

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Epilepsi merupakan salah satu masalah kesehatan global dengan angka prevalensi yang tinggi, diperkirakan sekitar 50 juta orang di seluruh dunia hidup dengan epilepsi (WHO, 2024). Epilepsi ditandai dengan adanya aktivitas listrik abnormal pada otak sehingga menimbulkan gejala berupa kejang berulang. Kondisi ini tidak hanya berdampak pada kesehatan fisik, tetapi juga menurunkan kualitas hidup penderita akibat keterbatasan sosial, stigma, serta risiko komorbiditas jangka panjang. Hingga saat ini, terapi epilepsi masih bertumpu pada penggunaan obat antiepilepsi (OAE) yang berfungsi menekan aktivitas neuron berlebih untuk mengendalikan kejang (Singh et al., 2017). Meskipun menjadi terapi utama, penggunaan obat antiepilepsi (OAE) menghadapi tantangan karena sebagian besar memiliki indeks terapeutik yang sempit dan variabilitas farmakokinetik tinggi antar individu. Variabilitas ini diperparah oleh perbedaan sifat fisikokimia OAE termasuk lipofilisitas, kelarutan, ikatan protein plasma, metabolisme enzimatik, serta interaksi obat yang menyebabkan respons farmakokinetik sangat heterogen di antara pasien. Kondisi ini menegaskan pentingnya pemantauan terapi obat untuk memastikan efektivitas dan keamanan terapi melalui penyesuaian dosis secara individual (Johannessen et al., 2023).

Pemantauan Terapi Obat (PTO)/*Therapeutic Drug Monitoring* (TDM) pada umumnya dilakukan dengan mengukur kadar obat dalam plasma darah menggunakan teknik analisis yang dikenal memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi. Namun, penggunaan darah sebagai matriks biologis yang diukur memiliki sejumlah keterbatasan, antara lain metode sampling bersifat invasif dan menimbulkan ketidaknyamanan pada pasien, serta berpotensi menyebabkan infeksi. Selain itu, pemeriksaan berbasis plasma membutuhkan tenaga medis terlatih sehingga kurang praktis untuk pemantauan rutin terutama pada pasien dengan terapi jangka panjang yang harus melakukan kunjungan berulang ke rumah sakit. Kondisi tersebut menunjukkan perlunya pendekatan TDM yang lebih praktis, minimal invasif, dan dapat diterapkan secara lebih luas dalam praktik klinis (Lennernäs et al., 2025; Liang et al., 2024).

Sekarang ini, cairan interstisial (*interstitial fluid*/ISF) mulai mendapat perhatian sebagai matriks alternatif karena komposisinya memiliki korelasi yang baik dengan kadar obat dalam plasma (Cao et al., 2024). Berbagai teknik telah dikembangkan untuk memperoleh ISF, namun masing-masing memiliki keterbatasan. Mikrodialisis merupakan metode yang paling luas digunakan karena mampu memberikan profil farmakokinetik secara *real time*, tetapi prosedurnya bersifat invasif, memerlukan implantasi *probe* ke dalam jaringan, dan berpotensi menimbulkan trauma serta respon inflamasi lokal sehingga tidak sesuai untuk pemantauan jangka panjang (Stenken et al., 2010). *Open flow microperfusion* (OFM) dikembangkan untuk mengatasi keterbatasan membran semi-permeabel pada mikrodialisis, tetapi tetap memerlukan instrumen teknis yang kompleks dan

pengaturan aliran cairan yang presisi, sehingga penerapannya masih terbatas pada penelitian eksperimental dibanding praktik klinis rutin (Jiang et al., 2024). Metode lain, seperti *suction blister*, memanfaatkan tekanan negatif untuk membentuk lepuhan kulit yang kemudian diambil cairannya; meskipun relatif sederhana, teknik ini menimbulkan ketidaknyamanan, risiko inflamasi lokal, serta dilusi analit sehingga mengurangi keandalan hasil untuk pemantauan berulang (Xie et al., 2024)

Salah satu pendekatan yang kini banyak dikembangkan untuk mengatasi keterbatasan metode sampling ISF konvensional adalah penggunaan *microneedle* berbasis hidrogel, yaitu jarum mikro berbasis polimer hidrofilik yang mampu menembus lapisan stratum korneum tanpa menimbulkan rasa sakit, kemudian menyerap cairan interstisial ke dalam matriks hidrogel. Teknologi ini tidak hanya memungkinkan pengambilan sampel yang lebih praktis, tetapi juga dapat diformulasikan dengan sifat mekanik dan kapasitas penyerapan yang sesuai melalui pemilihan serta variasi konsentrasi polimer yang digunakan (Kim et al., 2024; Ma et al., 2023).

