjang waktu tinggal (*residence time*) pada permukaan mata. Dengan waktu kontak yang lama dengan mata, memberikan kesempatan kepada zat aktif untuk terlepas secara bertahap sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas antijamur pada jaringan target (Khan et al. 2024) (B. Ahmed et al. 2024) (Gaballa et al. 2020) (Mostafa et al. 2023). Dengan karakteristik tersebut, gel TOR-KOZ memungkinkan KOZ berada dalam bentuk yang lebih siap berinteraksi dengan membran sel jamur, menyebabkan hambatan sintesis ergosterol dan mengganggu stabilitas membran plasmalemma *Candida albicans* (Ghannoum and Rice 1999).

Selain gel TOR-KOZ, salep mata juga memberikan penurunan jumlah koloni, meskipun masih berada di bawah kerja TOR. Salep mata menunjukkan penurunan dari $6,98 \pm 0,0270$ menjadi $3,67 \pm 0,1425$ dengan total reduksi sekitar 47%. Seperti halnya dengan sediaan TOR-KOZ, basis sediaan mempengaruhi dari kerja sediaan tersebut. Salep memiliki viskositas yang tinggi sehingga dapat menurunkan sebaran obat dan

membatasi difusi zat aktif secara merata pada permukaan okular. Selain itu, struktur semisolid dari salep minyak dapat mengurangi pelepasan obat dan memperlambat onset aktivitas antifungal.

Formulasi tetes mata memperlihatkan kemampuan reduksi jamur yang lebih rendah dibandingkan gel TOR-KOZ maupun salep. Terjadi penurunan ringan dan fluktuatif, dengan perbedaan akhir tidak signifikan. Penurunan hanya sekitar 25% ($6,98 \pm 0,0115$ menjadi $4,98 \pm 0,03227$), menunjukkan aktivitas antijamur terbatas. Hal ini sejalan dengan keterbatasan bentuk sediaan tetes mata yang cepat dieliminasi oleh sistem lakrimasi, sehingga sebagian besar obat hilang dalam hitungan menit (Patel et al. 2015). Selain itu, KOZ memiliki kelarutan air yang sangat terbatas, sehingga ketika berada dalam basis cair tanpa sistem pembawa khusus, jumlah obat yang benar-benar mampu menembus jaringan infeksi menjadi jauh lebih rendah.

Kelompok kontrol memperlihatkan peningkatan jumlah koloni. Koloni mengalami peningkatan progresif dari 5,92 menjadi 6,82 log CFU/mL (kenaikan 15,2%). Pola ini konsisten dengan karakteristik *Candida albicans* sebagai patogen oportunistik yang mampu berkembang pada jaringan okular ketika tidak terdapat mekanisme protektif atau agen antifungal (Atta et al. 2022). Secara statistik jika dibandingkan antara gel TOR-KOZ dengan 3 perlakuan lainnya (salep, tetes dan kontrol) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Hasil ini turut mengonfirmasi bahwa penurunan koloni pada kelompok perlakuan benar-benar disebabkan oleh efek farmakologis KOZ, bukan perubahan alami kondisi mata kelinci. Hasil kuantitatif di atas direpresentasikan pada gambar 3.6 B dimana menunjukkan perubahan warna putih dari koloni *C. albicans* semakin berkurang.

3.5 Kesimpulan

Secara keseluruhan, uji karakteristik dan uji aktivitas antijamur secara *in vivo* menunjukkan bahwa formulasi gel TOR-KOZ memberikan aktivitas antijamur yang baik, baik dilihat dari laju maupun total penurunan koloni. Sementara salep dan tetes mata masih memberikan efek antijamur, efikasinya tetap berada di bawah gel TOR-KOZ dan kelompok kontrol menegaskan progresivitas infeksi ketika tidak diobati. Dengan demikian, gel TOR-KOZ dapat dipertimbangkan sebagai kandidat formulasi okular yang lebih efektif untuk terapi infeksi jamur *Candida albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, Muhammad N, Saeed A Khan, Sajid K Sadozai, Islam A Khalil, Asem Anter, Marwa E Fouly, Ahmed H Osman, and Mohsin Kazi. 2022. "Nanoparticles Loaded Thermoresponsive In Situ Gel for Ocular Antibiotic Delivery against Bacterial Keratitis." *Polymers* 14(6): 1135. doi:10.3390/polym14061135.
- Abdelbary, Ghada A, Maha M Amin, and Mohamed Y Zakaria. 2017. "Ocular Ketoconazole-Loaded Proniosomal Gels: Formulation, Ex Vivo Corneal Permeation and in Vivo Studies." *Drug delivery* 24(1): 309–19. doi:10.1080/10717544.2016.1247928.
- Abdellatif, Menna M, Islam A Khalil, Yara E Elakkad, Hesham A Eliwa, Tamer M Samir, and Asmaa K Al-Mokaddem. 2020. "Formulation and Characterization of Sertaconazole Nitrate Mucoadhesive Liposomes for Vaginal Candidiasis." *International journal of nanomedicine* 15: 4079–90. doi:10.2147/IJN.S250960.

- Ahmed, Bakr, Srishty Jaiswal, Srishti Naryal, Rohan M Shah, Raid G Alany, and Indu Pal Kaur. 2024. "In Situ Gelling Systems for Ocular Drug Delivery." *Journal of Controlled Release* 371: 67–84. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2024.05.031>.
- Ahmed, Sadek, Maha M Amin, Sarah Mohamed El-Korany, and Sinar Sayed. 2022. "Pronounced Capping Effect of Olaminosomes as Nanostructured Platforms in Ocular Candidiasis Management." *Drug delivery* 29(1): 2945–58. doi:[10.1080/10717544.2022.2120926](https://doi.org/10.1080/10717544.2022.2120926).
- Ahmed, Sadek, Maha M Amin, and Sinar Sayed. 2023. "Ocular Drug Delivery: A Comprehensive Review." *AAPS PharmSciTech* 24(2): 66. doi:[10.1208/s12249-023-02516-9](https://doi.org/10.1208/s12249-023-02516-9).
- Aisyah, Andi Nur, Andi Dian Permana, Elly Wahyudin, Diany Elim, Ikbai Ikbai, Nana Novriana, Payung Datu, et al. 2024. "Formulation and Evaluation of Dissolving Microneedle for Transdermal Delivery of Piperine: The Effect of Polymers Concentration." *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 0(0): 1–20. doi:[10.1080/09205063.2024.2320948](https://doi.org/10.1080/09205063.2024.2320948).
- Akgun, Zeynep, and Ozlem Barut Selver. 2023. "Epidemiology and Etiology of Chemical Ocular Injury: A Brief Review." *World journal of clinical cases* 11(6): 1245–51. doi:[10.12998/wjcc.v11.i6.1245](https://doi.org/10.12998/wjcc.v11.i6.1245).
- Akhter, Md Habban, Irfan Ahmad, Mohammad Y Alshahrani, Alhanouf I Al-Harbi, Habibullah Khalilullah, Obaid Afzal, Abdulmalik S A Altamimi, et al. 2022. "Drug Delivery Challenges and Current Progress in Nanocarrier-Based Ocular Therapeutic System." *Gels (Basel, Switzerland)* 8(2). doi:[10.3390/gels8020082](https://doi.org/10.3390/gels8020082).
- Anjani, Qonita Kurnia, Juan Domínguez-Robles, Emilia Utomo, María Font, María Cristina Martínez-Ohárriz, Andi Dian Permana, Álvaro Cárcamo-Martínez, Eneko Larrañeta, and Ryan F Donnelly. 2021. "Inclusion Complexes of Rifampicin with Native and Derivatized Cyclodextrins: In Silico Modeling, Formulation, and Characterization." *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)* 15(1). doi:[10.3390/ph15010020](https://doi.org/10.3390/ph15010020).
- Atta, Sarah, Chandrashan Perera, Regis P Kowalski, and Vishal Jhanji. 2022. "Fungal Keratitis: Clinical Features, Risk Factors, Treatment, and Outcomes." *Journal of Fungi* 8(9): 962. doi:[10.3390/jof8090962](https://doi.org/10.3390/jof8090962).
- Awad, Ramy, Alaa Atef Ghaith, Khaled Awad, Marina Mamdouh Saad, and Ahmed Ak Elmassry. 2024. "Fungal Keratitis: Diagnosis, Management, and Recent Advances." *Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)* 18: 85–106. doi:[10.2147/OPTH.S447138](https://doi.org/10.2147/OPTH.S447138).
- Aziz, Anugerah Yaumil Ramadhani, Nurul Afia Hasir, Nurul Bahari Putri Imran, Muhammad Firdaus Hamdan, Ulfah Mahfufah, Nurfadilla Wafiah, Andi Arjuna, Rifka Nurul Utami, and Andi Dian Permana. 2023. "Development of Hydrogel-Forming Microneedles for Transdermal Delivery of Albendazole from Liquid Reservoir." *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 34(8): 1101–20. doi:[10.1080/09205063.2022.2157671](https://doi.org/10.1080/09205063.2022.2157671).
- Bawa, Priya, Viness Pillay, Yahya E Choonara, and Lisa C du Toit. 2009. "Stimuli-Responsive Polymers and Their Applications in Drug Delivery." *Biomedical materials (Bristol, England)* 4(2): 22001. doi:[10.1088/1748-6041/4/2/022001](https://doi.org/10.1088/1748-6041/4/2/022001).
- Begum, Ghazala, Thomas Leigh, Ella Courtie, Richard Moakes, Gibran Butt, Zubair Ahmed, Saaeha Rauz, Ann Logan, and Richard J Blanch. 2020. "Rapid Assessment of Ocular Drug Delivery in a Novel Ex Vivo Corneal Model." *Scientific Reports* 10(1): 11754. doi:[10.1038/s41598-020-68254-1](https://doi.org/10.1038/s41598-020-68254-1).
- Bhatnagar, Shubhmita, Amala Saju, Krishna Deepthi Cheerla, Sudeep Kumar Gade, Prashant Garg, and Venkata Vamsi Krishna Venuganti. 2018. "Corneal Delivery of Besifloxacin Using Rapidly Dissolving Polymeric Microneedles." *Drug delivery and translational research* 8(3): 473–83. doi:[10.1007/s13346-017-0470-8](https://doi.org/10.1007/s13346-017-0470-8).
- Boddupalli, Bindu M, Zulkar N K Mohammed, Ravinder A Nath, and David Banji. 2010.

