

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Paru-paru merupakan salah satu organ penting tubuh yang berperan pada sistem pernafasan. Sistem pernafasan memiliki fungsi utama untuk penangkapan oksigen (O_2) dari lingkungan luar dan mengirimnya ke jaringan, serta perpindahan CO_2 secara simultan dari jaringan ke lingkungan luar (Kim E Barret; Susan M Barban; Heddwen L.Brooks; Jason X.-J.Yuan, 2019). Dalam menjalankan fungsinya, paru-paru terus-menerus terpapar lingkungan kaya oksigen dan dengan demikian rentan terhadap cedera yang disebabkan stress oksidatif (Mehta, *et al.*, 2018). Luas permukaan paru diperkirakan sekitar 80-100 m² dan menghirup 10.000-20.000 L udara per hari. Selain itu, Sekitar 2% dari O_2 yang dihirup menghasilkan ROS, yang menyebabkan kerusakan protein, lipid, dan DNA (Rogers & Cismowski, 2017). Dalam keadaan normal, reaksi oksidatif dihambat oleh berbagai antioksidan alami pada paru-paru seperti glutathione, superoksida dismutase, β -karoten, vitamin C dan E, asam urat dan heme-oksigenase. Namun, pada beberapa kondisi, perlindungan antioksidan tersebut dapat dikalahkan oleh spesies oksigen atau nitrogen reaktif (Mehta, *et al.*, 2018).

Sayangnya, dalam pengobatan kerusakan jaringan paru-paru hanya tersedia beberapa pilihan pengobatan, seperti kortikosteroid oral/inhalasi dan N-asetilsistein oral dosis tinggi. Namun, perawatan ini memiliki keuntungan yang terbatas dengan adanya efek samping yang cukup besar. Maka dipertimbangkan antioksidan alami yaitu *phytoconstituents* seperti flavonoid yang merupakan senyawa polifenol (Mehta, *et al.*, 2018). Selain itu, jenis flavonoid yang paling melimpah adalah *Quercetin*. *Quercetin* membentuk tulang punggung bagi banyak flavonoid lainnya, termasuk rutin (*quercetin* terglukosilasi), hesperidin, dan naringenin (Bischoff, 2008).

Quercetin (3,5,7-trihidroxy-2-(3,4-dihidroxyphenyl)-4Hchromen-4-one) merupakan salah satu metabolit sekunder tanaman berupa polifenol yang termasuk golongan flavonoid (Bischoff, 2008). *Quercetin* memiliki struktur berupa 2 cincin benzene yang dihubungkan oleh cincin *pyrene* yang mengandung oksigen. *Quercetin* umumnya ditemukan dalam bentuk glikosidanya, di mana satu atau lebih gugus hidroksil digantikan oleh berbagai jenis gugus gula (Wang, *et al.*, 2016). *Quercetin* terdapat dalam

berbagai bahan makanan seperti bawang merah, anggur, apel, beri, ceri, brokoli, buah jeruk, teh, caper, dan lovage (Bischoff, 2008). Pemerian *quercetin* berupa berwarna kuning, berbentuk kristal dengan rasa pahit (Budavari, 2000).

Banyak penelitian yang telah membuktikan aktivitas biologi dari *quercetin*, beberapa diantaranya meliputi aktifitas antioksidan (Kukongviriyapan, *et al.*, 2012; Luangaram, *et al.*, 2007; Kim, *et al.*, 2013; Arts, *et al.*, 2004), aktifitas anti inflamasi (Geraets, *et al.*, 2007; Sah, *et al.*, 2011; Bureau, *et al.*, 2008; Nair, *et al.*, 2006; Manjeet & Ghosh, 1999), aktifitas antikanker (Jeong, *et al.*, 2009; Maurya & Vinayak, 2015), aktivitas antihipertensi (Duarte, *et al.*, 2001; Perez-Vizcaino, *et al.*, 2006; Edwards, *et al.*, 2007; Egert, *et al.*, 2009), pencegahan atherosclerosis (Kleemann, *et al.*, 2011), mengurangi peroksidasi lipid (Kleemann, *et al.*, 2011; Prince & Sathya, 2010), anti fibrotic (Lee, *et al.*, 2003), antikoagulan (Bucki, *et al.*, 2003), antibakteri (Cushnie & Lamb, 2005), dan anti-proliferatif (Kuo, 1996; Orsolic, *et al.*, 2004; Gulati, *et al.*, 2006). Beberapa aktifitas biologis seperti antiinflamasi terkait dengan kemampuan antioksidan *quercetin* (Boots, *et al.*, 2008). Arts, *et al.* (2004) menunjukkan kapasitas antioksidan total plasma *quercetin* hingga 6,24 kali lebih tinggi dari trolox sebagai antioksidan referensi, sedangkan antioksidan vitamin C hampir sama dengan trolox. *Quercetin* menunjukkan aktivitas terapi yang baik pada beberapa penyakit. Dengan penelitian lebih lanjut, *quercetin* diharapkan menjadi obat baru yang dapat mencegah dan menyembuhkan penyakit (Yang, *et al.*, 2020) terutama *quercetin* telah dieksplorasi sebagai pilihan pengobatan untuk penyakit paru-paru (Araújo, *et al.*, 2020).