Kombinasi polimer seperti PVA dan HA memungkinkan pembentukan matriks *microneedle* yang tidak hanya memiliki kekuatan mekanik dan fleksibilitas yang memadai untuk menembus stratum korneum, tetapi juga meningkatkan kemampuan penyerapan dan pelepasan obat secara terkontrol, serta memperkuat adhesi pada permukaan kulit (Omidian & Dey Chowdhury, 2025). PVA memiliki sifat elastisitas dan kekuatan mekanik yang tinggi, sehingga dapat mempertahankan bentuk jarum *microneedle* saat penetrasi. Sedangkan HA memiliki sejumlah keunggulan berupa sifat hidrofilik, kemampuan *swelling*, serta bioadhesivitas tinggi (Saha & Rai, 2021).

Meskipun *microneedle* berbasis hidrogel telah banyak dikembangkan untuk aplikasi penghantaran obat dan deteksi biomarker, hingga saat ini belum ada penelitian yang secara khusus mengevaluasi formulasi hidrogel *microarray* PVA–HA untuk TDM transdermal obat antiepilepsi. Dengan demikian, penelitian ini bermaksud untuk mengembangkan formula hidrogel *microneedle* berbasis PVA–HA untuk aplikasi TDM transdermal obat antiepilepsi, serta mengevaluasi karakteristik fisik, kapasitas *swelling*, serta kemampuan *uptake* baik secara *in vitro* maupun *ex vivo*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijabarkan, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh variasi konsentrasi HA dalam formulasi *microneedle* PVA-HA terhadap karakteristik serta performa ambilan obat lamotrigin secara *in vitro* dan *ex vivo*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh variasi konsentrasi HA dalam formulasi *microneedle* PVA-HA terhadap karakteristik serta performa ambilan obat lamotrigin secara *in vitro* dan *ex vivo*.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin pada bulan Oktober 2025-Januari 2026.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *centrifuge* (Oregon® tipe LC-04S), cetakan film silikon, cetakan *microneedle* silikon, instrumen kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) (Shimadzu® SPD-M20A DAD), mikropipet (Dragon OneMed®), mikroskop optik, *orbital shaker* (Optima®), oven (Mettler®), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1780®), timbangan analitik (Ohaus® tipe PA214), dan peralatan gelas lainnya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu air murni (OneMed®), asam hialuronat (HA), asam hidroklorida (HCl) 0,1 N (Merck®), asam oksalat (OA) (Merck®), etanol 70% (OneMed®), lamotrigin (LTG), Parafilm M®, PVA 85-124K (Sigma aldrich®), dan tablet *phosphate buffer saline* (PBS) (SigmaAldrich®).

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Pembuatan larutan stok polimer

Larutan stok PVA 25% b/b dibuat dengan mendispersikan PVA ke dalam air murni, kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 90°C hingga terbentuk larutan homogen. Larutan stok HA 5% b/b diperoleh dengan melarutkan HA ke dalam air murni (Himawan et al., 2023).

2.3.2 Pembuatan film hidrogel

Formulasi hidrogel *microarray* dikembangkan dengan menggunakan polimer utama, yaitu PVA dan HA, serta penambahan OA sebagai agen *crosslinking*. Variasi konsentrasi HA dirancang untuk memperoleh formula yang optimal, khususnya dalam menghasilkan sifat mekanik serta karakteristik fisikokimia yang mendukung aplikasi transdermal. Komposisi lengkap masing-masing formula disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi formula film hidrogel

Bahan	Konsentrasi (%)			
	PVA-HA ₀	PVA-HA ₁	PVA-HA ₂	PVA-HA ₃
PVA 85-124K 25%	40	40	40	40
Asam hialuronat 5%	0	10	20	30
Asam oksalat	5	5	5	5
Air murni	55	45	35	25

Tahap awal dimulai dengan melarutkan OA ke dalam air murni. Selanjutnya larutan OA dicampurkan dengan larutan HA. Setelah itu ditambahkan larutan PVA. Campuran yang terbentuk disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit untuk menghilangkan gelembung udara dalam campuran. Sebanyak 300 mg campuran dituangkan ke dalam cetakan silikon berbentuk persegi berukuran 12 × 12 × 3,2 mm. Selanjutnya campuran dibiarkan mengering pada suhu ruang selama 48

jam. Film hidrogel yang dihasilkan kemudian *dicrosslinked* pada suhu 100°C selama 1 jam (Himawan et al., 2023).

