

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Kanker serviks menjadi salah satu penyebab kematian paling umum bagi wanita secara global terutama pada negara berkembang dan menempati urutan ke-4 dari semua jenis kanker (UICC, 2020). Pada tahun 2018, diperkirakan terdapat 570.000 diagnosa mengenai kanker serviks, dan 311.000 wanita diantaranya meninggal akibat dari penyakit tersebut (Canfell *et al.*, 2020). Menurut WHO (2016) hampir seratus persen penyebab kanker serviks adalah human papilloma virus (HPV) dengan 70% diantaranya merupakan HPV tipe 16 dan 18 yang persisten.

Kanker serviks dimulai sejak seseorang terinfeksi oleh Human Papilloma Virus (HPV) yang menyebabkan terjadinya neoplasia servikal. Penyebab terjadinya degenerasi keganasan adalah oncoprotein E6 dan E7 yang berasal dari HPV dengan mekanisme kerja oncoprotein E6 yang mengikat p53 sehingga TSG p53 akan kehilangan fungsinya dan oncoprotein E7 mengikat TSG Rb. Ikatan ini menyebabkan terlepasnya E2F yang merupakan faktor transkripsi sehingga siklus sel berjalan tanpa kontrol (Rasjidi, 2009).

Pengobatan kanker serviks pada umumnya berupa pembedahan yang dikombinasikan dengan kemoterapi berbasis platinum (Willmott dan Monk, 2009). Namun demikian, karena terjadi kemoresisten dan toksisitasnya yang tinggi pada sel normal, maka metode yang lebih efektif digunakan untuk terapi ini adalah dengan menggunakan obat antikanker dengan tingkat toksisitas yang rendah (Wang *et al.*, 2018). Studi menunjukkan bahwa (-) - epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG), yang merupakan kandungan polifenol utama dari teh hijau, dapat menekan proliferasi sel kanker dan menyebabkan kematian sel tanpa bersifat toksik (Kumazoe dan Tachibana, 2016).

Epigallocatechin gallate (EGCG) adalah bentuk ester dari epigallocatechin dan asam galat (Bartosikova dan Necas, 2018). EGCG memiliki kemampuan sebagai anti-proliferasi, anti-metastasis dan pro-apoptosis pada sel kanker serviks (Wang *et al.*, 2018). EGCG dapat mengurangi peradangan, menurunkan stres oksidatif dan hipoksia dengan target lingkungan mikrotumor (seperti, sel induk kanker, fibroblas, makrofag, dan mikrovaskulatur) (Negri *et al.*, 2018). Di sisi lain, EGCG dengan rute pemberian oral

memiliki bioavailabilitas yang rendah, distribusi ke jaringan luas, dan absorpsi yang tidak sempurna karena terdapat first pass effects (Zhu *et al.*, 2000). EGCG pada konsentrasi 300 mg per liter stabil pada suhu 25°C selama 24 jam dengan rentang pH 3-6 (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

Ditinjau dari lipofilitas untuk target terapi lokal, LogP dari EGCG adalah sebesar $1,89 \pm 0,24$ (Zhu *et al.*, 2020). EGCG termasuk dalam *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) kelas 3 dimana memiliki kelarutan yang tinggi tetapi permeabilitasnya rendah (Smith *et al.*, 2013). Permeabilitas dari EGCG dapat ditingkatkan dengan mengubah nilai LogP menggunakan kombinasi surfaktan Tween 80 dan Span 80 (Rosita, 2019).

Penetrasi dari EGCG dapat ditingkatkan dengan menggunakan *enhancer* berupa surfaktan (Sahoo *et al.*, 2013). Tween 80 adalah salah satu surfaktan non-ionik golongan asam lemak ester polieksietilena sorbitan yang memiliki HLB 15, tidak bersifat toksik, dan tidak menyebabkan iritasi. Span 80 juga merupakan surfaktan non-ionik yang stabil dalam asam atau basa lemah (Rowe *et al.*, 2009). Penetrasi yang meningkat disebabkan oleh EGCG yang terjebak di dalam inti *reverse-micelle* dengan fenomena *like dissolves like*. Tween 80 dan Span 80 HLB 6 pada media dapar fosfat/n-oktanol dengan pH 5 mengandung gugus hidrofilik dan lipofilik yang dapat memfasilitasi interaksi antara EGCG dan n-oktanol sehingga EGCG menjadi lebih lipofilik yang ditunjukkan dengan logP EGCG sebesar 2,1 (Rosita, 2019).

EGCG stabil dalam keadaan asam yaitu dengan rentang pH 3-6 (Sharifi-Rad *et al.*, 2020) yang mana sesuai dengan pH vagina yaitu 3,5-4,5 (Sahoo, 2013). Pemberian obat secara intravaginal memungkinkan penggunaan regimen dosis yang diperpanjang, dosis harian yang lebih rendah, dan pelepasan obat secara terus menerus (Alexander *et al.*, 2004). Keuntungan dari rute pemberian intravaginal adalah dapat menghindari adanya first pass metabolisme di hati, penurunan efek samping hati, menghindari nyeri, kerusakan jaringan, dan infeksi yang biasa terjadi pada rute pemberian obat parenteral (Kumar *et al.*, 2014). Sediaan dengan pemberian intravaginal dapat berupa krim, gel, *vaginal rings*, dan vaginal suppositoria atau ovula (Sahoo, 2013). Pada ovula EGCG diperlukan sediaan dengan pelepasan yang terkontrol untuk memperpanjang waktu tinggal pada mukosa vagina. Oleh karena itu, sangat diperlukan penambahan eksipien berupa polimer mukoadhesif. Polimer yang dapat digunakan dalam formulasi sediaan mukoadhesif diantaranya terdapat κ -karagenan dan HPMC K100M (Caramella *et al.*, 2015).