- "Mucoadhesive Drug Delivery System: An Overview." *Journal of advanced pharmaceutical technology & research* 1(4): 381–87. doi:10.4103/0110-5558.76436.
- Bodratti, Andrew M, and Paschalis Alexandridis. 2018. "Formulation of Poloxamers for Drug Delivery." *Journal of Functional Biomaterials* 9(1): 11. doi:10.3390/jfb9010011.
- Brambilla, Elisa, Silvia Locarno, Salvatore Gallo, Francesco Orsini, Carolina Pini, Marco Farronato, Douglas V Thomaz, et al. 2022. "Poloxamer-Based Hydrogel as Drug Delivery System: How Polymeric Excipients Influence the Chemical-Physical Properties." *Polymers* 14(17): 3624. doi:10.3390/polym14173624.
- Brewster, Marcus E, and Thorsteinn Loftsson. 2007. "Cyclodextrins as Pharmaceutical Solubilizers." *Advanced Drug Delivery Reviews* 59(7): 645–66. doi:https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.05.012.
- Brown, Lottie, Astrid K. Leck, Michael Gichangi, Matthew J. Burton, and David W. Denning. 2021. "The Global Incidence and Diagnosis of Fungal Keratitis." *The Lancet Infectious Diseases* 21(3): e49–57. doi:10.1016/S1473-3099(20)30448-5.
- Butt, Sania Safdar, Yasmin Badshah, Maria Shabbir, and Mehak Rafiq. 2020. "Molecular Docking Using Chimera and Autodock Vina Software for Nonbioinformaticians." *JMIR Bioinformatics and Biotechnology* 1(1): e14232. doi:10.2196/14232.
- Casey-Power, Saoirse, Richie Ryan, Gautam Behl, Peter McLoughlin, Mark E Byrne, and Laurence Fitzhenry. 2022. "Hyaluronic Acid: Its Versatile Use in Ocular Drug Delivery with a Specific Focus on Hyaluronic Acid-Based Polyelectrolyte Complexes." *Pharmaceutics* 14(7). doi:10.3390/pharmaceutics14071479.
- Chaiwut, Chutima, Sarin Tadtong, Puriputt Akachaipaibul, Jutamas Jiaranaikulwanitch, Sudarshan Singh, Siriporn Okonogi, Dwi Marlina Syukri, and Chuda Chittasupho. 2025. "Thermosensitive In Situ Ophthalmic Gel for Effective Local Delivery and Antifungal Activity of Ketoconazole Nanoparticles." *Gels* 11(1). doi:10.3390/gels11010013.
- Chaudhari, Pinal, Ranjitha Naik, Lakshmi Sruthi Mallela, Sanhita Roy, Sumit Birangal, Vivek Ghate, Sarojini Balladka Kunhanna, and Shaila A Lewis. 2022. "A Supramolecular Thermosensitive Gel of Ketoconazole for Ocular Applications: In Silico, in Vitro, and Ex Vivo Studies." *International Journal of Pharmaceutics* 613: 121409. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121409.
- Chen, I-Cheng, Chen-Ying Su, Pei-Yu Chen, The C Hoang, Yi-Syue Tsou, and Hsu-Wei Fang. 2022. "Investigation and Characterization of Factors Affecting Rheological Properties of Poloxamer-Based Thermo-Sensitive Hydrogel." *Polymers* 14(24): 5353. doi:10.3390/polym14245353.
- Cirello, Amanda L, Jennifer L Dumouchel, Mithat Gunduz, Christine E Dunne, and Upendra A Argikar. 2017. "In Vitro Ocular Metabolism and Bioactivation of Ketoconazole in Rat, Rabbit and Human." *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 32(2): 121–26. doi:https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2016.11.001.
- Conde Penedo, Andrea, Victoria Díaz Tomé, Anxo Fernández Ferreiro, Miguel González Barcia, and Francisco J Otero Espinar. 2021. "Enhancement in Corneal Permeability of Riboflavin Using Cyclodextrin Derivates Complexes as a Previous Step to Transepithelial Cross-Linking." *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 162: 12–22. doi:10.1016/j.ejpb.2021.02.012.
- DelMonte, Derek W, and Terry Kim. 2011. "Anatomy and Physiology of the Cornea." *Journal of cataract and refractive surgery* 37(3): 588–98. doi:10.1016/j.jcrs.2010.12.037.
- Dewan, Mitalli, Arpita Adhikari, Rathin Jana, and Dipankar Chattopadhyay. 2023. "Development, Evaluation and Recent Progress of Ocular in Situ Gelling Drug Delivery Vehicle Based on Poloxamer 407." *Journal of Drug Delivery Science and*