Tahap berikutnya adalah proses pencucian hidrogel dengan cara merendamnya dalam air murni selama dua siklus, masing-masing berdurasi 12 jam dengan penggantian air murni setelah siklus pertama. Hidrogel yang telah dicuci kemudian ditempatkan pada cawan petri, lalu dibiarkan selama 24 jam agar air sisa pencucian dapat menguap secara bertahap. Setelah itu, hidrogel dikeringkan lebih lanjut di dalam oven pada suhu 80°C selama 4 jam (Himawan et al., 2023).

2.3.3 Karakterisasi fisikokimia film hidrogel

Karakterisasi fisikokimia film hidrogel dilakukan menggunakan spektroskopi ATR-FTIR. Sampel diletakkan pada permukaan *diamond head* ATR dan dianalisis pada rentang bilangan gelombang 4000–750 cm⁻¹ dengan resolusi 4 cm⁻¹. Hasil pengukuran berupa pita-pita serapan spektrum inframerah dari gugus fungsi pada hidrogel (Himawan et al., 2023).

2.3.4 Karakterisasi *swelling*

Karakterisasi *swelling* dilakukan dengan memotong film hidrogel hingga berukuran 0,5 × 0,5 cm lalu ditimbang untuk mendapatkan massa awal (m_0). Potongan film tersebut dimasukkan ke dalam wadah berisi 15 ml media perendaman, yaitu air murni dan PBS pH 7,4. Pada interval waktu yang telah ditetapkan, film diangkat dari media kemudian ditempelkan perlahan pada kertas saring untuk menghilangkan sisa larutan di permukaannya. Setelah itu film ditimbang kembali sehingga diperoleh massa pada waktu t (m_t). Perubahan massa ini digunakan untuk menghitung persentase *swelling* dengan rumus yang ditunjukkan pada persamaan 1. Data hasil perhitungan kemudian digunakan untuk membuat grafik %S terhadap waktu (Himawan et al., 2023).

$$\%S = \frac{(m_t - m_0)}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

Setelah 24 jam, data untuk titik waktu terakhir diambil dan dicatat sebagai m_{eq} . Hidrogel kemudian dikeringkan dengan oven pada temperatur 80°C selama 24 jam. Hidrogel kering ditimbang dan dicatat sebagai massa hidrogel kering (m_x). *Equilibrium water content* (EWC) dihitung dengan menggunakan persamaan 2 dan *gel fraction* (GF) dihitung dengan menggunakan persamaan 3 (Himawan et al., 2023).

$$\%EWC = \frac{(m_{eq} - m_x)}{m_x} \times 100\% \quad (2)$$

$$\%GF = \frac{m_x}{m_0} \times 100\% \quad (3)$$

2.3.5 Uji koefisien partisi

Uji koefisien partisi dilakukan dengan menyiapkan larutan solut dalam konsentrasi 100 µg/mL dalam PBS pH 7,4. Sebanyak 1 mL larutan solut (V_0) dimasukkan ke dalam vial-vial terpisah, kemudian sepotong film hidrogel dimasukkan ke masing-masing vial. Vial yang berisi sampel dan larutan kontrol (tanpa hidrogel) ditempatkan

di atas *orbital shaker* pada suhu ruang yang beroperasi pada kecepatan 40 rpm. Selanjutnya, larutan diambil untuk dianalisis, dan konsentrasi analit yang tersisa dalam larutan uji (C_s) serta larutan kontrol (C_0) ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang sesuai. Koefisien partisi diukur dengan menggunakan rumus yang diberikan dalam persamaan 4. Data hasil perhitungan kemudian digunakan untuk mengevaluasi interaksi obat dengan matriks hidrogel (Himawan et al., 2023).

