

BAB I**PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Kanker merupakan masalah kesehatan utama di dunia dan termasuk penyebab kematian nomor dua setelah kardiovaskular. Kanker ditandai dengan pertumbuhan sel yang tidak terkendali pada jaringan tubuh, dapat mengalami metastasis, dan invasi jaringan lokal. Terdapat berbagai macam pengobatan kanker yaitu pembedahan, radioterapi dan kemoterapi (Dipiro *et al.*, 2020).

Kemoterapi adalah pengobatan terapi kanker dengan pemberian rejimen kombinasi obat (Dipiro *et al.*, 2020). Namun, sel yang ditargetkan pada kemoterapi konvensional tidak spesifik sehingga akan mempengaruhi sel kanker dan sel normal. Kegagalan kemoterapi juga sering dikaitkan dengan resistensi obat pada sel kanker (MDR) yaitu kemampuan sel kanker untuk bertahan hidup melawan berbagai macam obat kanker (Dadwal, Baldi and Kumar Narang, 2018).

Terapi penargetan molekuler muncul sebagai salah satu pendekatan untuk mengatasi kurangnya spesifisitas kemoterapi konvensional. Dengan menggunakan penargetan pasif, dapat menghindari toksisitas pada sel normal. Penargetan pasif memanfaatkan karakteristik biologi dari sel tumor yang memungkinkan *nanocarrier* terakumulasi dalam sel tumor dengan peningkatan permeabilitas dan retensi (EPR) (Dadwal, Baldi and Kumar Narang, 2018).

Hesperetin (3',5,7-trihydroxy-4'-methoxy flavanone) merupakan salah satu flavonoid yang paling banyak ditemukan dalam buah jeruk. Hesperetin memiliki berbagai efek farmakologis termasuk aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikanker, neuroprotektif, anti hipertensi, dan anti aterosklerosis (Wang *et al.*, 2021). Hesperetin merupakan aglikon dari hesperidin yang diketahui sebagai antikanker, dapat menghambat proliferasi dan menginduksi apoptosis pada sel tumor (Stanisic *et al.*, 2018; J. Wang *et al.*, 2021). Meskipun memiliki aktivitas biologis yang baik, kelarutan hesperetin dalam air sangat rendah dan memiliki bioavailabilitas yang kurang baik (Wang *et al.*, 2021). Sebagai senyawa antikanker, kelarutan yang rendah akan menyebabkan timbulnya masalah, salah satunya adalah dapat membatasi laju disolusi obat dan mengakibatkan bioavailabilitas obat tersebut buruk (Masitoh *et al.*, 2019).

Obat dengan kelarutan yang buruk dapat ditingkatkan bioavailabilitas dan aktivitas *in vivo* serta *in vitro* dengan menggunakan sistem penghantaran obat (Wang *et al.*, 2021).

Menurut US government's National Nanotechnology Initiative (NNI) Nanoteknologi merupakan pengembangan penelitian dan teknologi pada tingkat atom, molekul, dan makromolekul dalam skala ukuran 1-100 nm. Nanopartikel merupakan polimer koloid berukuran submikron, yang umumnya dalam kisaran 5-200 nm digunakan untuk aplikasi sistem penghantaran obat. Nanopartikel dapat meningkatkan indeks terapeutik dari obat kanker, meningkatkan efikasi obat dengan mencapai tingkat terapi obat yang stabil, dan menurunkan toksisitas obat dengan pelepasan terkontrol serta meningkatkan aspek farmakokinetik obat dengan meningkatkan kelarutan dan stabilitas obat (Kumari, Ghosh and Biswas, 2016). Salah satu jenis nanopartikel adalah misel (Dadwal, Baldi and Kumar Narang, 2018).

Misel adalah partikel dispersi koloidal berukuran 5-100 nm dan merupakan senyawa amfifilik atau surfaktan yang terdiri dari bagian kepala bersifat hidrofobik dan bagian ekor bersifat hidrofilik. Bagian hidrofobik dari misel akan menjebak obat yang bersifat hidrofobik dan bagian hidrofilik dari misel akan kontak dengan air sehingga kelarutan obat akan meningkat dalam air. Misel memiliki sifat *self-assembly* yaitu dapat membentuk agregat secara spontan dengan sendirinya apabila konsentrasinya melebihi nilai CMC (*Critical micelle concentration*) (Hanafy, El-Kemary and Leporatti, 2018). Bahan penyusun misel diklasifikasikan menjadi dua, yaitu surfaktan molekul kecil dan polimer amfifilik makromolekul atau disebut juga misel polimer (Wang *et al.*, 2017).

