

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cystic fibrosis adalah penyakit genetik yang menyebabkan kegagalan organ pada paru-paru. *Cystic fibrosis* yang menyerang paru-paru merupakan penyebab kematian terbesar bagi mayoritas pasien (Bhatt, 2013). Sekitar 80% pasien dewasa yang mengidap *Cystic fibrosis* (CF) mengalami infeksi kronik yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan sebanyak 50% pasien CF meninggal dalam 5 tahun akibat terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* (Høiby, N., 2011; Høiby, N., & Pressler, T., 2006). Salah satu antibiotik yang dapat digunakan untuk mengobati infeksi saluran pernafasan adalah ciprofloxacin HCl. Dari semua antibiotik golongan florokuinolon, ciprofloxacin termasuk yang paling poten untuk mengatasi bakteri gram negatif dan paling aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (Lebel, 1988). Antibiotik ini juga memiliki aktivitas yang poten terhadap berbagai macam bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* (Karimi, 2016).

Ciprofloxacin HCl dapat diberikan melalui rute oral dan intravena untuk mengobati infeksi saluran pernafasan. Akan tetapi, pemberian melalui rute oral kurang efektif dikarenakan konsentrasi obat tidak cukup untuk mencapai paru dan waktu paruh yang singkat, sekitar 3-5 jam. Selain itu, Ciprofloxacin juga mengalami *first pass metabolism* dan bioavailabilitas oral sekitar 70% (Katzung, 2018). Sementara itu, jika diberikan lewat rute intravena, pengobatan menjadi kurang efektif karena konsentrasi obat yang dapat mencapai jaringan paru hanya sedikit, sehingga diperlukan injeksi berulang untuk mencapai kadar antibiotik yang diinginkan dalam jaringan paru. Hal ini akan menyebabkan potensi efek samping yang lebih besar (Szczablinska *et*

al., 2017).

Mengingat metode konvensional memiliki banyak kekurangan, maka untuk mengatasi masalah-masalah tersebut, ciprofloxacin dapat diformulasikan dengan cara pemberian obat secara langsung ke paru-paru melalui rute inhalasi dan dengan pelepasan terkontrol. Keuntungannya yaitu tidak melewati *first pass metabolism*, kadar obat yang mencapai jaringan paru memadai, dan minim efek samping (Maria *et al.*, 2012).

Penghantaran obat ke paru-paru melalui udara dapat dicapai dalam bentuk larutan atau suspensi dengan *nebulizer*, *soft mist inhaler*, *pressurized metered dose inhaler* (pMDI), atau dalam bentuk *dry powder inhaler* (DPI) (AboulFotouh K *et al.*, 2020). DPI memiliki banyak keunggulan dibandingkan bentuk lainnya, termasuk stabil secara fisik dan kimiawi pada formulasi serbuk kering, pilihan dosis yang lebih beragam, dan tidak menggunakan propelan sehingga lebih ramah lingkungan. Salah satu sistem penghantaran obat baru yang dapat menggunakan perangkat DPI untuk membawa obat menuju ke paru dan memberikan pelepasan *sustained-release*, yaitu mikrosfer (Mehta, 2016).

Mikrosfer adalah partikel berbentuk sferis berukuran 1-1000 μm yang terdiri dari bahan aktif dan polimer (Mehta, 2016). Adapun mikrosfer yang ditujukan untuk rute pulmonal dapat disebut dengan pulmosfer. Pulmosfer digunakan untuk mengontrol pelepasan obat di paru, meningkatkan bioavailabilitas, dan melindungi obat dari lingkungan sekitar sehingga mempertahankan stabilitas obat (Dubey *et al.* 2009). Keuntungan dari pulmosfer antara lain, meningkatkan efikasi dan mengurangi toksisitas obat melalui mekanisme pelepasan terkontrol dan tertarget, serta meningkatkan kepatuhan dan kenyamanan pasien (Kadam & Suvarna, 2015).