$$KD = \frac{C_m}{C_0} = \frac{\left(\frac{C_0}{C_s} - 1\right)V_0}{V_m} \quad (4)$$

Keterangan:

V_m = volume hidrogel (mL)

2.3.6 Ekstraksi obat

Proses ekstraksi balik dilakukan dengan menyiapkan larutan uji yang mengandung obat pada tiga tingkat konsentrasi, yaitu 25, 100, dan 250 $\mu\text{g/mL}$. Potongan film hidrogel kering dengan berat sekitar 20–25 mg dimasukkan ke dalam larutan tersebut. Vial yang berisi campuran hidrogel dan larutan diinkubasi dalam *orbital shaker* pada suhu 37°C dengan kecepatan 40 rpm selama 60 menit. Setelah tahap inkubasi selesai, hidrogel diangkat dan sisa larutan obat dikeringkan dengan menggunakan kertas saring, kemudian dipindahkan ke dalam vial bersih. Selanjutnya, ke dalam vial ditambahkan 1 mL larutan ekstraksi balik (PBS pH 7,4/HCl 0,1 N/Etanol 70%) dan disonikasi selama 1 menit dalam air dingin untuk mengekstraksi analit dari hidrogel. Konsentrasi analit pada larutan hasil ekstraksi kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Himawan et al., 2023).

2.3.7 Evaluasi hemolitik *in vitro*

Evaluasi hemolitik *in vitro* dilakukan dengan mengambil darah tikus kemudian disentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan plasma dari sel darah merah. Endapan sel darah merah dicuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak tiga kali hingga diperoleh suspensi jernih, kemudian diencerkan menggunakan PBS hingga mencapai konsentrasi akhir 10% v/v. Sebanyak 100 μL suspensi sel darah merah dimasukkan ke dalam *microtube*, lalu ditambahkan 900 μL larutan sampel pada tiga konsentrasi berbeda (500, 50, dan 5 $\mu\text{g/mL}$) yang telah diencerkan dengan PBS. Kontrol negatif digunakan PBS pH 7,4, sedangkan kontrol positif menggunakan air murni. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Setelah inkubasi, tabung disentrifugasi pada 7000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk diambil untuk diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Persentase hemolisis dihitung menggunakan persamaan 5 (Ilyas et al., 2024).

$$\% \text{Hemolisis} = \frac{\text{Abs sampel} - \text{Abs kontrol negatif}}{\text{Abs kontrol positif} - \text{Abs kontrol negatif}} \times 100\% \quad (5)$$

Data hasil perhitungan kemudian digunakan untuk mengevaluasi tingkat hemolisis yang terjadi.

2.3.8 Pembuatan *microneedle*

Pembuatan *hydrogel-forming microarray patches* (HF-MAPs) dilakukan dengan mencampurkan polimer dan agen *crosslinking* sesuai dengan komposisi yang telah ditetapkan pada tahap formulasi. Campuran larutan polimer kemudian dituangkan ke dalam cetakan silikon *microneedle* (berbentuk piramida, tinggi 700 μm , kerapatan jarum 10 x 10). Sebanyak 150 μL larutan polimer dimasukkan ke dalam cetakan, kemudian dimasukkan ke dalam *pressure chamber* pada tekanan 4 bar selama 15 menit lalu dibiarkan mengering pada suhu ruang selama 48 jam. *Microneedle* yang terbentuk selanjutnya *dicrosslinked* pada suhu 100°C selama 1 jam (Himawan et al., 2023).

Tahap berikutnya adalah proses pencucian HF-MAPs dengan cara merendamnya dalam air murni selama dua siklus, masing-masing berdurasi 12 jam dengan penggantian air setelah siklus pertama. Selanjutnya, HF-MAPs hasil pencucian diletakkan pada cawan petri, lalu dibiarkan selama 24 jam agar air sisa pencucian dapat menguap secara bertahap. Setelah itu, HF-MAPs dikeringkan lebih lanjut di dalam oven pada suhu 80°C selama 4 jam (Himawan et al., 2023).

2.3.9 Karakterisasi morfologi dan geometri

Sampel HF-MAPs diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran optik yang sesuai. Gambar diambil menggunakan kamera terintegrasi dalam mode terkalibrasi. Tinggi jarum dari tiga *patch* diukur dengan menggunakan *Software* Optilab Viewer dan Image Raster (Himawan et al., 2023).