- Technology* 88: 104885. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104885>.
- Drouhet, E, and B Dupont. 1983. "Laboratory and Clinical Assessment of Ketoconazole in Deep-Seated Mycoses." *The American journal of medicine* 74(1B): 30–47. doi:10.1016/0002-9343(83)90512-0.
- Dua, Harminder S, Darren Shu Jeng Ting, Ahmed Al Saadi, and Dalia G Said. 2020. "Chemical Eye Injury: Pathophysiology, Assessment and Management." *Eye (London, England)* 34(11): 2001–19. doi:10.1038/s41433-020-1026-6.
- Elim, Diany, Andi Maqfirah Nurul Fitri, Muhammad Alif Sya ban Mahfud, Nur Afika, Nurul Aisha Fitri Sultan, Hijrah, Rangga Meidianto Asri, and Andi Dian Permana. 2023. "Hydrogel Forming Microneedle-Mediated Transdermal Delivery of Sildenafil Citrate from Polyethylene Glycol Reservoir: An Ex Vivo Proof of Concept Study." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 222(November 2022): 113018. doi:10.1016/j.colsurfb.2022.113018.
- Faizi, Hafsa Shahid, Muhammad Iqbal Nasiri, Yu Wu, Deepakkumar Mishra, Ryan F Donnelly, Muhammad Usman Minhas, Lalitkumar K Vora, and Raghu Raj Singh Thakur. 2024. "Deferasirox Nanosuspension Loaded Dissolving Microneedles for Ocular Drug Delivery." *International journal of pharmaceutics* 664: 124614. doi:10.1016/j.ijpharm.2024.124614.
- Felton, Timothy, Peter F Troke, and William W Hope. 2014. "Tissue Penetration of Antifungal Agents." *Clinical microbiology reviews* 27(1): 68–88. doi:10.1128/CMR.00046-13.
- Gaballa, Sherif A, Omar H El Garhy, Hossam Moharram, and Hamdy Abdelkader. 2020. "Preparation and Evaluation of Cubosomes/Cubosomal Gels for Ocular Delivery of Beclomethasone Dipropionate for Management of Uveitis." *Pharmaceutical Research* 37(10): 198. doi:10.1007/s11095-020-02857-1.
- Gadziński, Piotr, Anna Froelich, Monika Wojtyłko, Antoni Białek, Julia Krysztofiak, and Tomasz Osmalek. 2022. "Microneedle-Based Ocular Drug Delivery Systems - Recent Advances and Challenges." *Beilstein journal of nanotechnology* 13: 1167–84. doi:10.3762/bjnano.13.98.
- Garg, Prashant, Venkata Vamsi Krishna Venuganti, Aravind Roy, and Girdhari Roy. 2019. "Novel Drug Delivery Methods for the Treatment of Keratitis: Moving Away from Surgical Intervention." *Expert opinion on drug delivery* 16(12): 1381–91. doi:10.1080/17425247.2019.1690451.
- Gaudana, Ripal, J Jwala, Sai H S Boddu, and Ashim K Mitra. 2009. "Recent Perspectives in Ocular Drug Delivery." *Pharmaceutical research* 26(5): 1197–1216. doi:10.1007/s11095-008-9694-0.
- Ghannoum, M A, and L B Rice. 1999. "Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance." *Clinical microbiology reviews* 12(4): 501–17. doi:10.1128/CMR.12.4.501.
- Glover, Katie, Deepakkumar Mishra, Shilpkala Gade, Lalitkumar K Vora, Yu Wu, Alejandro J Paredes, Ryan F Donnelly, and Thakur Raghu Raj Singh. 2023. "Microneedles for Advanced Ocular Drug Delivery." *Advanced Drug Delivery Reviews* 201: 115082. doi:<https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.115082>.
- Gupta, Bharti, Varsha Mishra, Sankalp Gharat, Munira Momin, and Abdelwahab Omri. 2021. "Cellulosic Polymers for Enhancing Drug Bioavailability in Ocular Drug Delivery Systems." *Pharmaceutics (Basel, Switzerland)* 14(11). doi:10.3390/ph14111201.
- Harron, Dean. 2009. "Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: The ICH Process." In , 522–33. doi:10.1002/9781444317800.ch21.
- Hoffman, Jeremy J., Simon Arunga, Abeer H.A. Mohamed Ahmed, Victor H. Hu, and Matthew J. Burton. 2022. "Management of Filamentous Fungal Keratitis: A Pragmatic Approach." *Journal of Fungi* 8(10). doi:10.3390/jof8101067.

- Hu, Jie, Di Zhang, Shuli Chen, Xin Wang, Zhiyun Zheng, Shuangying Gui, and Ning He. 2025. "Minimally Invasive Treatment of Fungal Keratitis with Voriconazole Microneedle Corneal Patch." *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 211: 114717. doi:10.1016/j.ejpb.2025.114717.
- Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM). 2010. "Recommended Test Method Protocol: Hen ' s Egg Test – Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) Test Method." *ICCVAM Test Method Evaluation Report* 13(10): B30–38.
- Jambhekar, Sunil S, and Philip Breen. 2016. "Cyclodextrins in Pharmaceutical Formulations II: Solubilization, Binding Constant, and Complexation Efficiency." *Drug discovery today* 21(2): 363–68. doi:10.1016/j.drudis.2015.11.016.
- Kakkar, Shilpa, Sankunni Mohan Karuppayil, Jayant S Raut, Fabrizio Giansanti, Laura Papucci, Nicola Schiavone, and Indu Pal Kaur. 2015. "Lipid-Polyethylene Glycol Based Nano-Ocular Formulation of Ketoconazole." *International Journal of Pharmaceutics* 495(1): 276–89. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.08.088.
- Kang, Huizhi, Zhuo Zuo, Ru Lin, Muzi Yao, Yang Han, and Jing Han. 2022. "The Most Promising Microneedle Device: Present and Future of Hyaluronic Acid Microneedle Patch." *Drug delivery* 29(1): 3087–3110. doi:10.1080/10717544.2022.2125600.
- Kawase, Kazuhide, Wenzhong Lin, Yumiko Aoyama, Tetsuya Yamamoto, Masamitsu Shimazawa, and Hideaki Hara. 2010. "Effects of Timolol-Related Ophthalmic Solutions on Cultured Human Conjunctival Cells." *Japanese journal of ophthalmology* 54(6): 615–21. doi:10.1007/s10384-010-0881-2.
- Kemenkes RI. 2018. 2018 *Peta Jalan Penanggulangan Gangguan Penglihatan Di Indonesia Tahun 2017-2030*. <http://www.p2ptm.kemkes.go.id/dokumen-ptm/buku-peta-jalan-penanggulangan-gangguan-penglihatan-di-indonesia-tahun-2017-2030>.
- Khan, Javed, Aatif Khan, Aman Khan, Danish Khan, Abdul Shaikh, and Mirza Salman Baig. 2024. "In Situ Gel: A Promising Ocular Drug Delivery System." *International Journal of Advancement in Life Sciences Research* 07: 65–77. doi:10.31632/ijalsr.2024.v07i03.006.
- Khatoon, Hena, Siti M M Faudzi, and Tamás Sohajda. 2025. "Mechanisms and Therapeutic Applications of B-Cyclodextrin in Drug Solubilisation and Delivery Systems." *Chemistry & Biodiversity*. doi:10.1002/cbdv.202500359.
- Khattab, Abeer, Sarah Marzok, and Magdy Ibrahim. 2019. "Development of Optimized Mucoadhesive Thermosensitive Pluronic Based in Situ Gel for Controlled Delivery of Latanoprost: Antiglaucoma Efficacy and Stability Approaches." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 53: 101134. doi:https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101134.
- Khiev, Dawin, Zeinab A Mohamed, Riddhi Vichare, Ryan Paulson, Sofia Bhatia, Subhra Mohapatra, Glenn P Lobo, et al. 2021. "Emerging Nano-Formulations and Nanomedicines Applications for Ocular Drug Delivery." *Nanomaterials (Basel, Switzerland)* 11(1). doi:10.3390/nano11010173.
- Kim, Dong-Hyun, Sang-Eun Lee, Yong-Chul Pyo, Tran Phuong, and Jeong-Sook Park. 2019. "Solubility Enhancement and Application of Cyclodextrins in Local Drug Delivery." *Journal of Pharmaceutical Investigation* 50: 1–11. doi:10.1007/s40005-019-00434-2.
- Kim, Yoo C, Hans E Grossniklaus, Henry F Edelhauser, and Mark R Prausnitz. 2014. "Intrastromal Delivery of Bevacizumab Using Microneedles to Treat Corneal Neovascularization." *Investigative ophthalmology & visual science* 55(11): 7376–86. doi:10.1167/iovs.14-15257.
- Kurniawansyah, Insan Sunan, Taofik Rusdiana, Iyan Sopyan, Handrian Ramoko, Habibah A. Wahab, and Anas Subarnas. 2020. "In Situ Ophthalmic Gel Forming