Pulmosfer yang terbuat dari polimer alam, seperti alginat dan karagenan memiliki beberapa kelebihan, antara lain ukuran partikel 1-5 μm , sferis, mampu mengembang dalam pH basa, dan mukoadhesif. Ukuran partikel pulmosfer yang mampu mencapai alveoli, yaitu antara 1-5 μm (Mehta, 2016). Partikel yang lebih besar dari 10 μm akan cepat dikeluarkan di saluran pernapasan atas melalui mekanisme menelan atau bersin (Ashish *et al.*, 2012). Sedangkan jika lebih kecil dari 1 μm maka partikel akan keluar bersama udara ekspirasi. Bentuk partikel yang dibuat juga harus sferis dikarenakan bentuk sferis ini memiliki sifat alir yang baik sehingga memungkinkan obat sampai ke saluran pernafasan (Dastidar *et al.*, 2018). Matriks alginat cocok dipakai untuk sistem penghantaran inhalasi karena dapat mengembang dalam suasana pH paru yang memiliki rentang 7,0-7,7 (Chuang *et al.*, 2017).

Alginat merupakan polisakarida anionik yang diekstrak dari rumput laut coklat. Kelebihan dari polimer ini adalah biokompatibel yang memiliki toksisitas rendah dan biaya yang terjangkau (Ching *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Patil, *et al.* (2009) menyatakan bahwa alginat memberikan kemampuan mukoadhesif tertinggi dari polimer-polimer lain, yaitu sekitar 70-85% sehingga sangat bagus untuk sistem penghantaran inhalasi. Selain itu polimer alginat dapat mengatur pelepasan dari bahan obat karena partikelnya dikembangkan dan dirancang dengan baik sehingga dapat ditentukan target pelepasannya (Miranda, *et al.*, 2018). Akan tetapi, alginat memiliki sifat mekanik yang buruk dan struktur yang porus menyebabkan pulmosfer rentan mengalami *burst effect* (pelepasan sejumlah besar obat dalam waktu yang singkat) (Abdelghany *et al.*, 2017). Maka dari itu, alginat dikombinasi dengan polimer lain untuk mendapatkan partikel dengan struktur yang lebih kompak, sehingga ukuran partikel lebih kecil dan kemampuan menjebak lebih besar (Keppeler *et al.*, 2009).

Penambahan penyambung silang berupa kation divalen, seperti Ca^{2+} , pada alginat akan membentuk reaksi “egg-box”. Kation Ca^{2+} sering dipilih karena sambung-silang yang terbentuk cukup adekuat untuk menjebak bahan aktif (Aguero *et al.*, 2017). Kation Ca^{2+} akan berikatan dengan gugus $-\text{COO}-$ dari dua rantai blok-G alginat yang berseberangan (berdekatan) (Ching *et al.*, 2017). Akan tetapi gugus $-\text{COO}-$ bebas dari blok manuronat yang tidak berdekatan tidak terikat oleh kation Ca^{2+} sehingga akan menghasilkan mikrosfer yang porus (Purwanti, Puspita, & Erawati, 2019).

Pada penelitian ini digunakan kombinasi polimer alginat dan karagenan karena kombinasi ini dapat mencegah mikrosfer menjadi porus, meningkatkan *swelling* index, efisiensi enkapsulasi, dan membentuk ikatan yang stabil dan kuat (Mohamadnia *et al.*, 2012; Aguero *et al.*, 2017). Adanya gugus sulfat pada karagenan dapat menghantarkan obat secara terkontrol dengan mekanisme *swelling* (Mohamadnia *et al.*, 2012). Pada penelitian sebelumnya, kombinasi polimer alginat-karagenan (1:1) dengan *crosslinking agent* CaCl_2 memiliki derajat pengembangan yang meningkat pada pH netral. Selain itu, didapatkan efisiensi enkapsulasi yang paling optimal dan derajat pelepasan sebesar 92% sehingga rasio ini terpilih untuk memberikan efek terapi yang maksimal (Kolesnyk, *et al.*, 2015).