2.3.10 Karakterisasi fisikomekanik

Karakterisasi fisikomekanik dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan jarum dalam menahan gaya tekan. HF-MAPs dipasang di atas empat lapis Parafilm M[®] dan diberi gaya sebesar 32 N/array selama 30 detik. Tinggi jarum sebelum dan setelah diberi tekanan diamati menggunakan mikroskop optik. Selisih tinggi jarum sebelum kompresi (H_0) dan setelah kompresi (H_c) dihitung untuk menentukan persentase penurunan tinggi jarum. Persentase penurunan tinggi jarum dihitung menggunakan persamaan 6 (Aziz et al., 2025)

$$\% \text{Reduksi tinggi jarum} = \frac{(H_0 - H_c)}{H_0} \times 100\% \quad (6)$$

Kemampuan penetrasi HF-MAPs dihitung berdasarkan jumlah lubang yang terbentuk pada setiap lapisan Parafilm M[®] setelah proses penekanan. Lapisan Parafilm M[®] dengan jumlah lubang terbanyak dan kedalaman penetrasi terdalam diidentifikasi sebagai indikator kemampuan penetrasi HF-MAPs (Aziz et al., 2025).

2.3.11 Evaluasi *ex vivo uptake*

Evaluasi *ex vivo uptake* HF-MAPs dilakukan dengan menggunakan model modifikasi Saarbrücken. Empat lapis kertas saring ditumpuk dan ditempatkan di dalam cawan petri, kemudian sepotong kulit tikus diletakkan secara hati-hati di atas permukaan kertas saring tersebut. Setelah itu, ditambahkan larutan obat sebanyak 5 mL dalam PBS pH 7,4 melalui sisi kertas saring, lalu seluruh sistem ditutup menggunakan penutup cawan petri dan diinkubasi dalam oven pada suhu 32°C selama 3,5 jam.

Setelah inkubasi, sisa larutan dibuang dengan hati-hati, dan permukaan kulit dikeringkan dengan tisu. Sebagian kulit kemudian dipotong sebagai sampel dan dimasukkan ke dalam *centrifuge*. Cairan interstitial (ISF) dipisahkan dari jaringan melalui proses sentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 30 menit, dan fraksi cair yang terkumpul di bagian bawah tabung dikumpulkan untuk dianalisis (Himawan et al., 2023).

Untuk uji pemantauan obat, HF-MAP diaplikasikan pada kulit yang telah diinkubasi dengan tekanan jari tangan sekitar 32 N/*array* selama 30 detik, kemudian dipasang beban logam seberat 10 g guna memastikan posisi tetap stabil. Setelah satu jam, HF-MAP dilepaskan dan dimasukkan ke dalam vial kaca berkapasitas yang berisi 1 mL cairan pengeksraksi, kemudian disonikasi selama 1 menit dalam air dingin (Himawan et al., 2023).

Selanjutnya jumlah lamotrigin dianalisis dengan menggunakan instrumen HPLC yang dilengkapi dengan detektor UV. Sebanyak 25 μ L sampel hasil ekstraksi disuntikkan ke sistem HPLC. Pemisahan dilakukan pada kolom C18 (250 mm $\times$ 4.6 mm) dengan fase gerak asetonitril-buffer fosfat (pH 6,5: 1 mM) (30:70, v/v) pada laju alir 1 mL/menit. Identifikasi senyawa ditentukan berdasarkan waktu retensi yang sesuai dengan standar murni, sedangkan kuantifikasi dilakukan menggunakan kurva kalibrasi larutan standar obat (Iván & Lidia, 2024).

2.3.12 Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan pendekatan analisis untuk menilai hasil yang diperoleh. Data dari percobaan akan diolah menggunakan Microsoft Excel®, sedangkan grafik, kurva, dan analisis statistik dibuat melalui *software* GraphPad® untuk melihat tingkat signifikansi data sesuai dengan jenis data dan rancangan penelitian. Pendekatan statistik yang digunakan ialah *One-Way* ANOVA dengan uji lanjutan *Dunnett's multiple comparisons test*. Data hasil statistik yang diperoleh kemudian dibahas dan dibuat kesimpulan.