- Systems of Poloxamer 407 and Hydroxypropyl Methyl Cellulose Mixtures for Sustained Ocular Delivery of Chloramphenicol: Optimization Study by Factorial Design." *Heliyon* 6(11). doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05365.
- Lachowicz, Malwina, Andrzej Stańczak, and Michał Kołodziejczyk. 2020. "Characteristic of Cyclodextrins: Their Role and Use in the Pharmaceutical Technology." *Current drug targets* 21(14): 1495–1510. doi:10.2174/1389450121666200615150039.
- Lakhani, Prit, Akash Patil, and Soumyajit Majumdar. 2019. "Challenges in the Polyene- and Azole-Based Pharmacotherapy of Ocular Fungal Infections." *Journal of ocular pharmacology and therapeutics : the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics* 35(1): 6–22. doi:10.1089/jop.2018.0089.
- Larrañeta, Eneko, Jessica Moore, Eva M Vicente-Pérez, Patricia González-Vázquez, Rebecca Lutton, A David Woolfson, and Ryan F Donnelly. 2014. "A Proposed Model Membrane and Test Method for Microneedle Insertion Studies." *International journal of pharmaceuticals* 472(1–2): 65–73. doi:10.1016/j.ijpharm.2014.05.042.
- Lee, Jae-ung, Sung-Sik Lee, Sungyul Lee, and Han B Oh. 2020. "Noncovalent Complexes of Cyclodextrin with Small Organic Molecules: Applications and Insights into Host–Guest Interactions in the Gas Phase and Condensed Phase." *Molecules* 25(18): 4048. doi:10.3390/molecules25184048.
- Li, Liping, Fan Jia, Youxiang Wang, Jiamin Liu, Yi Tian, Xinghuai Sun, Yuan Lei, and Jian Ji. 2023. "Trans-Corneal Drug Delivery Strategies in the Treatment of Ocular Diseases." *Advanced Drug Delivery Reviews* 198: 114868. doi:https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.114868.
- Liu, Shuai, Shuohan Xu, Hang Lu, Xueyu Gong, Huaipeng Li, Xinyu Fan, and Hongwei Yang. 2025. "Exploring the Potential of a Thermosensitive in Situ Gel with *Periplaneta Americana* Extracts for Efficient Wound Healing." *Frontiers in Pharmacology* Volume 16. doi:10.3389/fphar.2025.1672818.
- Loftsson, T., & Duchêne, D. 2020. "Cyclodextrins and Their Pharmaceutical Applications." *International Journal of Pharmaceutics*.
- Loftsson, T, and M Masson. 2001. "Cyclodextrins in Topical Drug Formulations: Theory and Practice." *International journal of pharmaceuticals* 225(1–2): 15–30. doi:10.1016/s0378-5173(01)00761-x.
- Loftsson, Thorsteinn, and Marcus E Brewster. 2011. "Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins: Effects on Drug Permeation through Biological Membranes." *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 63(9): 1119–35. doi:10.1111/j.2042-7158.2011.01279.x.
- Loftsson, Thorsteinn, Pekka Jarho, Már Másson, and Tomi Järvinen. 2005. "Cyclodextrins in Drug Delivery." *Expert Opinion on Drug Delivery* 2(2): 335–51. doi:10.1517/17425247.2.1.335.
- Lu, Geng, Baohua Li, Luping Lin, Xiaofang Li, and Junfeng Ban. 2024. "Mechanical Strength Affecting the Penetration in Microneedles and PLGA Nanoparticle-Assisted Drug Delivery: Importance of Preparation and Formulation." *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 173: 116339. doi:10.1016/j.biopha.2024.116339.
- Mahmoudi, Shahram, Ahmad Masoomi, Kazem Ahmadi, Seyed Ali Tabatabaei, Mohammad Soleimani, Sassan Rezaie, Hossein Ghahvechian, and Ali Banafsheafshan. 2018. "Fungal Keratitis: An Overview of Clinical and Laboratory Aspects." *Mycoses* 61(12): 916–30. doi:10.1111/myc.12822.
- Majeed, Bashar J M, Mohammed A Saadallah, Israa H Al-Ani, Mohamed K El-Tanani, Khaldun M Al Azzam, Hassan H Abdallah, and Feras Al-Hajji. 2024. "Evaluation of Solubility, Dissolution Rate, and Oral Bioavailability of β -Cyclodextrin and Hydroxypropyl β -Cyclodextrin as Inclusion Complexes of the Tyrosine Kinase Inhibitor, Alectinib." *Pharmaceuticals* 17(6): 737. doi:10.3390/ph17060737.

- Mangolim, Camila Sampaio, Cristiane Moriwaki, Ana Claudia Nogueira, Francielle Sato, Mauro Luciano Baesso, Antônio Medina Neto, and Graciette Matioli. 2014. "Curcumin- β -Cyclodextrin Inclusion Complex: Stability, Solubility, Characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-Ray Diffraction and Photoacoustic Spectroscopy, and Food Application." *Food Chemistry* 153: 361–70. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.067.
- Moawad, Fatma, Roxane Pouliot, and Davide Brambilla. 2025. "Dissolving Microneedles in Transdermal Drug Delivery: A Critical Analysis of Limitations and Translation Challenges." *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society* 383: 113794. doi:10.1016/j.jconrel.2025.113794.
- Morsi, Nadia, Dalia Ghorab, Hanan Refai, and Hoda Teba. 2016. "Ketorolac Tromethamine Loaded Nanodispersion Incorporated into Thermosensitive in Situ Gel for Prolonged Ocular Delivery." *International Journal of Pharmaceutics* 506(1): 57–67. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.04.021.
- Mostafa, Mahmoud, Adel Al Fatease, Raid G Alany, and Hamdy Abdelkader. 2023. "Recent Advances of Ocular Drug Delivery Systems: Prominence of Ocular Implants for Chronic Eye Diseases." *Pharmaceutics* 15(6). doi:10.3390/pharmaceutics15061746.
- Muankaew, Chutimon, Phatsawee Jansook, and Thorsteinn Loftsson. 2017. "Evaluation of γ -Cyclodextrin Effect on Permeation of Lipophilic Drugs: Application of Cellophane/Fused Octanol Membrane." *Pharmaceutical development and technology* 22(4): 562–70. doi:10.1080/10837450.2016.1180394.
- Müller, Guilherme Gubert, Newton Kara-José, and Rosane Silvestre de Castro. 2013. "Antifúngicos Em Infecções Oculares: Drogas e Vias de Administração." *Revista Brasileira de Oftalmologia* 72.
- Musuc, Adina M. 2024. "Cyclodextrins: Advances in Chemistry, Toxicology, and Multifaceted Applications." *Molecules* 29(22): 5319. doi:10.3390/molecules29225319.
- Niu, Lingzhi, Xin Liu, Zhiming Ma, Yuan Yin, Lixia Sun, Longfei Yang, and Yajuan Zheng. 2020. "Fungal Keratitis: Pathogenesis, Diagnosis and Prevention." *Microbial pathogenesis* 138: 103802. doi:10.1016/j.micpath.2019.103802.
- Omidian, Hossein, Arnavaz Akharmehr, and Erma J Gill. 2025. "Cyclodextrin-Hydrogel Hybrids in Advanced Drug Delivery." *Gels* 11(3): 177. doi:10.3390/gels11030177.
- Onugwu, Adaeze Linda, Chinekwu Sherridan Nwagwu, Obinna Sabastine Onugwu, Adaeze Chidiebere Echezona, Chinazom Precious Agbo, Stella Amarachi Ihim, Prosper Emeh, et al. 2023. "Nanotechnology Based Drug Delivery Systems for the Treatment of Anterior Segment Eye Diseases." *Journal of Controlled Release* 354: 465–88. doi:https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.01.018.
- Pantsar, Tatu, and Antti Poso. 2018. "Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction." *Molecules* 23(8): 1899. doi:10.3390/molecules23081899.
- Patel, Ashaben. 2013. "Ocular Drug Delivery Systems: An Overview." *World Journal of Pharmacology* 2(2): 47. doi:10.5497/wjp.v2.i2.47.
- Patel, Ashaben, Kishore Cholkar, Vibhuti Agrahari, and Ashim Mitra. 2015. "Ocular Drug Delivery Systems: An Overview." *World journal of pharmacology* 2: 47–64. doi:10.5497/wjp.v2.i2.47.
- Patel, Ashaben, Kishore Cholkar, Vibhuti Agrahari, and Ashim K Mitra. 2013. "Ocular Drug Delivery Systems: An Overview." *World journal of pharmacology* 2(2): 47–64. doi:10.5497/wjp.v2.i2.47.
- Permana, Andi Dian, Rifka Nurul Utami, Patricia Layadi, Achmad Himawan, Nana Juniarti, Qonita Kurnia Anjani, Emilia Utomo, et al. 2021. "Thermosensitive and Mucoadhesive in Situ Ocular Gel for Effective Local Delivery and Antifungal Activity of Itraconazole Nanocrystal in the Treatment of Fungal Keratitis." *International*

