

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Kanker hati merupakan tumor agresif yang sering terjadi pada penyakit hati kronis dan sirosis (Jemal *et al.*, 2011). Karsinoma hepatoseluler merupakan jenis kanker hati yang paling sering terjadi. Kanker hati diperkirakan menjadi penyebab utama ke-4 kematian kibat kanker di seluruh dunia pada tahun 2018, dengan sekitaar 841.000 kasus baru dan 782.000 kematian setiap tahun (Bray *et al.*, 2018). *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamic Pyruvate Transaminase* (SGPT) adalah enzim hati dan merupakan biomarker spesifik untuk penyakit hati. Sebuah studi melaporkan bahwa terjadi peningkatan SGOT dan SGPT pada pasien kanker hati (Jana *et al.*, 2018).

Kemoterapi merupakan pengobatan yang paling efektif dan banyak digunakan untuk terapi berbagai macam keganasan (Chabner dan Roberts, 2005). Kemoterapi telah banyak digunakan dalam pengobatan hepatoseluler karsinoma, baik sebagai terapi sistemik maupun sebagai bagian dari terapi lokal seperti *arterial embolisation* (Burroughs *et al.*, 2004). Sorafenib merupakan terapi lini pertama pengobatan kanker hati. Sorafenib merupakan inhibitor multikinase oral yang menghambat proliferasi sel (Montironi and Montal, 2019). Obat ini memiliki aktivitas dalam terapi karsinoma hepatoseluler dan menunjukkan potensi terapi yang ditargetkan secara molekuler pada pertumbuhan sel abnormal (Llovet *et al.*, 2008). Sorafenib memiliki efek samping yaitu hipertensi, toksik terhadap ginjal, toksik terhadap jantung, gangguan tiroid, *Hand-foot skin reaction* (HFSR), gatal – gatal, kemerahan, dan alopecia (Yamamoto dan Kondo, 2018). Saat ini, tidak

ada standar mengenai agen kemoterapi lini kedua untuk pasien yang gagal dengan terapi menggunakan sorafenib (Liu *et al.*, 2015).

Asam Ursolat (AU) merupakan senyawa triterpenoid pentasiklik (Lili *et al.*, 2014). AU memiliki berbagai aktivitas farmakologis termasuk anti-tumor, anti-inflamasi, anti-virus, dan mengurangi lemak darah (Ma *et al.*, 2014; Shyu *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2011). Mekanisme yang mendasari efek anti kanker asam ursolat yakni adanya penghambatan tumorigenesis dan proliferasi sel kanker, modulasi apoptosis, pencegahan *cell cycle arrest*, dan terjadinya autofagi (Seo *et al.*, 2018). Berdasarkan studi sebelumnya, AU dapat digunakan untuk terapi kanker hati dikarenakan AU dapat menginduksi apoptosis melalui *Mitochondria-Mediated Pathway* (MMP). AU dapat menginduksi apoptosis pada sel hepatoma HuH7 melalui induksi stress protein. AU menyebabkan menurunnya potensial mitokondria transmembrane yang menyebabkan pelepasan *cytochrome C* dari mitokondria ke sitosol yang mengaktifasi *caspase-9* dan *caspase-3* diikuti dengan pecahnya *Poly (ADP-ribose) polymerase* (PARP) sehingga timbul apoptosis (Shyu *et al.*, 2010).

Telah dilaporkan bahwa AU memiliki toksisitas rendah dan efek samping minimal (Shyu *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2011; Ma *et al.*, 2014). Telah dilakukan uji klinis fase 1 yakni uji tolerabilitas dan toksisitas dari liposom AU, perubahan tanda – tanda vital seperti tekanan darah, suhu, dan tingkat pernafasan masih dalam rentang normal. Selain itu, parameter hematologi dan elektrokardiografi juga menunjukkan data normal. AU juga tidak mempengaruhi fungsi imun dari pasien. Namun, dilaporkan terjadi efek samping berupa demam, peningkatan kadar GGT, dan distensi abdomen (Qian *et al.*, 2015).

Selain itu, pada penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa *chemosensitization* dengan dosis tertentu teramati pada sel kanker, tetapi tidak pada sel normal. Dari uji toksisitas akut didapatkan LD₅₀ AU pada

mencit dengan pemberian secara oral sebesar 8.330 mg/KgBB, selain itu tidak ditemukan toksisitas pada uji toksisitas kronis dengan dosis 500 mg/kgBB selama 30 hari (Li *et al.*, 2010).

Disisi lain, AU termasuk dalam *Biopharmaceutics Classification System* kelas IV yakni senyawa dengan kelarutan buruk dan permeabilitas buruk (Eloy *et al.*, 2015), sehingga hal ini membatasi penggunaan AU dalam klinis sebagai terapi untuk berbagai penyakit. Oleh karena itu, perlu untuk mengembangkan formulasi baru yang mengandung surfaktan dan *enhancer* untuk meningkatkan bioavailabilitas AU. Penelitian ini fokus pada modifikasi hantaran AU sebagai oral kemoterapi untuk kanker hati.

