

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Vaksin adalah sediaan yang mengandung zat antigenik yang mampu menimbulkan kekebalan aktif dan khas pada manusia (Farmakope Indonesia IV, 1995). Pemberian antigen untuk vaksinasi oral merupakan cara paling efektif untuk menginduksi toleransi imunologi terhadap protein antigen (Mowat, 1985). Ovalbumin merupakan model protein spesifik atau antigen yang banyak digunakan untuk karakterisasi *uptake*, proses, dan presentasi antigen pada Antigen – Presenting Cells (APCs), yang mana APCs efektif dapat menginduksi respon antigen-spesifik sel T (Bonifaz *et al.*, 2002). Ovalbumin dapat menginduksi sel T dengan mengaktifasi Peyer's patches, suatu jaringan limfosit yang penting pada usus (Richman *et al.*, 1981). Akan tetapi, ovalbumin bersifat *poor immunogenic*, sehingga ovalbumin ini diberikan secara berkala (O'hagen *et al.*, 1991). Oleh karena itu, untuk meningkatkan kepatuhan pasien, ovalbumin diformulasikan dalam sediaan mikrosfer lepas lambat yang dapat meningkatkan aktivitas anti-ovalbumin IgG (Hurtado *et al.*, 2006).

Ovalbumin berupa monomer, fosfolipoprotein globulin dengan berat molekul 44,5 kDa dan 385 residu asam amino (Nisbet *et al.*, 1981). Ovalbumin mengandung 3,5% karbohidrat dan 4 gugus sulfhidril bebas dan sebuah gugus disulfida. Ovalbumin dapat terdenaturasi akibat paparan panas, asam, absorpsi permukaan, agitasi, atau akibat agen denaturasi lainnya (Vadehra & Nath, 1973).

Untuk mengurangi frekuensi penggunaan dan melindungi ovalbumin dari denaturasi akibat asam lambung, maka ovalbumin dapat dihantarkan dalam sistem mikrosfer. Mikrosfer adalah salah satu sistem penghantaran obat baru yang dapat digunakan pada beberapa aplikasi. Mikrosfer berupa partikel sferis ($1\mu\text{m}$ hingga $1000\mu\text{m}$), beberapa menyebutkan sebagai mikropartikel (Aqueel *et al.*, 2013). Ukuran partikel merupakan salah satu parameter penting untuk menimbulkan efek imunogenik, karena partikel dengan ukuran $\leq 10\mu\text{m}$ memiliki efek imunogenik lebih tinggi daripada partikel dengan ukuran yang lebih besar (Eldridge *et al.*, 1991; O'Hagan *et al.*, 1991).

Mikrosfer terdiri dari bahan obat dan matriks. Pembuatan mikrosfer dapat melalui beberapa teknik, antara lain *solvent evaporation*, *hot-melt microencapsulation*, *solvent removal*, *spray drying*, *ionic gelation* dan *size extrusion* (Aqueel *et al.*, 2013). Dalam penelitian ini menggunakan metode gelasi ionotropik dengan teknik aerosolisasi, karena dalam prosesnya tidak melibatkan suhu tinggi dan pelarut organik. Metode ini sederhana, cepat, dan efektif (Yeo *et al.*, 2001). Pada pembuatan mikrosfer ini, larutan polimer yang mengandung bahan aktif diteteskan ke dalam larutan kation polivalen. Kemudian kation berdifusi ke dalam droplet polimer-bahan aktif, membentuk bentukan tiga dimensi ion sambung silang (Patil *et al.*, 2012). Berikutnya dilakukan proses pengeringan dengan metode *freeze drying*. *Freeze drying* menjadi suatu proses yang penting pada pengeringan bahan pengawet, dan *material* biologi yang sensitif terhadap panas (George & Datta, 2002; Dincer, 2003; Liu *et al.*, 2008).

Matriks polimer dapat melindungi antigen dari asam dan enzim pendegradasi pada saluran pencernaan dan juga menjaga kestabilan vaksin dan memperpanjang *shelf life* (William *et al.*, 1993). Partikel polimer yang *biodegradable*, memiliki potensi dalam kontrol penghantaran obat (Friese *et al.*, 2000; Gref *et al.*, 2001; Sa'ñchez *et al.*, 2003), memiliki kemampuan penghantaran hingga target organ atau jaringan tertentu (Panyam and Labhasetwar, 2003), menghantarkan DNA pada terapi gen (Mao *et al.*, 2001), memiliki kemampuan menghantarkan protein atau antigen (Calvo *et al.*, 1997; Pan *et al.*, 2002; Lemoine and Preat, 1998) dan oligonukleotida (Aynie' *et al.*, 1999).