- Journal of Pharmaceutics* 602: 120623.
doi:https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120623.
- Pickel, Julia, Shivananda Narayana, Tiruvengada Krishnan, Seema Ramakrishnan, Puja Prativa Samantaray, Travis C Porco, Travis Redd, Thomas M Lietman, and Jennifer Rose-Nussbaumer. 2020. "The Prognostic Value of Persistent Culture Positivity in Fungal Keratitis in the Mycotic Antimicrobial Localized Injection Trial." *American Journal of Ophthalmology* 215: 1–7. doi:https://doi.org/10.1016/j.ajo.2020.02.021.
- Popescu, Irina, Marieta Constantin, Maria Bercea, Bogdan-Paul Coşman, Dana M Suflet, and Gheorghe Fundueanu. 2023. "Poloxamer/Carboxymethyl Pullulan Aqueous Systems—Miscibility and Thermogelation Studies Using Viscometry, Rheology and Dynamic Light Scattering." *Polymers* 15(8): 1909. doi:10.3390/polym15081909.
- Putri, Rasma Adelia, Cindy Kristina Enggi, Sulistiawati Sulistiawati, Habiburrahim Burhanuddin, Israini Wiyulanda Iskandar, Rizki Rachmad Saputra, Latifah Rahman, et al. 2024. "Development of Itraconazole Ocular Delivery System Using β -Cyclodextrin Complexation Incorporated into Dissolving Microneedles for Potential Improvement Treatment of Fungal Keratitis." *Journal of biomaterials science. Polymer edition*: 1–28. doi:10.1080/09205063.2024.2380129.
- Qutub, Mohammad, Amol Tatode, Tanvi Premchandani, Jayshree Taksande, Dadaso Mane, and Milind Umekar. 2024. "Blending Induced Variations in Poloxamer's/Pluronic's® Gelation: Thermodynamic and Rheological Perspectives." *JCIS Open* 16: 100126. doi:https://doi.org/10.1016/j.jciso.2024.100126.
- Ranta, Veli-Pekka, and Arto Urtti. 2006. "Transscleral Drug Delivery to the Posterior Eye: Prospects of Pharmacokinetic Modeling." *Advanced Drug Delivery Reviews* 58(11): 1164–81. doi:https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.07.025.
- Rojekar, Satish, Swapnali Parit, Amol D Gholap, Ajit Manchare, Sopan N Nangare, Navnath Hatvate, Vrashabh V Sugandhi, Keshav R Paudel, and Rahul G Ingle. 2024. "Revolutionizing Eye Care: Exploring the Potential of Microneedle Drug Delivery." *Pharmaceutics* 16(11): 1398. doi:10.3390/pharmaceutics16111398.
- Rupenthal, Ilva D, Colin R Green, and Raid G Alany. 2011. "Comparison of Ion-Activated in Situ Gelling Systems for Ocular Drug Delivery. Part 1: Physicochemical Characterisation and in Vitro Release." *International journal of pharmaceutics* 411(1–2): 69–77. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.03.042.
- Rusdin, Agus, Amirah Mohd Gazzali, Nur Ain Thomas, Sandra Megantara, Diah Lia Aulifa, Arif Budiman, and Muchtaridi Muchtaridi. 2024. "Advancing Drug Delivery Paradigms: Polyvinyl Pyrrolidone (PVP)-Based Amorphous Solid Dispersion for Enhanced Physicochemical Properties and Therapeutic Efficacy." *Polymers* 16(2). doi:10.3390/polym16020286.
- Russo, Eleonora, and Carla Villa. 2019. "Poloxamer Hydrogels for Biomedical Applications." *Pharmaceutics* 11(12). doi:10.3390/pharmaceutics11120671.
- Sahay, Pranita, Deepali Singhal, Ritu Nagpal, Prafulla K Maharana, Marjan Farid, Rachel Gelman, Rajesh Sinha, et al. 2019. "Pharmacologic Therapy of Mycotic Keratitis." *Survey of Ophthalmology* 64(3): 380–400. doi:https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2019.02.007.
- Said, Dalia G, Muneer Otri, Ammar Miri, Anusha Kailasanathan, Tasneem Khatib, and Harminder S Dua. 2011. "The Challenge of Fungal Keratitis." *British Journal of Ophthalmology* 95(12): 1623 LP – 1624. doi:10.1136/bjophthalmol-2011-301148.
- dos Santos, Cristina, M Pilar Buera, and M Florencia Mazzobre. 2012. "Influence of Ligand Structure and Water Interactions on the Physical Properties of β -Cyclodextrins Complexes." *Food Chemistry* 132(4): 2030–36. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.044.
- Saokham, Phennapha, Chutimon Muankaew, Phatsawee Jansook, and Thorsteinn Loftsson. 2018. "Solubility of Cyclodextrins and Drug/Cyclodextrin Complexes."

- Molecules* 23(5). doi:10.3390/molecules23051161.
- Sapiun, Zulfiayu, Arlan K Imran, Siti Nur Fatimah S. Mohamad, Andi Nur Aisyah, Stephani Stephani, Achmad Himawan, Marianti Manggau, et al. 2024. "Hispidulin-Rich Fraction of *Clerodendrum Fragrans* Wild. (Sesewanua) Dissolving Microneedle as Antithrombosis Candidate: A Proof of Concept Study." *International Journal of Pharmaceutics*: 124766. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124766>.
- Sathyanarayana, Sandeep Divate, Narayana Charyulu Rompicherla, and Anoop Narayanan. 2020. "Development of Thermosensitive Ophthalmic in Situ Gels of Bimatoprost for Glaucoma Therapy." 54(2). doi:10.5530/ijper.54.2s.71.
- Schott, Jennifer A, Chi-Linh Do-Thanh, Weida Shan, Nicolette G Puskar, Sheng Dai, and Shannon M Mahurin. 2021. "FTIR Investigation of the Interfacial Properties and Mechanisms of CO₂ Sorption in Porous Ionic Liquids." *Green Chemical Engineering* 2(4): 392–401. doi:<https://doi.org/10.1016/j.gce.2021.09.003>.
- Senjoti, F G, P Timmins, B R Conway, and A M Smith. 2020. "Optimizing Ophthalmic Delivery of a Poorly Water Soluble Drug from an Aqueous in Situ Gelling System." *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 154: 1–7. doi:10.1016/j.ejpb.2020.06.016.
- Soliman, K., Ullah, K., Shah, A., Jones, D. S., & Singh, T. R. R. 2019. "Poloxamer-Based in Situ Gelling Thermoresponsive Systems for Ocular Drug Delivery Applications School of Pharmacy , Queen ' s University Belfast , Medical Biology Centre , 97 Lisburn Road , Belfast Department of Pharmacy , COMSATS University Islamabad , A." 24(8): 1575-1586.
- Soliman, Karim A, K Ullah, A Shah, David S Jones, and Thakur R R Singh. 2019. "Poloxamer-Based in Situ Gelling Thermoresponsive Systems for Ocular Drug Delivery Applications." *Drug Discovery Today* 24(8): 1575–86. doi:<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.05.036>.
- Stegemann, S, F Leveiller, D Franchi, H de Jong, and H Lindén. 2007. "When Poor Solubility Becomes an Issue: From Early Stage to Proof of Concept." *European journal of pharmaceutical sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences* 31(5): 249–61. doi:10.1016/j.ejps.2007.05.110.
- Sulistiawati, Sulistiawati, Cindy Kristina Enggi, Israini Wiyulanda Iskandar, Rizki Rachmad Saputra, Sartini Sartini, Yusnita Rifai, Latifah Rahman, Muhammad Aswad, and Andi Dian Permana. 2024. "Bioavailability Enhancement of Sildenafil Citrate via Hydrogel-Forming Microneedle Strategy in Combination with Cyclodextrin Complexation." *International Journal of Pharmaceutics* 655(March): 124053. doi:10.1016/j.ijpharm.2024.124053.
- Sun, Xiaowen, Junxiang Zhu, Chengqin Liu, Dongfeng Wang, and Chang Yun Wang. 2022. "Fabrication of Fucoxanthin/2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Inclusion Complex Assisted by Ultrasound Procedure to Enhance Aqueous Solubility, Stability and Antitumor Effect of Fucoxanthin." *Ultrasonics Sonochemistry* 90(October): 106215. doi:10.1016/j.ultsonch.2022.106215.
- Szente, Lajos, Ashutosh Singhal, Andras Domokos, and Byeongwoon Song. 2018. "Cyclodextrins: Assessing the Impact of Cavity Size, Occupancy, and Substitutions on Cytotoxicity and Cholesterol Homeostasis." *Molecules* 23(5): 1228. doi:10.3390/molecules23051228.
- Thakur, Raghu Raj Singh, Ismaiel A Tekko, Farhan Al-Shammari, Ahlam A Ali, Helen McCarthy, and Ryan F Donnelly. 2016. "Rapidly Dissolving Polymeric Microneedles for Minimally Invasive Intraocular Drug Delivery." *Drug Delivery and Translational Research* 6(6): 800–815. doi:10.1007/s13346-016-0332-9.
- Thakur Singh, Raghu Raj, Ismaiel Tekko, Kathryn McAvoy, Hannah McMillan, David Jones, and Ryan F Donnelly. 2017. "Minimally Invasive Microneedles for Ocular