Niosom merupakan sistem penghantaran obat baru vesikuler yang memiliki banyak keuntungan dibandingkan sistem penghantaran konvensional. Niosom merupakan salah satu pembawa obat yang menjanjikan, niosom memiliki struktur bilayer yang dibentuk oleh surfaktan nonionik dan kolesterol dalam fase air (Mahale *et al.*, 2012). Niosom sangat mirip dengan liposom, tetapi niosom tersusun dari surfaktan non-ionik seperti sorbitan ataupun polisorbat dan kombinasi dengan kolesterol (Nasseri, 2005; Bhattacharjee *et al.*, 2010). Studi sebelumnya melaporkan bahwa penggunaan niosom pada formulasi paclitaxel, yang merupakan BCS kelas IV sama seperti AU, dapat meningkatkan bioavailabilitasnya. Ukuran partikel dari niosom berkaitan dengan lamanya sirkulasi obat dalam darah sehingga dapat memberikan penghantaran obat tertarget sehingga dapat terakumulasi pada jaringan tumor melalui *Enhanced Permeation and Retention (EPR) Effect* (Sezgin *et al.*, 2015). Dengan demikian, diharapkan formulasi niosom asam ursolat juga dapat meningkatkan bioavailabilitas dari asam ursolat

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan optimasi formulasi niosom dan didapatkan formulasi niosom AU yang menunjukkan stabilitas fisik yang baik adalah formula dengan rasio mol persen 3 : 2 : 10 dari span

60 – kolestrol – AU (Safitri, 2018). Selain itu, juga telah dilakukan uji karakteristik niosom AU dengan pelapisan dan tanpa pelapisan kitosan, diketahui bahwa penambahan kitosan pada formulasi niosom juga dapat meningkatkan stabilitas fisik (Aquila, 2018). Telah dilaporkan bahwa kitosan dapat memberikan pelepasan yang terkontrol sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan absorpsi di saluran cerna serta meningkatkan permeabilitas. Hal tersebut didasari oleh kemampuan *mucoadhesive*. Kitosan dapat berinteraksi secara ionik antara muatan positif dari gugus amino dengan muatan negatif pada permukaan sel (Moghassemi *et al.*, 2015). Selain itu, kitosan mampu membuka *tight junction* dari sel epitel usus dan menghasilkan jalur *paracellular* melalui barrier epitel, sehingga penetrasi ke dalam peredaran sistemik dapat meningkat (Wang *et al.*, 2017).

Dengan demikian diharapkan niosom AU dengan pelapisan kitosan setelah pemberian oral dapat masuk ke peredaran darah sistemik melalui *tight junction* yang kemudian menuju ke organ hati. Selanjutnya niosom dapat masuk ke dalam jaringan tumor melalui fenestrae pada sinusoid hati dan pembuluh darah tumor yang *immature* dan berlubang sehingga dapat terakumulasi tinggi melalui *EPR effect*. Fenestrae sel endotel sinusoid hati (LSECs) memungkinkan transpor pasif zat terlarut, makromolekul, dan bahan partikulat antara lumen sinusoidal dan sel parenkim hati. (Zapotoczny *et al.*, 2019).

Pada penelitian ini akan dilakukan uji *in vivo* mengenai biodistribusi niosom asam ursolat untuk terapi kanker hati melalui rute peroral. Uji dilakukan dengan pemberian niosom AU dengan dan tanpa pelapisan kitosan yang dilabeli oleh coumarin-6 pada mencit yang kemudian dievaluasi kadar coumarin-6 dalam plasma dan biodistribusi niosom AU pada organ mencit. Penggunaan Coumarin-6 sebagai *labelling agent* menunjukkan efisiensi dan stabilitas enkapsulasi dalam nanopartikel yang tinggi. Hal ini disebabkan karena coumarin-6 bebas tidak dapat masuk ke dalam sel, sehingga intensitas

dan kadar fluoresensi yang terukur mencerminkan kadar nanopartikel yang terambil dalam sel (Sun *et al.*, 2017).

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat yang dilabeli coumarin-6 terhadap kadar asam ursolat dalam plasma pada mencit ditinjau dari kadar coumarin-6?
2. Bagaimanakah pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat yang dilabeli coumarin-6 terhadap biodistribusi AU dalam organ jantung, paru-paru, liver, limfa, dan ginjal pada mencit ditinjau dari intensitas fluoresensi coumarin-6?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Menentukan pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat yang dilabeli coumarin-6 terhadap kadar AU dalam plasma pada mencit ditinjau dari kadar coumarin-6.
2. Menentukan pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat yang dilabeli coumarin-6 terhadap biodistribusi AU dalam organ jantung, paru-paru, liver, limfa, dan ginjal pada mencit ditinjau dari intensitas fluoresensi coumarin-6.

1.4. Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pelapisan kitosan pada niosom asam ursolat yang dilabeli coumarin-6 terhadap biodistribusi obat dalam plasma dan organ jantung, paru-paru, liver, limfa, dan ginjal mencit, sehingga dapat dikembangkan untuk terapi kanker hati melalui rute peroral.