Dalam sediaan ovula, HPMC K100M dapat bertahan selama beberapa hari di dalam mukosa vagina tanpa efek toksik yang signifikan atau perubahan fisiologis yang signifikan, serta dapat memperpanjang masa tinggal obat di tempat kerja (Veiga *et al.*, 2018). HPMC merupakan polimer turunan selulosa yang memiliki ikatan hidrogen dengan molekul air. Pada saat kontak dengan air maka air akan masuk dalam sistem dan polimer akan mengembang (Ardana, 2015). Pada sediaan vaginal tablet dengan basis HPMC K100M dapat melepaskan 100% Acyclovir dalam 144 jam (Pacheco-Quito *et al.*, 2020).

Karagenan berasal dari rumput laut kelas Rhodophyceae yang diklasifikasikan menjadi berbagai jenis seperti λ (lambda), κ (kappa), dan ι (iota) berdasarkan jumlah sulfat dan keberadaan 3,6-anhidrogalaktosa (Bartosikova, 2013). Penurunan pH dapat menyebabkan hidrolisis sehingga viskositas dan kemampuan gelling agent menurun, tetapi karagenan akan tetap stabil pada pH 3,5-4 dan dapat meningkatkan waktu tinggalnya dalam mukosa vagina (Veiga *et al.*, 2018). κ -karagenan merupakan gel yang kuat dan kaku serta penambahan ion kalium sebagai penyambung silang akan meningkatkan kemampuannya sebagai gelling agent seiring bertambahnya konsentrasi ion kalium (Valenta, 2005). κ -karagenan dapat melepaskan 100% Acyclovir dalam 48 jam pada sediaan vaginal tablet (Sánchez-Sánchez *et al.*, 2015).

Pelepasan dari sediaan yang bersifat mukoadhesif bergantung pada seberapa besar kandungan polimer dalam formulasi. Semakin besar kandungan polimer maka pelepasan obat menjadi sangat lambat karena gel semakin kental dan tahan terhadap penetrasi air sehingga laju pelepasannya menurun (Bhat dan Shivakumar, 2010).

Penetrasi dari bahan aktif mengikuti hukum pertama difusi Fick, yang menjelaskan mengenai kecepatan transfer zat terlarut sebagai fungsi dari konsentrasi berbagai bahan, ukuran luas permukaan, dan permeabilitas kulit (Bhowmik *et al.*, 2012). Penetrasi EGCG yang buruk dapat diatasi dengan penambahan surfaktan yang mana pada uji penetrasinya diberi rhodamin sebagai *labelling agent* (Rosita, 2019). Kedalaman penetrasi menjadi indikator keberhasilan terapi kanker serviks dengan target terapi lokal yaitu pada lapisan epitel. Perubahan karakteristik fisiologi vagina dapat mempengaruhi penetrasi obat karena tergantung pada karakteristik lapisan superfisial, seperti ketebalan, kekencangan sel, dan komposisi lipid dan organisasi di ruang antar sel (Machado *et al.*, 2015).

Terkait kombinasi polimer sudah dilakukan pada penelitian Sánchez-Sánchez *et al.* (2015) kombinasi polimer κ -Karagenan dan HPMC K100M memiliki waktu tinggal antara 48-120 jam. Dan pada penelitian Rosita (2019) EGCG dalam bentuk *reverse micelle*

dengan kombinasi surfaktan Tween 80 dan Span 80 penetrasinya meningkat dibandingkan EGCG tanpa modifikasi setelah 2 jam pemakaian. Pada penelitian ini akan dilakukan evaluasi kemampuan penetrasi sediaan ovula EGCG yang termodifikasi didalam basis kombinasi polimer HPMC K100M dan κ -karagenan dengan perbandingan 1:1,5 secara in vivo. Uji penetrasi dilakukan secara in vivo dengan formula yang ditambahi dengan rhodamin sebagai *labelling agent* yang diamati menggunakan mikroskop fluoresensi.

1.2. Rumusan masalah

Apakah sediaan ovula EGCG yang termodifikasi didalam basis kombinasi polimer HPMC K100M dan κ -karagenan dengan perbandingan 1:1,5 lebih meningkatkan penetrasi secara in vivo dibandingkan EGCG yang tidak termodifikasi?

1.3. Tujuan penelitian

Untuk menentukan pengaruh modifikasi EGCG terhadap penetrasi dari sediaan ovula berbasis kombinasi polimer HPMC K100M dan κ -karagenan dengan perbandingan 1:1,5 secara in vivo terhadap EGCG yang tidak termodifikasi.

1.4. Manfaat Penelitian

Dengan menentukan pengaruh modifikasi EGCG terhadap penetrasi dari sediaan ovula berbasis kombinasi polimer HPMC K100M dan κ -karagenan dengan perbandingan 1:1,5 secara in vivo terhadap EGCG yang tidak termodifikasi dapat digunakan sebagai bukti ilmiah pengembangan sediaan ovula sebagai terapi kanker serviks.