- Drug Delivery.” *Expert opinion on drug delivery* 14(4): 525–37. doi:10.1080/17425247.2016.1218460.
- Thomas, P A, and J Kaliyamurthy. 2013. “Mycotic Keratitis: Epidemiology, Diagnosis and Management.” *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 19(3): 210–20. doi:10.1111/1469-0691.12126.
- Ting, Darren Shu Jeng, Charlotte Shan Ho, Rashmi Deshmukh, Dalia G Said, and Harminder S Dua. 2021. “Infectious Keratitis: An Update on Epidemiology, Causative Microorganisms, Risk Factors, and Antimicrobial Resistance.” *Eye (London, England)* 35(4): 1084–1101. doi:10.1038/s41433-020-01339-3.
- Tirucherai, Giridhar S, and Ashim K Mitra. 2003. “Effect of Hydroxypropyl Beta Cyclodextrin Complexation on Aqueous Solubility, Stability, and Corneal Permeation of Acyl Ester Prodrugs of Ganciclovir.” *AAPS PharmSciTech* 4(3): E45. doi:10.1208/pt040345.
- Torres, M A, J Mohamed, H Cavazos-Adame, and L A Martinez. 1985. “Topical Ketoconazole for Fungal Keratitis.” *American journal of ophthalmology* 100(2): 293–98. doi:10.1016/0002-9394(85)90795-0.
- Trucillo, Paolo. 2022. “Drug Carriers: A Review on the Most Used Mathematical Models for Drug Release.” *Processes* 10(6): 1094. doi:10.3390/pr10061094.
- Valente, Artur J M, and Olle Söderman. 2014. “The Formation of Host-Guest Complexes between Surfactants and Cyclodextrins.” *Advances in colloid and interface science* 205: 156–76. doi:10.1016/j.cis.2013.08.001.
- Volpe-Zanutto, Fabiana, Lalitkumar K Vora, Ismaiel A Tekko, Peter E McKenna, Andi Dian Permana, Akmal H Sabri, Qonita K Anjani, et al. 2022. “Hydrogel-Forming Microarray Patches with Cyclodextrin Drug Reservoirs for Long-Acting Delivery of Poorly Soluble Cabotegravir Sodium for HIV Pre-Exposure Prophylaxis.” *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society* 348: 771–85. doi:10.1016/j.jconrel.2022.06.028.
- Vora, Lalit K, Pradeep R Vavia, Eneko Larrañeta, Steven E J Bell, and Ryan F Donnelly. 2018. “Novel Nanosuspension-Based Dissolving Microneedle Arrays for Transdermal Delivery of a Hydrophobic Drug.” *Journal of interdisciplinary nanomedicine* 3(2): 89–101. doi:10.1002/jin2.41.
- Walfish, S. 2006. “Analytical Methods: A Statistical Perspective on the ICH Q2A and Q2B Guidelines for Validation of Analytical Methods TYPES OF ANALYTICAL METHODS.” <http://www.biopharminternational.com/biopharm/content/printContentPopup.jsp?id=392483>.
- Wang, Qiuxiang, Aiwen Zhang, Lu Zhu, Xuewen Yang, Guihua Fang, and Bo Tang. 2023. “Cyclodextrin-Based Ocular Drug Delivery Systems: A Comprehensive Review.” *Coordination Chemistry Reviews* 476: 214919. doi:10.1016/j.ccr.2022.214919.
- Wu, Yu, Lalitkumar K Vora, Ryan F Donnelly, and Thakur Raghu Raj Singh. 2023. “Rapidly Dissolving Bilayer Microneedles Enabling Minimally Invasive and Efficient Protein Delivery to the Posterior Segment of the Eye.” *Drug delivery and translational research* 13(8): 2142–58. doi:10.1007/s13346-022-01190-x.
- Wu, Yumei, Yuanyuan Liu, Xinyue Li, Dereje Kebebe, Bing Zhang, Jing Ren, Jun Lu, et al. 2019. “Research Progress of In-Situ Gelling Ophthalmic Drug Delivery System.” *Asian journal of pharmaceutical sciences* 14(1): 1–15. doi:10.1016/j.ajps.2018.04.008.
- Xia, Huiyun, Jingjing Yang, Fei Song, Guojuan Pu, Fudan Dong, Zhen Liang, and Junjie Zhang. 2024. “Development of Ion-Triggered in Situ Gel Containing Ketoconazole/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin for Ocular Delivery: In Vitro and in Vivo Evaluation.” *Drug delivery* 31(1): 2424217. doi:10.1080/10717544.2024.2424217.

- Xu, Peng-Wei, Xiao-Fan Yuan, Hang Li, Yuan Zhu, and Bing Zhao. 2023. "Preparation, Characterization, and Physicochemical Property of the Inclusion Complexes of Cannabisin A with β -Cyclodextrin and Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin." *Journal of Molecular Structure* 1272: 134168. doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134168.
- Yadav, Khushwant S, Rahul Rajpurohit, and Sushmita Sharma. 2019. "Glaucoma: Current Treatment and Impact of Advanced Drug Delivery Systems." *Life Sciences* 221: 362–76. doi:https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.02.029.
- Yang, Yingjia, and Alastair Lockwood. 2022. "Topical Ocular Drug Delivery Systems: Innovations for an Unmet Need." *Experimental Eye Research* 218: 109006. doi:https://doi.org/10.1016/j.exer.2022.109006.
- Yao, Yashu, Yan Xie, Chao Hong, Guowen Li, Hongyi Shen, and Guang Ji. 2014. "Development of a Myricetin/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Inclusion Complex: Preparation, Characterization, and Evaluation." *Carbohydrate Polymers* 110: 329–37. doi:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.006.
- Youssef, Ahmed, Narendar Dudhipala, and Soumyajit Majumdar. 2020. "Ciprofloxacin Loaded Nanostructured Lipid Carriers Incorporated into In-Situ Gels to Improve Management of Bacterial Endophthalmitis." *Pharmaceutics* 12(6). doi:10.3390/pharmaceutics12060572.
- Zarei Chamgordani, Nasrin, Sasan Asiaei, Fatemeh Ghorbani-Bidkorpeh, Masoud Babaee Foroutan, Mostafa Dahmardehei, and Hamid Reza Moghimi. 2024. "A Long-Lasting Triamcinolone-Loaded Microneedle Patch for Prolonged Dermal Delivery." *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR* 23(1): e138857. doi:10.5812/ijpr-138857.
- Zhang, Junjie, Liya Wang, Changfeng Gao, Li Zhang, and Huiyun Xia. 2008. "Ocular Pharmacokinetics of Topically-Applied Ketoconazole Solution Containing Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrin to Rabbits." *Journal of ocular pharmacology and therapeutics: the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics* 24(5): 501–6. doi:10.1089/jop.2008.0015.
- Zhao, Lin, Jiamei Chen, Bai Bai, Guili Song, Jingwen Zhang, Han Yu, Shiwei Huang, Zhang Wang, and Guanghua Lu. 2023. "Topical Drug Delivery Strategies for Enhancing Drug Effectiveness by Skin Barriers, Drug Delivery Systems and Individualized Dosing." *Frontiers in pharmacology* 14: 1333986. doi:10.3389/fphar.2023.1333986.
- Zheng, Pinxuan, Xueying Liu, Yanqing Jiao, Xuran Mao, Zhaorong Zong, Qi Jia, Heng Bo Jiang, Eui-Seok Lee, and Qi Chen. 2024. "Preparation and Evaluation of Poloxamer/Carbopol In-Situ Gel Loaded with Quercetin: In-Vitro Drug Release and Cell Viability Study." *Tissue engineering and regenerative medicine* 21(8): 1153–71. doi:10.1007/s13770-024-00671-z.

