

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring perkembangan bioteknologi yang cepat, peptida dan bahan obat dari protein saat ini meningkat penggunaannya untuk terapeutik (Yang *et al.*, 2007). Dibandingkan dengan bahan obat kimia, peptida dan bahan obat protein mempunyai beberapa kelemahan, seperti stabilitas yang rendah, mudah dan cepatnya untuk deaktivasi, waktu paruh yang pendek, berat molekul yang tinggi, dan sulitnya diabsorpsi saat diberikan per oral. Saat ini, hampir semua bahan obat protein diberikan melalui rute parenteral. Hal inilah yang menyebabkan ketidaknyamanan pasien dan harganya yang mahal. Banyak studi yang dilakukan untuk menemukan jalan keluar untuk mengatasi masalah ini (Yang *et al.*, 2007). Ovalbumin merupakan suatu protein yang terdiri dari 385 residu asam amino (Nisbet *et al.*, 1981). Ovalbumin sebagai antigen merangsang terbentuknya antibodi sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan imunitas, namun ovalbumin merupakan *poor immunogenic* sehingga ovalbumin ini digunakan dengan pemberian berulang (O'hagan *et al.*, 1991). Pemberian yang berulang menyebabkan ketidaknyamanan pasien khususnya pasien yang menggunakan dalam waktu yang lama, maka ovalbumin diformulasikan dalam sediaan dengan pelepasan terkontrol atau tertunda (Rudra *et al.*, 2011).

Untuk menghasilkan sediaan dengan pelepasan terkontrol atau tertunda, dibutuhkan suatu sistem penghantaran obat. Salah satu sistem

penghantaran obat secara terkontrol adalah dengan enkapsulasi. Enkapsulasi dari bahan aktif biasanya diterapkan pada makanan, bioteknologi, dan industri farmasi untuk meningkatkan stabilitas dan *shelf life* suatu komponen terenkapsulasi dan untuk mengontrol pelepasannya. Pada umumnya, bahan yang terenkapsulasi membentuk lapisan pelindung dari pengaruh lingkungan dan mengatur lepasnya bahan yang terenkapsulasi pada target aplikasi (Maria *et al.*, 2012). Mikroenkapsulasi dikembangkan dalam dunia pengobatan dalam bentuk solid atau likuid dalam suatu inti material yang mengandung satu atau lebih bahan obat yang diselimuti oleh coating. Inti material bisa terdiri dari inti yang berada di dalam dan diselimuti oleh coating pada dindingnya. Mikroenkapsulasi umumnya mempunyai ukuran partikel antara 1–2000 μm (Deasy, P.B., 1984).

Polimer umum digunakan sebagai bahan dalam mikroenkapsulasi. *Biodegradabel polimer* dan *particle carrier* telah menunjukkan potensi yang tinggi untuk menghantarkan peptida dan protein melalui rute per oral (Jin *et al.*, 2009). Alginat merupakan polimer biodegradabel. Natrium alginat merupakan polimer alam yang mempunyai biokompatibilitas yang baik, mudah bercampur dengan bahan aktif dalam sistem, dan tidak terakumulasi dalam organ tubuh (Maria *et al.*, 2012). Natrium alginat merupakan polimer yang paling luas digunakan sebagai polimer pada mikropartikel. Diantara bahan pembuat enkapsulasi, alginat lebih dipilih karena bersifat non toksik, biokompatibel, dan relatif murah (Maria *et al.*, 2012). Hal yang penting dari alginat adalah mereka dapat berikatan secara selektif dengan larutan penyambung silang yang umumnya berupa kation

multivalen (misalnya Ca^{2+} , Ba^{2+}) dan hampir tidak terpengaruh oleh temperatur (Jin *et al.*, 2009).