Variasi konsentrasi total polimer yang digunakan pada penelitian ini adalah 1%, 1.5%, dan 1.8% dengan rasio 1:1. Hal ini didasarkan pada penelitian Hariyadi *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa konsentrasi kappa-karagenan 0,75% dapat menghasilkan *yield* mikrosfer, *drug loading* dan efisiensi penjejakan yang tinggi. Hasil dari penelitian ini mengungkapkan bahwa seiring dengan meningkatnya konsentrasi polimer karagenan dari 0,25% hingga 0,75%, *yield* mikrosfer meningkat dari 52,53% hingga 63,19%, *drug*

loading meningkat dari 15,63% hingga 38,72% dan efisiensi penjejakan juga turut meningkat dari 25,38% hingga 51,61% (Hariyadi *et al*, 2021).

Crosslinking agent digunakan untuk meningkatkan sifat mekanik serta lebih menstabilkan struktur pulmosfer, yaitu membuat polimer menjadi lebih kaku (rigid), meningkatkan efisiensi enkapsulasi (dapat menjebak bahan aktif lebih banyak), dan menstabilkan pulmosfer dikarenakan ada ikatan antara penyambung silang dan polimer (Maitra & Shukla, 2014). Salah satu crosslinking agent yang digunakan sebagai penyambung silang dengan natrium alginat adalah kalsium klorida (CaCl_2). CaCl_2 banyak dipakai sebagai penyambung silang karena bersifat non-toksik jika dibandingkan dengan penyambung silang lainnya. Konsentrasi CaCl_2 yang digunakan adalah 0,5 M karena berdasarkan penelitian dari Hariyadi & Hendradi, 2020, penggunaan polimer pada rentang 2,5-3,5% dengan CaCl_2 sebanyak 0,5 M menghasilkan *yield* mikrosfer, *drug loading*, dan efisiensi penjejakan pada rentang 50-95%.

Cara pembuatan mikrosfer sering diklasifikasikan ada dua macam yaitu secara kimia atau mekanik. Gelasi ionik termasuk dalam proses kimia, yaitu metode yang memanfaatkan kemampuan polielektrolit agar dapat bersambung silang dengan *counter ions* untuk membentuk hidrogel. Gelasi ionik dengan teknik aerosolisasi dilakukan dengan cara menyemprotkan larutan polimer yang telah berisi obat pada larutan sambung silang (Yeo, 2001 & Patil, 2012). Metode gelasi ionik telah banyak digunakan karena prosesnya yang mudah, sederhana, dan bahan aktif dapat dienkapsulasi tanpa menggunakan pelarut organik maupun suhu tinggi, sehingga dapat mempertahankan stabilitas senyawa yang dimuat dalam pulmosfer (Wang *et al.*, 2013).

Setelah terbentuk mikrosfer basah, perlu dilakukan pengeringan terhadap mikrosfer yang terbentuk. Diketahui bahan obat tidak stabil untuk disimpan jangka panjang dalam bentuk cair atau suspensi sehingga dilakukan proses liofilisasi atau *freeze-drying* pada pulmosfer untuk membuatnya menjadi bentuk padat. Proses liofilisasi memastikan pulmosfer dapat dikeringkan tanpa menggunakan suhu tinggi sehingga stabilitasnya tetap terjaga. Namun, proses ini dapat menyebabkan tekanan pada partikel mikrosfer, sehingga dibutuhkan penggunaan lioprotektan agar mikrosfer terlindungi dari tekanan yang ditimbulkan dari proses pembekuan dan pengeringan (Fonte, Reis, & Sarmento, 2016). Mekanisme kerja lioprotektan yaitu menggantikan posisi air yang menyublim dari pulmosfer dan menjaga kestabilan fisik bentuk mikrosfer saat diliofilisasi (Amorij, 2008). Lioprotektan yang digunakan adalah maltodekstrin dengan konsentrasi 5% karena dapat mencegah agregasi, sedimentasi, dan dapat menghasilkan mikrosfer yang kecil dan sferis dengan permukaan yang lebih rata (Hariyadi *et al.*, 2015).