BAB IV PEMBAHASAN UMUM

Infeksi kornea yang disebabkan oleh jamur (*fungal keratitis*) tetap menjadi tantangan utama dalam oftalmologi karena kecenderungan untuk menyebabkan kehilangan penglihatan yang permanen jika terapi tidak optimal. Halangan anatomi dan fisiologis mata menjadi salah satu faktor dalam ketidakcapaian keberhasilan pengobatan mata. Secara fisiologis, larutan air mata dapat membersihkan (*washout*) obat-obat yang diberikan di mata. Selain itu, refleks berkedip, juga dapat menjadi penghalang kontak antara obat dengan jaringan (Khiev et al. 2021). Secara anatomi, mata memiliki sawar darah retina, yang dapat menjadi penghalang dalam penghantaran secara injeksi. Hal-hal ini yang akhirnya membuat pengobatan tidak optimal karena bioavailabilitas obat dalam sel target rendah (Onugwu et al. 2023).

Ketokonazol (KOZ), sebagai agen antijamur imidazol spektrum luas, menunjukkan aktivitas efektif terhadap berbagai patogen jamur, tetapi terbatasnya kelarutan dalam air dan bioavailabilitas okular yang rendah secara signifikan menghambat efikasi klinisnya ketika diberikan sebagai tetes mata dan salep mata konvensional (misalnya karena kurangnya konsentrasi obat yang mencapai jaringan kornea yang dalam) sehingga menurunkan efektivitas terapeutik (Xia et al. 2024) (Torres et al. 1985).

Salah satu pendekatan dalam menangani keterbatasan kelarutan yang rendah dari KOZ adalah membentuknya dalam kompleks inklusi dengan jenis-jenis siklodekstrin. Siklodekstrin merupakan senyawa oligosakarida siklik yang memiliki dua sifat yaitu pada kompartemen luar bersifat hidrofilik dan kompartemen dalam yang berongga bersifat lipofilik. Obat berada dalam rongga yang bersifat lipofilik membentuk kompleks inklusi dengan siklodekstrin (Garg et al. 2019). Siklodekstrin meningkatkan ketersediaan obat pada membrane penghalang sehingga penghantaran obat topical ke tempat target jadi meningkat pula. Hipotesis tentang bagaimana siklodekstrin meningkatkan permeasi obat melalui biomembran adalah ketika lapisan air mata merupakan penghalang permeasi utama, penggabungan siklodekstrin dalam formulasi akan meningkatkan permeasi obat melalui lapisan air mata dengan meningkatkan gradien konsentrasi obat melintasi barrier tersebut (Muankaew, Jansook, and Loftsson 2017). Dalam larutan air, molekul obat yang terjerap di rongga tengah berada dalam kesetimbangan dinamis dengan molekul obat bebas. Selanjutnya molekul lipofilik dalam media kompleksasi berair akan bersaing satu sama lain untuk mendapatkan ruang di rongga. Meski siklodekstrin tersedia dalam ikatan dengan obat, hanya dalam jumlah yang kecil, siklodekstrin atau kompleks obat/siklodekstrin yang mampu menembus penghalang biologis lipofilik yang disebabkan karena ukuran dan hidrofilitasnya. Di permukaan, molekul obat berpartisi dari rongga siklodekstrin ke dalam penghalang lipofilik. Dengan demikian, penghantaran obat dari larutan siklodekstrin berair dikontrol secara difusi dan dikontrol oleh membrane (T Loftsson and Masson 2001).

Dalam penelitian ini jenis siklodekstrin yang digunakan adalah hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD). HP- β -CD adalah turunan β -CD yang sangat larut dalam air dan banyak digunakan dalam formulasi obat oftalmik, transdermal, dan oral. Hal ini disebabkan karena adanya penambahan gugus hidroksipropil yang dapat meningkatkan

hidrofilisitasnya. Dibandingkan dengan siklodekstrin alamiah (β -CD), modifikasi ini menghasilkan kelarutan dalam air yang jauh lebih baik. Ini karena HP β CD lebih baik dalam meningkatkan kelarutan obat lipofilik, yang penting untuk obat seperti KOZ yang sulit larut dalam air. Ini karena siklodekstrin alamiah (β -CD) memiliki kelarutan intrinsik yang rendah, yang sering membatasi pembentukan kompleks inklusi obat dalam media akuatik. Salah satu keunggulan utamanya adalah toksisitas minimal, sehingga cocok untuk pelepasan obat berkelanjutan dan peningkatan bioavailabilitas (Omidian, Akhzarmehr, and Gill 2025). HP- β -CD tidak hanya meningkatkan kelarutan obat tetapi juga meningkatkan stabilitas kimia molekul obat terhadap degradasi (mis. degradasi fotokimia atau oksidatif), serta dapat memperbaiki profil pelepasan obat. Derivat siklodekstrin seperti HP- β -CD telah dilaporkan mampu menghasilkan kompleks inklusi dengan konstanta stabilitas yang lebih tinggi dan pelepasan obat yang lebih terkendali dibandingkan siklodekstrin alamiah, mendukung efikasi terapeutik yang lebih tinggi dalam penghantaran obat (Khatoon, Faudzi, and Sohajda 2025). Selain kelarutan, HP- β -CD sangat berguna dalam penghantaran obat ocular karena mampu membantu obat melewati lapisan mukosa dan lapisan air mata dengan lebih efektif, meningkatkan permeabilitas obat dari kompleks inklusi ke jaringan target. Dalam studi eksperimental pada *prodrug* ganciclovir, HP- β -CD meningkatkan permeasi kornea lebih dari formulasi tanpa siklodekstrin dengan melarutkan obat lipofilik terlebih dahulu sehingga distribusi melalui lapisan mukosa menjadi lebih efektif (Tiruchera and Mitra 2003).

Dari hasil penelitian diperoleh terdapat 10 formula kompleks inklusi KOZ dengan HP- β -CD. Dilakukan uji *molecular docking*, pengujian *phase solubility*, *saturasi solubility*, analisis padatan meliputi uji FTIR dan XRD, uji pelepasan *in vitro*, uji daya hambat dan uji iritasi terhadap formula yang optimal. Uji *molekuler docking* menunjukkan bahwa KOZ mampu berinteraksi dengan rongga HP- β -CD dengan nilai ikatan energi berada pada -3.05. Pada pengujian *phase solubility* dan *saturasi solubility* mengonfirmasi keberhasilan kompleksasi dengan formulasi F5 (rasio KOZ:HP- β -CD = 1:2,5) teridentifikasi sebagai formulasi terbaik, yang menghasilkan peningkatan signifikan dalam ketersediaan KOZ dalam air. Analisis keadaan padat (XRD dan FTIR) menunjukkan amorfisasi KOZ di dalam rongga HP- β -CD. Studi pelepasan *in vitro* menunjukkan pembebasan KOZ yang hampir sempurna dari kompleks inklusi, sementara uji zona inhibisi antijamur mengonfirmasi bahwa potensi antijamur KOZ tetap terjaga. Formula optimal memperlihatkan bahwa kompleksasi KOZ dengan HP- β -CD tidak mengurangi potensi antifungalnya.

Penerapan obat ke jaringan kornea yang lebih dalam masih menghadapi tantangan fisiologis yang signifikan. Teknologi microneedle telah muncul sebagai platform penghantaran obat okular yang sangat menjanjikan untuk mengatasi masalah permeasi. Jarum yang berukuran mikro digunakan untuk menembus bagian superfisial jaringan ocular, seperti sclera atau corneal epitel, dengan tingkat invasif yang minimal. Ini memungkinkan obat untuk lebih masuk ke jaringan target tanpa perlu menggunakan prosedur injeksi tradisional yang invasi (Gadziński et al. 2022). Secara komprehensif menunjukkan bahwa microneedle, termasuk jenis *dissolvable* memiliki kapasitas untuk mengatasi berbagai hambatan korneal dan meningkatkan bioavailabilitas obat di dalam jaringan ocular. Misalnya, *dissolvable microneedles* yang terbuat dari polimer yang larut dapat melepaskan obat secara langsung ke dalam jaringan kornea setelah matriksnya

berpenetrasi kemudian mengintegrasikan teknologi patch ocular yang mudah digunakan dan meningkatkan penetrasi obat tanpa risiko injeksi invasif (Rojekar et al. 2024). Sistem microneedle ini sangat cocok untuk pengantaran obat lipofilik yang memiliki keterbatasan kelarutan dan penetrasi seperti KOZ, meskipun studi spesifik aplikasi microneedle untuk ketokonazol masih terbatas dalam publikasi primer. Mekanisme dasar microneedle untuk *ocular delivery*, termasuk kemampuan untuk *bypass* mekanisme drainase lakrimal dan memberikan depot obat pada jaringan target, memberikan potensi untuk meningkatkan efek terapeutik dengan mengurangi frekuensi pemberian dan dosis total yang diperlukan (Gadziński et al. 2022)

Secara teoritis, *microneedle patch* yang dimuat dengan kompleks inklusi aktif obat dapat menembus epitel kornea, kemudian secara lokal melepaskan obat dalam bentuk terlarut yang mudah diserap, sehingga menyediakan dua tahap keuntungan: (1) *bypass* barrier epitel dan (2) deposit obat terlarut yang stabil sehingga mempercepat onset kerja dan meningkatkan konsentrasi lokal tanpa mengorbankan tolerabilitas jaringan (Glover et al. 2023).