Misel polimer yang paling umum digunakan dalam sistem penghantaran obat adalah di-blok amfifilik (hidrofilik-hidrofobik) atau polimer tri-blok (hidrofilik-hidrofobik-hidrofilik) (Owen, Chan and Shoichet, 2012). Misel polimer telah banyak digunakan untuk meningkatkan kelarutan, pengiriman obat terkontrol, dan penargetan obat (Muthu *et al.*, 2012). D- α -tokoferil polietilen glikol 1000 suksinat (TPGS) merupakan bentuk modifikasi dari vitamin E atau α -tokoferol yang dapat membentuk misel dan diketahui dapat meningkatkan stabilitas sistem koloid. TPGS juga diketahui dapat menghambat pertumbuhan sel tumor baik secara *invitro* dan *in vivo*. Selain itu, TPGS dapat mengurangi resistensi *multidrug* dengan penghambatan P-glikoprotein (P-gp) serta menginduksi apoptosis secara selektif pada sel kanker (Butt *et al.*, 2015). Namun, diketahui bahwa TPGS tunggal tidak dapat digunakan sebagai bahan pembentuk misel untuk penghantaran obat karena nilai *critical micelle concentration* (CMC) yang tinggi,

sehingga dapat mengakibatkan disosiasi misel dalam sirkulasi darah. Tetapi, bagian lipofilik dari TPGS relatif besar, sehingga dapat meningkatkan kelarutan obat lebih baik. Dengan demikian, TPGS menjadi bahan komponen yang ideal untuk membentuk misel campuran dengan kombinasi bahan amfifilik lainnya seperti Poloksamer (Muthu *et al.*, 2012). Poloksamer atau disebut juga pluronic adalah bagian dari kopolimer tri-blok yaitu PEO-PPO-PEO (polietilen oksida:PEO dan polipropilen oksida:PPO) yang banyak digunakan pada sediaan farmasi untuk meningkatkan waktu retensi obat dalam darah. Poloksamer dapat membentuk misel yang terdiri dari bagian inti PPO hidrofobik yang digunakan untuk mengikat obat hidrofobik ke dalam misel, sedangkan bagian luar PEO hidrofilik bertindak untuk melindungi misel dari pengenalan oleh sistem kekebalan tubuh dan interaksi yang tidak diinginkan dengan protein serum, akibatnya misel tidak akan terdeteksi sehingga dapat meningkatkan waktu retensi obat dalam plasma. Dengan demikian kombinasi TPGS dan poloksamer dapat bekerja secara sinergis untuk meningkatkan efikasi sebagai sistem penghantaran senyawa antikanker (Butt *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian sebelumnya mengenai pengaruh perbandingan TPGS dan poloksamer P84 terhadap karakteristik fisik dan stabilitas misel kombinasi. Pada penelitian tersebut, menggunakan empat formula yaitu TPGS tunggal, misel kombinasi TPGS: Poloksamer P84 1:1, 1:2, dan 1:4. Kemudian didapatkan hasil bahwa sistem misel kombinasi TPGS:poloksamer dengan perbandingan 1:4 memiliki nilai CMC yang lebih rendah, efisiensi pengebakan obat yang lebih baik jika dibandingkan dengan sistem misel tunggal, dan memiliki ukuran partikel $15,83 \pm 0,31$ nm. Pada penelitian ini, dilakukan pengamatan stabilitas penyimpanan secara visual terhadap sistem misel kombinasi TPGS:Poloksamer P84 selama 7 hari pada suhu 25°C dan pada formula dengan perbandingan 1:4 tidak mengalami presipitasi dilihat dari kejernihan sampel. Dari penelitian tersebut, maka digunakan misel kombinasi TPGS dan Poloksamer P84 dengan perbandingan 1:4. (Arifah, 2019). Dari penelitian sebelumnya juga didapatkan konsentrasi hesperetin yang stabil dimuat dalam sistem misel kombinasi TPGS-Poloksamer P84 1:4 adalah sebesar 4% (Aulia, 2021).