Efektivitas ciprofloxacin juga ditentukan dari pelepasan pulmosfer. Dalam penelitian ini akan dipelajari tentang pengaruh konsentrasi total polimer kombinasi alginat-karagenan (1%, 1.5%, dan 1.8%) dengan rasio 1:1 dalam sistem pulmosfer terhadap profil dan kinetika pelepasan dari ciprofloxacin HCl. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi pelepasan antara lain polimer yang mengembang (*swelling*), rasio polimer dan obat, erosi polimer, difusi obat serta distribusi obat di dalam matriks (Vilar *et al.*, 2012). Diinginkan agar sediaan pulmosfer dapat melepaskan obat secara *sustained-release*, tetapi dosis obat berada di atas MIC sehingga dapat memberikan aktivitas antibakteri di paru-paru. Efektivitas antibakteri dari hasil uji pelepasan dapat dibuktikan dengan uji aktivitas antibakteri.

Metode yang dipilih untuk melakukan uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini adalah metode difusi sumuran. Pada metode ini, lubang dibuat dengan diameter beberapa milimeter dan dipotong pada permukaan agar yang diinokulasi, lalu diisi dengan sampel. Larutan senyawa yang diuji berdifusi ke dalam media agar yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme (Choma & Grzelak, 2010). Metode difusi sumuran memiliki beberapa kelebihan antara lain, hasilnya kuantitatif, metodenya sederhana, dan tidak membutuhkan peralatan khusus (Jorgensen & Ferraro, 2009).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Hariyadi, Hendradi, & Kurniawan (2019), uji aktivitas antibakteri dari mikrosfer ciprofloxacin HCl dengan polimer alginat dan crosslinker CaCl_2 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara formula dan hasil pelepasan mikrosfer dengan ciprofloxacin standar. Hal ini ditunjukkan oleh diameter zona hambat ciprofloxacin HCl dalam mikrosfer alginat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 15.05 ± 0.07 mm hingga 15.30 ± 0.36 mm untuk 6 formula mikrosfer. Sedangkan rata-rata diameter zona hambat ciprofloxacin HCl standar yakni $15,95 \pm 0.25$ mm.

Pada penelitian ini, dilakukan uji aktivitas antibakteri secara mikrobiologi pada formula pulmosfer Ciprofloxacin HCl dengan konsentrasi total polimer kombinasi alginat-karagenan dengan rasio 1:1 sebesar 1%, 1.5%, dan 1.8%. Selain itu, dilakukan pengujian daya hambat antibiotik pada sampel hasil pelepasan pulmosfer di tiap formula untuk memberikan jaminan bahwa sediaan dapat tetap memberikan efek antibakteri selama 12 jam (Radji, 2010).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi total polimer kombinasi alginat-karagenan (1%, 1.5%, dan 1.8%) dengan rasio 1:1 terhadap profil dan kinetika pelepasan dari ciprofloxacin HCl?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi total polimer kombinasi alginat-karagenan (1%, 1.5%, dan 1.8%) dengan rasio 1:1 terhadap aktivitas antibakteri dari formula dan hasil pelepasan ciprofloxacin HCl

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan pengaruh konsentrasi total polimer kombinasi alginat-karagenan (1%, 1.5%, dan 1.8%.) dengan rasio 1:1 terhadap profil dan kinetika pelepasan dari ciprofloxacin HCl?
2. Menentukan pengaruh konsentrasi total polimer kombinasi alginat-karagenan (1%, 1.5%, dan 1.8%.) dengan rasio 1:1 terhadap aktivitas antibakteri dari formula dan hasil pelepasan ciprofloxacin HCl?