Terdapat dua jenis polimer yang dapat digunakan dalam pembuatan mikropartikel, yaitu polimer alam dan polimer sintetis. Alginat adalah polimer alam, bersifat non toksik, biodegradable, biokompatibel, polisakarida yang ditemukan pada semua spesies alga coklat (Aslani and Kennedy 1996). Matriks natrium alginat telah banyak berkembang dan sukses memperpanjang pelepasan banyak obat (Stockwell *et al.*, 1986 ; Veski and Marvola, 1993; Ojantakanen *et al.*, 1993; Veski *et al.*, 1994). Terdapat dua jenis alginat berdasarkan strukturnya, yakni asam 1-4 linked β -D-manuronat (M) dan asam α -D-guluronat (G) (Patil *et al.*, 2012). Jenis polimer ini berpengaruh terhadap karakteristik mikrosfer. Stabilitas dan kekuatan ikatan mikrosfer meningkat pada penggunaan alginat tipe *high-G* dengan ion Ba^{2+} dibandingkan dengan ion Ca^{2+} (Morch *et al.*, 2006). Kemampuan alginat membentuk gel juga bergantung pada ion *multivalent* yang terikat melalui metode gelas ionotropik, di mana dispersi alginat dan bahan aktif yang akan dienkapsulasi ditambahkan pada larutan ion multivalent. Kontak antara droplet dengan ion multivalent secara langsung membentuk gel yang sferis, dan bahan

aktif terdispersi seragam melalui *crosslinked* matriks alginat (Smrdel, 2008).

Natrium alginat dapat membentuk gel dengan menggunakan kation bervalensi dua, yaitu Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , dan Sr^{2+} . Tetapi, kation Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} tidak dapat digunakan karena bersifat toksik (Gombotz, W *et al.*, 1998). Ion Barium (Ba^{2+}) dipilih pada *alginate gelation*, karena menunjukkan mekanisme sintesis mikrosfer yang stabil dengan sedikit pengembangan (Trivedi *et al.*, 2009). Ion Ba^{2+} memiliki afinitas yang tinggi pada ikatan sambung silang dibandingkan kation bervalensi dua lainnya, yaitu Ca^{2+} dan Sr^{2+} , yang berpengaruh pada kekuatan gel yang lebih baik, dan degradasi yang minimal (Trivedi *et al.*, 2009). Penggunaan konsentrasi alginat yang tinggi bercampur Ba^{2+} menghasilkan gel yang elastis dan fleksibel (Trivedi *et al.*, 2009). Ditinjau dari beberapa keuntungan tersebut, maka dalam penelitian ini matriks mikrosfer menggunakan polimer natrium alginat tipe *high G*, dengan larutan sambung silang $BaCl_2$.

Konsentrasi alginat dan larutan sambung silang $BaCl_2$ berpengaruh terhadap mikrosfer yang terbentuk. Peningkatan konsentrasi polimer dapat menghasilkan partikel yang lebih sferis (Joshi *et al.*, 2012). Sedangkan, peningkatan konsentrasi larutan sambung silang dapat menyebabkan penurunan ukuran partikel yang dihasilkan (Singh dan Kumar, 2012). Waktu cross linking, konsentrasi larutan alginat, dan konsentrasi larutan sambung silang mempengaruhi karakteristik mikrosfer, termasuk efisiensi enkapsulasi, *loading efficiency*, dan *yield* (Jin *et al.*, 2009). Semakin tinggi konsentrasi larutan sambung silang yang berikatan dengan natrium alginat, semakin besar efisiensi penjerapan dan menurunkan laju pelepasan obat (Morshed *et al.*, 2012). Semakin tinggi

konsentrasi polimer akan meningkatkan efisiensi penjerapan protein (Rafati *et al.*, 1997).

Agar bahan aktif efektif bekerja, maka terlebih dahulu bahan aktif harus lepas dari matriksnya. Beberapa faktor yang mempengaruhi pelepasan bahan aktif dari mikrosfer adalah konsentrasi polimer, konsentrasi larutan sambung silang, dan waktu sambung silang. Konsentrasi sodium alginat pada formulasi berpengaruh besar pada pelepasan *steady state* bahan aktif dari ikatan mikrosfer. Laju dan lama pelepasan obat menurun secara signifikan dengan meningkatnya konsentrasi larutan sambung silang (Manjanna *et al.*, 2010).

Dalam penelitian ini akan dipelajari pengaruh konsentrasi polimer alginat dan konsentrasi larutan sambung silang BaCl_2 terhadap karakteristik mikrosfer (ukuran, morfologi, kandungan protein, efisiensi pengebakan, dan perolehan kembali mikrosfer) dan pelepasan ovalbumin dari mikrosfer alginat. Pada penelitian ini, konsentrasi alginat yang digunakan adalah 2,5% b/v dan 3,5% b/v, sedangkan konsentrasi larutan BaCl_2 yaitu 0,5M dan 0,75M.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi polimer alginat terhadap karakteristik mikrosfer dan profil pelepasan ovalbumin dari sistem mikrosfer alginat yang dihasilkan melalui metode gelasi ionotropik teknik aerosolisasi?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi larutan sambung silang BaCl_2 terhadap karakteristik mikrosfer alginat yang dihasilkan melalui metode gelasi ionotropik teknik aerosolisasi?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan pengaruh konsentrasi alginat terhadap karakteristik mikrosfer dan profil pelepasan ovalbumin dari sistem mikrosfer alginat yang dihasilkan melalui metode gelas ionotropik teknik aerosolisasi
2. Menentukan pengaruh konsentrasi larutan sambung silang BaCl_2 terhadap karakteristik mikrosfer alginat yang dihasilkan melalui metode gelas ionotropik teknik aerosolisasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diperoleh formula mikrosfer yang memiliki karakteristik fisik model vaksin antigen ovalbumin yang baik dengan pelepasan yang terkontrol, sehingga dapat digunakan dalam keilmuan, dan mampu dikembangkan lebih lanjut dalam skala industri.