Misel sebagai pembawa obat memiliki stabilitas fisik yang menurun seiring dengan peningkatan kandungan muatan obat hidrofobik. Hal ini disebabkan karena perubahan keseimbangan hidrofilik dan hidrofobik dalam sistem misel. Misel yang bermuatan obat juga dapat mengalami hidrolisis saat disimpan dalam waktu yang lama (Yang *et al.*,

2008). Produk akhir misel yang berbentuk cair, memiliki stabilitas penyimpanan yang rendah karena dipengaruhi oleh lingkungan sekitar yang dapat menyebabkan perubahan karakteristik fisik. Untuk mendapatkan formulasi yang stabil dalam jangka waktu lama dan menjaga karakteristik fisik dari misel, maka perlu dilakukan solidifikasi yaitu merubah bentuk misel menjadi bentuk padatan melalui proses pengeringan. Terdapat dua proses pengeringan yang umum digunakan yaitu metode *Freeze-drying* dan *spray-drying* (Sofia Anggraeni, 2020). *Freeze-drying* memiliki beberapa keuntungan yaitu, produk dikeringkan tanpa suhu tinggi, hasil produk *freeze-drying* yang baik memiliki karakteristik fisik yaitu struktur stabil dan berporus, ukuran partikel seragam, memiliki waktu rekonstitusi yang cepat, persentase obat yang hilang rendah, tidak terdapat perubahan aktivitas biologi dan efek terapeutik, serta memiliki stabilitas penyimpanan dalam jangka waktu yang lama (Hua, Liu and Zhang, 2010).

Freeze-drying atau pengeringan beku adalah proses menghilangkan air melalui tahapan pembekuan, sublimasi, dan desorpsi. Tujuan dari *Freeze-drying* adalah untuk memperpanjang waktu penyimpanan produk dan menjaga stabilitas produk sehingga nanopartikel akan mudah di redispersi kembali apabila diperlukan. Pada metode *freeze-drying* terdapat tiga proses yaitu pembekuan, pengeringan primer, dan pengeringan sekunder. Selama proses ini, dapat menyebabkan *stress* atau tekanan yang besar, sehingga nanopartikel akan mengalami agregasi antar partikel dan produk menjadi tidak stabil. Sehingga untuk mengatasi hal tersebut digunakan lioprotektan atau disebut juga dengan krioprotektan (Wang *et al.*, 2018). Faktor yang mempengaruhi karakteristik dan porositas dari nanopartikel pada proses *freeze-drying* yaitu suhu, waktu pembekuan, waktu pengeringan, volume air yang ditambahkan, jenis dan jumlah lioprotektan yang digunakan (Paramanandana *et al.*, 2018).

Lioprotektan digunakan untuk mencegah degradasi dari suatu makromolekul selama *freeze-drying* dan juga selama penyimpanan. Kelompok gula diketahui mampu melindungi nanopartikel selama proses *freeze-drying* sebab gula tidak akan mengalami kristalisasi dalam kondisi normal pengeringan beku (Hua, Liu and Zhang, 2010). Mekanisme lioprotektan dalam melindungi nanopartikel yaitu dengan mekanisme vitrifikasi dan mekanisme *water replacement* (Paramanandana *et al.*, 2018). Pada proses pembekuan, gula akan menggantikan posisi air dan membentuk ikatan hidrogen pada nanopartikel. Sehingga, saat nanopartikel diliofilisasi dan berbentuk padat kering,

nanopartikel akan tetap stabil karena integritas bentuk fisiknya tetap sferis, dan komponen di dalamnya akan tetap utuh (Nirmala, 2014).

Kelompok gula yang umum digunakan dalam proses *freeze-drying* adalah sukrosa, trehalose, laktosa, dan manitol. Berdasarkan penelitian Shi et al., menunjukkan bahwa misel PEG-PLA dengan manitol sebagai lioprotektan pada persentase 2%; 5%; 8%; dan 10% yang digunakan dalam proses *freeze-drying*, pada konsentrasi manitol 5% sediaan dapat dengan mudah di rekonstitusi kembali dan memiliki ukuran partikel yang baik dibandingkan dengan sukrosa dan laktosa (Shi et al., 2017). Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Nursalim mengenai preparasi nanopartikel kitosan dengan manitol sebagai lioprotektan didapatkan hasil bahwa dengan penambahan manitol konsentrasi 10% dapat menghasilkan nanopartikel yang mengarah pada bentuk sferis (Nursalim, 2013). Selain itu pada penelitian lain mengenai misel kombinasi berbasis fosfolipid untuk meningkatkan kelarutan, bioavailabilitas, dan aktivitas antikanker obat lenvatinib dengan penggunaan manitol 2% b/v sebagai lioprotektan, menunjukkan struktur misel yang padat dan tidak rapuh (Zhang et al., 2021). Sehingga pada penelitian ini digunakan manitol sebagai lioprotektan.

