

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hansens disease merupakan penyakit menular yang disebabkan akibat infeksi bakteri *Mycobacterium leprae* sehingga menyebabkan lesi pada kulit hingga kecatatan fisik. Penyakit tersebut ditularkan melalui udara maupun kontak langsung dengan pengidap (Chen *et al.*, 2022). Berdasarkan data yang diperoleh terdapat 174.087 kasus *Hansens disease* di seluruh dunia pada tahun 2022 dan akan terus meningkat hingga tahun 2030.

Menurut data *World Health Organization* (WHO), pengobatan yang dapat dilakukan untuk mengatasi penyakit tersebut adalah penggunaan *Multy Drug Therapy* (MDT) yang dikonsumsi melalui rute oral seperti dapsone, rifampisin dan clofazimineselama 6-12 bulan agar mencapai efek terapeutik dari obat tersebut, akan tetapi MDT dapat menimbulkan efek samping seperti reaksi alergi, perubahan pigmen pada kulit dan fotosensitivitas serta resistensi obat. Hal tersebut didukung oleh data terbaru yaitu sebanyak 37%-45% pasien dapat mengalami efek samping akibat penggunaan MDT pada terapi *Hansens disease* (Pino-y-Torre *et al.*, 2022; Nabi *et al.*, 2019). Oleh karena itu dibutuhkan terapi alternatif yang optimal dalam mengatasi penyakit *Hansens disease*.

Salah satu alternatif yang dapat dimanfaatkan yaitu menggunakan ekstrak tanaman yang mengandung senyawa bioaktif, berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak yang dapat mengatasi *Hansens disease* adalah ekstrak *Chaulmoogra* (Elkordy *et al.*, 2023). Namun ekstrak tersebut memiliki kekurangan yaitu harus dikombinasikan dengan obat antileprotik lainnya. Selain itu apabila dikonsumsi secara oral akan menimbulkan rasa pahit dan kemampuan penetrasi yang rendah pada pemberian secara topikal sehingga mengurangi efek terapeutiknya, sehingga diperlukan ekstrak tanaman yang dapat memberikan efek terapeutik dan dapat mengatasi efek pada ekstrak yang dapat menembus lapisan kulit (Mushtaq dan Wermager, 2023; Port *et al.*, 2023).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, salah satu tanaman yang dapat menghambat dan membunuh bakteri *Mycobacterium leprae* adalah ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*). Pada tahun 1887 menandai awal penggunaan klinis dari *Centella asiatica* sebagai agen penyembuh yang efektif untuk lesi kusta. Kandungan yang memiliki aktivitas terapeutik yang diisolasi dari tanaman tersebut adalah asam triterpen saponin dan ester, khususnya asam *asiatic*, asam *madecassic*, dan *asiaticosides*, yaitu *asiaticoside*, *asiaticoside A*, dan *asiaticoside B*, dimana *asiaticoside* (ASC) dapat merusak lapisan asam mikolat sel bakteri, sehingga dapat menghambat dan membunuh bakteri *Mycobacterium leprae* (Asisi, 2022; Nabi *et al.*, 2019). Ekstrak tanaman CA memiliki kandungan antioksidan dan antiinflamasi yang dapat membantu dalam penyembuhan lesi kulit serta mengurangi peradangan akibat infeksi

Mycobacterium leprae (Idris dan Nadzir., 2021). Namun senyawa tersebut memiliki tingkat permease yang rendah pada kulit (Alqahtani *et al.*, 2021), sehingga diperlukan sistem penghantaran yang mampu mengantarkan ekstrak *Centella asiatica* untuk bekerja secara optimal. Sistem penghantaran yang mampu menghantarkan ekstrak *Centella asiatica* agar dapat bekerja secara optimal adalah *pH-sensitive hydrogel* (PSH), dimana PSH akan mengalami gelasi sehingga gel akan bertahan lama pada lesi kulit dengan pH 6,5-8,0 bersifat vikoelastik (Bharath *et al.*, 2020). PSH efektif mengatasi lesi kulit karena mampu meningkatkan penetrasi obat, kelarutan obat, dan memungkinkan pengendalian dosis yang lebih baik dalam pengiriman obat (Hendi *et al.*, 2020; Carton *et al.*, 2023). *pH-sensitive hydrogel* diformulasikan dengan polimer yang memiliki sensitifitas yang baik pada pH yaitu Carbopol 940, kemudian dikombinasikan dengan *Hydroxy Propyl Methyl Cellulose* (HPMC) agar dapat berperan sebagai *gelling agent* dan peningkat viskositas, sehingga mampu mengontrol difusi ekstrak CA dan menghasilkan sistem pelepasan obat yang lebih optimal (Mahajan *et al.*, 2020). Oleh karena itu diperlukan pengujian pelepasan ekstrak dari sediaan *pH-sensitive hydrogel* untuk mengetahui profil dan mekanisme pelepasan sehingga dapat mengevaluasi kemampuan *pH-sensitive hydrogel* dalam melepaskan ekstrak secara hingga pada lapisan kulit dermis dan saraf tepi secara optimal.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan dapat diperoleh rumusan masalah yaitu

1. Bagaimana formulasi *pH-sensitive hydrogel* yang optimal dalam menghantarkan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*)
2. Bagaimana profil dan mekanisme pelepasan ekstrak tersebut berdasarkan hasil uji *In vitro* dan *Ex vivo*.