Ada beberapa larutan penyambung silang, yaitu CaCl_2 , BaCl_2 , SrCl_2 , CuCl_2 . Secara umum paling sering digunakan sebagai kation valensi dua untuk membentuk gel, karena selain Ca^{2+} memiliki toksisitas rendah, konsentrasi Ca^{2+} memiliki efek yang signifikan terhadap stabilitas dan ukuran pori dari gel (Jobanputra *et al.*, 2011). Namun berdasarkan penelitian sebelumnya, ovalbumin di dalam mikrosfer dengan polimer alginat menggunakan larutan sambung silang CaCl_2 , telah menghasilkan mikrosfer dengan efisiensi pengebakan yang tinggi dan ukuran mikrosfer yang kecil.

Ada berbagai macam metode pembuatan mikroenkapsulasi, diantaranya adalah *solvent evaporation and extraction*, *phase separation (coacervation)*, *ionotropic gelation*, *interfacial polymeration*, *spray drying*, dan *supercritical fluid precipitation*. Berdasarkan penelitian sebelumnya, digunakan metode *ionotropic gelation*. Metode ini menggunakan suhu kondisi yang rendah sehingga mampu mempertahankan integritas protein. Seluruh polielektrolit yang digunakan larut dalam air sehingga protein mampu dienkapsulasi tanpa menggunakan pelarut organik yang dapat merusak ikatan protein. Metode ini merupakan metode yang sederhana, cepat, dan relatif murah (Yeo *et al.*, 2001).

Diketahui bahwa obat-obatan protein dalam formulasi cair jarang cukup stabil untuk penyimpanan jangka panjang. Biasanya, sebuah formulasi solid suatu protein disusun dengan menggunakan metode seperti

liofilisasi untuk menghindari atau memperlambat degradasi protein, sehingga memungkinkan untuk menyimpan obat-obatan protein selama berbulan-bulan atau bahkan bertahun-tahun pada suhu kamar (Carpenter *et al.*, 1997). Aplikasi di klinis sering dibatasi oleh ketidakstabilan termodinamika mereka dalam dispersi koloid untuk jangka waktu lama. Untuk mengatasi masalah ini dan untuk meningkatkan stabilitas penyimpanan, liofilisasi telah digunakan sebagai salah satu alternatifnya (Musumeci *et al.*, 2006). Proses yang paling sering digunakan untuk mengubah larutan atau suspensi menjadi bentuk padat yang cukup stabil untuk distribusi dan penyimpanan dalam bidang farmasi adalah *freeze drying* (Franks, F., 1998). *Freeze drying*, juga dikenal sebagai liofilisasi, yang mana dalam proses industri dengan mengubah air dari bentuk beku dengan sublimasi dan desorpsi di bawah kondisi vakum. Namun, proses ini umumnya mendapat tekanan bervariasi selama proses pembekuan dan pengeringan. Jadi, pelindung (*protectant*) biasanya ditambahkan ke dalam formula untuk melindungi mikropartikel dari tekanan pembekuan dan pengeringan.

Lyoprotectant didefinisikan sebagai penstabil dan pencegah degradasi dari suatu makromolekul selama proses *freeze drying* dan setelahnya, dan selama penyimpanan (Wang, W., 2000). Gula dan gula alkohol diketahui dapat menstabilkan protein selama proses *freeze drying*. (Abdelwahed *et al.*, 2006). Gula mampu membuat *barrier* fisik diantara partikel dan molekul dan menurunkan difusi dan mobilitas molekul serta dapat mencegah agregasi dan degradasi protein. Selama proses pengeringan,

gula menempati molekul air pada interaksi ikatan hidrogen dengan molekul protein dan membantu melindungi integritas (Amorij *et al.*, 2008). Komponen gula inilah yang nantinya akan menggantikan posisi air dan berfungsi menjaga kestabilan fisik bentuk mikrosfer. Oleh karenanya, saat mikrosfer diliofilisasi dan saat bentuk padat kering, mikrosfer yang ditambah *lyoprotectant*, akan tetap stabil karena integritas bentuk fisiknya tetap spheris, sehingga komponen di dalamnya tetap utuh (Abdelwahed, 2006).