Untuk mengetahui pengaruh penggunaan lioprotektan manitol pada sistem misel kombinasi TPGS-poloksamer P84 yang disolidifikasi dengan metode *freeze-drying* serta pengaruh perbedaan konsentrasi manitol maka diperlukan evaluasi karakteristik fisik yaitu, efisiensi enkapsulasi dan ukuran partikel (Croy and Kwon, 2006). Selain itu, diperlukan evaluasi uji stabilitas penyimpanan untuk memberikan jaminan bahwa sediaan akan tetap pada tingkat kualitas yang dapat diterima selama periode yang ditentukan. Pengujian stabilitas misel akan dilakukan pada suhu dan/atau kelembaban yang relatif tinggi untuk menentukan degradasi yang mungkin terjadi setelah penyimpanan jangka panjang (Bajaj, Singla and Sakhuja, 2012). Pada penelitian ini, stabilitas hasil solidifikasi misel diamati selama 28 hari, sampel disimpan pada suhu 25°C. Kemudian sampel direkonstitusi dan diamati kemampuan redispersibilitas, ukuran partikel misel setelah penyimpanan dievaluasi menggunakan *Dynamic Light Scattering* (DLS) dan mengamati efisiensi penjejakan obat menggunakan spektrofotometer. (Moretton, Chiappetta dan Sosnik, 2012).

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian nanopartikel misel hesperetin kombinasi TPGS-Poloksamer P84 yang disolidifikasi menggunakan metode *Freeze Drying* (pengeringan beku) dengan penggunaan manitol sebagai lioprotektan pada

konsentrasi 5%;7,5%;10%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan manitol sebagai lioprotektan pada konsentrasi 5%;7,5%;10% terhadap karakteristik fisik (ukuran partikel, efisiensi pengebakan obat, dan pemuatan obat) dan stabilitas (ukuran partikel, efisiensi pengebakan obat, pemuatan obat, dan kemampuan redispersibilitas) misel hesperetin dalam kombinasi TPGS-poloksamer P84 1:4.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh penggunaan manitol sebagai lioprotektan pada konsentrasi 5%;7,5%;10% terhadap karakteristik fisik (ukuran partikel, efisiensi pengebakan obat, dan pemuatan obat) misel hesperetin dalam kombinasi TPGS-poloksamer P84 1:4?
2. Bagaimana pengaruh penggunaan manitol sebagai lioprotektan pada konsentrasi 5%;7,5%;10% terhadap stabilitas (ukuran partikel, efisiensi pengebakan obat, pemuatan obat, dan kemampuan redispersibilitas) misel hesperetin dalam kombinasi TPGS-poloksamer P84 1:4?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengevaluasi pengaruh penggunaan manitol sebagai lioprotektan pada konsentrasi 5%;7,5%;10% terhadap karakteristik fisik (ukuran partikel, efisiensi pengebakan obat, dan pemuatan obat) misel hesperetin dalam kombinasi TPGS-poloksamer P84 1:4.
2. Mengevaluasi pengaruh penggunaan manitol sebagai lioprotektan pada konsentrasi 5%;7,5%;10% terhadap stabilitas (ukuran partikel, efisiensi pengebakan obat, pemuatan obat, dan kemampuan redispersibilitas) misel hesperetin dalam kombinasi TPGS-poloksamer P84 1:4.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi data ilmiah dan kontribusi di bidang ilmu pengetahuan dan kesehatan terkait pengaruh penggunaan manitol sebagai lioprotektan pada konsentrasi 5%;7,5%;10% terhadap karakteristik fisik (ukuran partikel, efisiensi pengebakan obat, dan pemuatan obat) dan stabilitas (ukuran partikel, efisiensi pengebakan obat, pemuatan obat, dan kemampuan redispersibilitas) misel hesperetin dalam kombinasi TPGS-poloksamer P84 1:4 dalam pengembangan sistem penghantaran obat kanker yaitu hesperetin.