1.3 Tujuan penelitian

Adapun tujuan dari penelitian tersebut yaitu

1. Mengetahui formulasi *pH-sensitive hydrogel* ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) yang baik
2. Mengetahui profil dan mekanisme pelepasan *pH-sensitive hydrogel* ekstrak daun pegagan melalui uji *In vitro* dan *Ex vivo*.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah gelas (*Pyrex*), centrifuge, mikropipet (*Memmert*), botol duran, spoit 1 mL, spektrofotometer UV-VIS, timbangan analitik Ohaus, difusi franz, tabung eppendorf 1,5 mL, *magnetic stirrer* dan vial.

2.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah *aquadest*, kulit tikus, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), *Hydroxypropyl Methylcellulose* (HPMC K4 M), Carbopol 940, ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan etanol 70%.

2.2 Metode Kerja

2.2.1 Ekstraksi *Centella asiatica*

Proses ekstraksi dilakukan dengan menyortir dan mencuci sampel menggunakan air mengalir. Kemudian sampel dikeringkan dengan suhu 50°C menggunakan oven. Setelah itu, dilakukan proses penghalusan di blender dan diperoleh serbuk simplisia. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi selama 48 jam menggunakan pelarut etanol 70% perbandingan 1:10 (w/v). Ekstrak yang telah dimaserasi akan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40 °C sampai diperoleh ekstrak kental dan hasilnya ditimbang (Khusnul et al., 2021).

2.2.2 Formulasi *pH-sensitive hydrogel*

Formulasi dibuat dengan perpaduan Carbopol 940 dan HPMC yang dicampurkan dengan berbagai konsentrasi 10% b/v ekstrak *Centella asiatica*. Proses dilakukan dengan melarutkan HPMC dalam *aquadest* pH 5,5 dan dipanaskan pada suhu 40°C, serta homogenkan menggunakan *magnetic stirrer* kecepatan 100 rpm. Setelah HPMC larut, tambahkan Carbopol 940 dan diaduk hingga tercampur rata. Setelah itu, ekstrak *Centella asiatica* dicampurkan dan didehidrasi selama 24 jam sebelum dilakukan pengujian (Ma et al., 2020).

Tabel 1. Konsentrasi formula *pH-sensitive hydrogel*

Formula	Konsentrasi (%B/V)			
	<i>Carbopol 940</i>	HPMC	Ekstrak CA	<i>Aquadest</i> (mL)
PSH 1	1	0,1	10	20
PSH 2	1	0,25	10	20
PSH 3	1	0,5	10	20
PSH 4	1	0,8	10	20
PSH 5	1	0,9	10	20

2.2.3 Uji Kapasitas Gel

Uji kapasitas gel dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan pembentukan gel dari sediaan *pH-sensitive hydrogel* (PSH). Pengujian dilakukan dengan mencampurkan formula PSH dengan larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 8,0 pada perbandingan 1:1, kemudian diamati perubahan visual yang terjadi pada sediaan Hydrogel (Bharath *et al.*, 2020). Penilaian gelasi diklasifikasikan ke dalam empat kategori, yaitu tidak terbentuk gel (-), gelasi kurang baik (+) yang ditandai dengan terbentuknya gel secara cepat namun melarut kembali dalam waktu 1–2 jam, gelasi baik (++) yang ditandai dengan pembentukan gel cepat dan bertahan selama 3–4 jam, serta gelasi sempurna (+++) yang ditandai dengan pembentukan gel cepat dan kemampuan mempertahankan struktur gel selama lebih dari 6 jam.

2.2.4 Pengukuran Viskositas dan Reologi

Pengukuran reologi PSH dalam bentuk sol-gel dilakukan menggunakan viskometer *brookfield* (model RV) dengan nomor spindel S-31 dengan kecepatan sudut berbeda (30, 50, 75, dan 100) (Jain *et al.*, 2020).

2.2.5 Uji pelepasan secara *In vitro*

Pengujian secara *In vitro* dilakukan agar dapat melihat kemampuan *pH-sensitive hydrogel* dalam melepaskan ekstrak *Centella asiatica* dengan kondisi pH yang berbeda (Suhail *et al.*, 2022). Media yang digunakan yaitu PBS pH kulit normal (4,5) dan pH kulit yang terinfeksi (pH 8,0). Formula yang paling optimal dimasukkan ke dalam botol duran yang berisi larutan PBS dengan suhu 37°C. Setelah itu, cairan dicuplik sebanyak 1 mL dengan interval waktu tertentu (0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 12 dan 24 jam) dan larutan diganti dengan larutan PBS baru dengan konsentrasi yang sama. Kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dimana pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali (Ghauri *et al.*, 2021).

2.2.6 Uji permeasi secara *Ex vivo*

Pengujian *Ex vivo* dilakukan menggunakan kulit tikus yaitu dibersihkan dan dicuci. Setelah itu, direndam dengan PBS pH 7,4 selama 10 menit. Kemudian kulit tikus disimpan pada kompartemen donor sel difusi franz dengan media PBS pH 4,5 dan pH 8,0 pada suhu 37°C dan diaduk dengan kecepatan 100 rpm. Setiap sampel ditambahkan dengan 1 mL formula PSH dan ekstrak CA yang paling optimal. Kemudian sampel diambil dan diganti dengan interval waktu tertentu (0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 12 dan 24 jam) dengan media baru dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Kouchak. *et al.*, 2019).

2.2.7 Analisis Statistika

Data hasil penelitian yang diperoleh dikumpulkan dan dianalisis menggunakan aplikasi Microsoft Excel dan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS®) dengan metode ONE-WAY ANOVA serta diolah dalam bentuk grafik menggunakan GraphPad Prism® versi 10.