Beberapa jenis gula yang umum dipakai diantaranya maltodekstrin, sukrosa, manitol, trehalosa, dan laktosa. Dalam penelitian ini digunakan laktosa dan maltodekstrin karena secara umum keduanya kurang higroskopis, relatif murah, mudah didapat, serta memiliki nilai Tg yang cukup tinggi. Tg (*glass transition temperature*) merupakan bagian yang penting dalam formulasi suatu protein. Tg dari suatu bahan didefinisikan sebagai temperatur transisi suatu bahan dari bentuk likuid (*cair*) ke bentuk solid (*padat*) dan sebaliknya yang terjadi secara reversibel. Semakin besar nilai Tg, maka bisa dikatakan bahan tersebut stabil secara termodinamik. Dengan mekanisme yang sama sebagai *lyoprotectant* yaitu menggantikan posisi air untuk berikatan hidrogen dengan air, perbedaan keduanya dapat dilihat dari struktur dan nilai Tg. Jika kita bandingkan struktur laktosa yang merupakan disakarida dan maltodekstrin yang merupakan oligosakarida, maka struktur maltodekstrin yang memiliki massa molar yang lebih besar akan lebih meningkatkan nilai Tg campuran. Tg yang lebih tinggi akan mampu membatasi mobilitas protein dan menurunkan reaktivitas protein

sehingga mikrosfer yang terbentuk lebih stabil (Wang, W., 2000). Mikrosfer yang stabil akan meningkatkan nilai efisiensi penjebakan, *protein loading*, dan yield. Penggunaan *lyoprotectant* umumnya 5 % hingga 10 % untuk laktosa (Packheuser, 2009) serta untuk maltodekstrin (Corveleyn and Remon, 1996).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis dan kadar *lyoprotectant* terhadap karakteristik fisik mikrosfer (efisiensi penjebakan, *protein loading*, dan yield) dan untuk mengetahui ada tidaknya interaksi antar variabel. Oleh karenanya analisis statistik dalam penelitian ini menggunakan metode *Factorial Design* ANOVA dengan program SPSS 20 dengan derajat kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 0,05$). Dalam penelitian ini juga dicari dan ditentukan formula optimal dari mikrosfer ovalbumin-alginat dengan dengan *lyoprotectant* yang paling optimal. Formula yang optimal idealnya formula yang memberikan mikrosfer dengan ukuran partikel spheris kecil homogen, nilai efisiensi penjebakan yang tinggi, nilai *protein loading* yang tinggi, dan nilai yield yang tinggi. Namun kondisi ideal tersebut tidak selalu dan sulit dicapai. Pemilihan formula yang optimal pada prinsipnya adalah formula yang menghasilkan ukuran yang kecil homogen serta nilai efisiensi penjebakan dan *protein loading* yang tinggi. Oleh karena itu dalam penelitian ini dipelajari pengaruh penambahan masing-masing *lyoprotectant* laktosa dan maltodekstrin terhadap karakteristik fisik mikrosfer ovalbumin-alginat.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh penambahan masing-masing *lyoprotectant* (laktosa dan maltodekstrin) terhadap karakteristik fisik mikrosfer ovalbumin-alginat.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan pengaruh penambahan masing-masing *lyoprotectant* (laktosa dan maltodekstrin) terhadap karakteristik fisik mikrosfer ovalbumin-alginat (bentuk & ukuran partikel, efisiensi penjembaran, *protein loading*, dan yield).
2. Menentukan formula optimal dari mikrosfer ovalbumin-alginat dengan *lyoprotectant* yang paling optimal.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini, diperoleh informasi tentang pengaruh *lyoprotectant* terhadap karakteristik mikrosfer ovalbumin-alginat dan mampu diperoleh formula terbaik untuk selanjutnya dikembangkan dalam studi lebih lanjut ataupun dalam skala industri.