Pada penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan penghantaran KOZ dengan membentuk kompleks inklusi menggunakan hidrokisipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD) dan menginkorporasikannya ke dalam *patch microneedle* yang dapat larut (DSMN). Formulasi DSMN yang optimal (D3) menunjukkan kekuatan mekanik yang tinggi, kemampuan penetrasi yang konsisten melalui lapisan Parafilm®M, dan pelarutan ujung jarum yang cepat dalam 15 menit setelah kontak dengan kornea. Studi stabilitas menunjukkan tingkat transmisi uap air yang rendah serta penyerapan kelembapan yang minimal, mendukung stabilitas dan penyimpanan DSMN. Analisis padatan melalui pengujian XRD dan FTIR mengindikasikan terjadinya amorfisasi KOZ di dalam rongga HP- β -CD serta keberhasilan inkorporasinya ke dalam matriks polimer SH/PVP tanpa adanya indikasi inkompatibilitas. Uji retensi menggambarkan bahwa DSMN-KOZ mampu melokalisasi obat secara efektif di kornea, sedangkan uji permeasi menunjukkan sekitar 55% kandungan KOZ terpermeasi dalam 24 jam. Secara keseluruhan, model infeksi antijamur secara *in vivo* menunjukkan peningkatan eliminasi jamur yang signifikan, dimana DSMN menghasilkan hingga 85% penurunan beban jamur, melampaui efektivitas tetes mata dan salep konvensional. Dengan demikian, DSMN-KOZ merupakan platform penghantaran obat okular yang minimal invasif, stabil, dan sangat efektif, yang menawarkan onset cepat, retensi obat yang berkepanjangan, dan efikasi antijamur yang superior, sehingga mendukung potensi penerapannya dalam terapi keratitis jamur.

Untuk meningkatkan kinerja zat aktif dalam bekerja dibutuhkan bentuk sediaan yang optimal. Pada pengobatan mata secara topical, bentuk tetes mata dan salep mata biasanya digunakan, namun kedua sediaan ini memiliki keterbatasan dalam menghadapi efek anatomi dan fisiologis mata, akibatnya bioavailabilitas dari obat menjadi sedikit. Setelah pemakaian tetes mata, obat cepat terdilusi dan dibersihkan oleh turnover air mata ($\sim 1\text{--}2\ \mu\text{L}/\text{min}$) dan refleks kedip, sehingga durasi kontak obat dengan permukaan okular sangat singkat. Akibatnya, konsentrasi obat di permukaan kornea dan jaringan penyerapan berkurang drastis dalam hitungan detik hingga menit, yang memerlukan pemberian ulang yang sering untuk mempertahankan efektivitas terapeutik (Akhter et al.

2022). Sedangkan salep mata memberikan ketidaknyamanan pada mata dikarenakan basis salep bersifat lemak dan memiliki viskositas yang tinggi.

Thermoresponsive in-situ gel (TOR) hadir dengan menawarkan keuntungan klinis penting untuk terapi okular dengan memperlambat mekanisme eliminasi obat dari permukaan okular, meningkatkan waktu retensi, dan memfasilitasi kontrol pelepasan obat yang lebih lamanya, yang sangat dibutuhkan dalam pengobatan infeksi jamur kronis yang memerlukan konsentrasi terapeutik stabil lokal untuk menekan pertumbuhan jamur secara efektif. Gel ini memanfaatkan perubahan fase cair ke gel akibat respons suhu sehingga tetap nyaman diinstilasi sebagai tetes, kemudian berubah menjadi matriks viskoelastik pada permukaan mata yang menunda hilangnya obat akibat drainase lakrimal dan gerakan kelopak mata (Chaiwut et al. 2025).

Dalam penelitian ini mengembangkan sediaan (TOR) yang menginkorporasikan KI-KOZ guna meningkatkan kelarutan, retensi okular, dan efektivitas antijamur. Gel diformulasikan menggunakan poloxamer 407, Poloxamer 188, dan HPMC K100, kemudian dikarakterisasi melalui evaluasi suhu gelasi (*Tsol-gel*), pH, viskositas, sifat mukoadhesif, *drug content*, permeasi *ex vivo*, uji retensi okular, uji iritasi *HET-CAM*, serta aktivitas antijamur *secara in vivo*. Hasil menunjukkan bahwa formula optimal T12 memiliki *Tsol-gel* 37°C, pH 7,4, dan viskositas meningkat dari 69,53 cps (sol) menjadi 7066 cps (gel). Kekuatan mukoadhesif tercatat 150,64 dyne/cm², sedangkan *drug content* berada pada 99,31%. Studi permeasi *ex vivo* menunjukkan bahwa penghantaran transkorneal dari gel TOR-KOZ pada jam ke 24 sekitar 31,141%. Uji retensi menunjukkan bahwa sekitar 50,11% obat tertahan di mata. Hasil *HET-CAM* mengonfirmasi keamanan sediaan tanpa indikasi iritasi. Aktivitas antijamur secara *in vivo* pada model infeksi kornea pada kelinci memperlihatkan penurunan beban jamur hingga mencapai 66%, setelah 14 hari terapi. Secara keseluruhan, formulasi gel TOR-KOZ berhasil meningkatkan retensi okular dan aktivitas antijamur dengan profil keamanan yang baik, sehingga berpotensi sebagai sistem penghantaran obat okular yang lebih efektif untuk terapi infeksi jamur.

Berdasarkan hasil pengujian dari kedua sistem penghantaran obat di atas, jika dibandingkan antar keduanya, terlihat bahwa sistem penghantaran melalui sediaan DSMN memiliki keunggulan dibandingkan sistem *thermoresponsive in situ gel*. Namun secara keseluruhan, kedua strategi tersebut dapat menciptakan penghantaran KOZ yang lebih efisien untuk pengobatan keratitis jamur terdiri dari kombinasi kompleks inklusi siklodekstrin untuk meningkatkan kelarutan, gel *in-situ* yang responsif terhadap panas untuk retensi dan pelepasan precorneal yang berkelanjutan, dan *patch mikroneedle* di mata untuk meningkatkan penetrasi. Setiap teknologi berupaya mengatasi keterbatasan formulasi konvensional, dan ketika digunakan bersama, diharapkan dapat mencapai konsentrasi terapeutik lokal yang lebih tinggi di kornea, mengurangi efek samping sistemik, dan meningkatkan kepatuhan pasien melalui pengurangan frekuensi aplikasi. Semua ini diharapkan menghasilkan hasil klinis yang lebih baik secara keseluruhan. Namun demikian, evaluasi menyeluruh secara *in vivo* dan studi klinis masih diperlukan untuk memastikan bahwa kombinasi teknologi ini aman, tolerable, dan efektif dalam pengobatan jamur kornea pada manusia.

BAB V

KESIMPULAN UMUM

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Sediaan *Dissolving Microneedle* (DSMN) dan *Thermoresponsive In Situ Gel* (TOR) yang mengandung kompleks inklusi ketokonazol dapat meningkatkan efektivitas antijamur dari ketokonazol
2. Hasil pengujian karakteristik dan uji aktivitas antijamur, sediaan *Dissolving Microneedle* (DSMN) memiliki keunggulan dibanding sediaan *Thermoresponsive In Situ Gel* (TOR).