Pada beberapa tahun terakhir, pemberian obat melalui sistem pernafasan disukai secara luas untuk pengobatan penyakit paru-paru. Sistem inhaler banyak digunakan pada penyakit akut dan kronis didasarkan pada luas permukaan yang besar, aktivitas enzimatis paru rendah, aksi terapeutik cepat, dan efek samping sistemik kecil pada penyakit akut dan kronis (AKDAĞ, 2019). Untuk mencapai konsentrasi lokal unggul senyawa antioksidan di jaringan paru-paru, dapat dilakukan dengan mendistribusikan aerosol langsung ke saluran udara melalui *nebulizer*, *pressurised metered dose inhaler* (pMDI), *soft mist inhaler* (SMI) atau *dry powder inhaler* (DPI) (Mehta, *et al.*, 2018).

Diantara Teknik-teknik inhalasi lainnya, *Dry Powder Inhaler* (DPI) lebih praktis, bebas propelan, tidak memerlukan rekonstitusi bubuk, tidak memerlukan penyimpanan rantai dingin, tidak memerlukan koordinasi antara inspirasi pasien dan aktuasi inhaler, lebih banyak peluang untuk teknik pembawa, lebih murah, dapat meningkatkan sifat

fisikokimia dan biofarmasi fitokonstituen dan dapat menjamin pengiriman konsentrasi obat yang lebih tinggi di tempat pengendapan (Mehta, *et al.*, 2018). Selain itu, DPI telah sering digunakan dalam beberapa tahun terakhir dan dianggap lebih unggul dari formulasi lain berkaitan dengan bentuk padat dari zat aktif yang memberikan peningkatan stabilitas, mudah digunakan, dan dapat diberikan dalam dosis besar, serta risiko lain seperti fragmentasi, dekomposisi, dan kontaminasi mikrobiologis dari dosis, lebih sedikit dibandingkan dengan formulasi cair (AKDAĞ, 2019).

Menurut AKDAĞ (2019), efikasi DPI dapat ditingkatkan dengan memformulasikan sistem penghantaran obat novel dengan kemampuan untuk meningkatkan parameter aerodinamis, stabilitas formulasi, dan sifat fisikokimia obat. Selain itu, Mehta, *et al* (2018) menyatakan aktifitas terapeutik *quercetin* mengalami kendala pada kelarutan dalam air yang rendah (0,48 g/ml), lipofilisitas yang tinggi, bioavailabilitas oral yang rendah (~2%), absorpsinya sebagian besar dipengaruhi oleh sifat dan jenis gula yang melekat, dan molekul *quercetin* yang mengandung substituent hidroksil 3' dan 4' dengan gugus katekol pada B-ring, secara ekstensif mengalami metilasi *in vivo*. Sehingga menyebabkan penggunaan *quercetin* dosis tinggi dengan frekuensi sering untuk mendapatkan efisiensi terapi optimal yang mengarah pada efek samping yang besar. Oleh karena itu, untuk mengatasi masalah ini, digunakan sistem penghantaran obat berbasis lipid non-invasif seperti SLM.

Solid Lipid Microparticle (SLM) merupakan partikel berukuran mikrometer tidak berpori, yang dapat digunakan untuk penggabungan senyawa bioaktif serta kristalisasi untuk memodifikasi sifat fisik sistem lipid (Queirós, *et al.*, 2020). *Solid Lipid Microparticle* (SLM) *biocompatible*, *biodegradable*, dan telah menunjukkan bio-afinitas *in vitro* dan *in vivo*, serta dapat digunakan pada beberapa rute seperti oral, topical, nasal, pulmonary, dan parenteral (Scalia, *et al.*, 2014).

SLM yang termasuk dalam sistem *lipid microparticle* memiliki komponen esensial berupa lipid dan surfaktan. Lipid berfungsi membentuk inti hidrofobik dari SLM pada suhu kamar dan suhu tubuh (Scalia, *et al.*, 2014) dan surfaktan berfungsi sebagai stabilisasi partikel (Nahum & Domb, 2021). Lipid terdiri dari beberapa kelas yaitu *triglycerides*, *partial glycerides*, *fatty acids*, *fatty alcohol*, *non-glyceride esters*, *waxes*, dan kelas lainnya. Sedangkan surfaktan terdiri dari surfaktan anionik, kationik, amfoterik, dan non-ionik (Scalia, *et al.*, 2014).

Menurut Scalia, *et al* (2014), pemilihan bahan pembawa lipid dan surfaktan sangat penting karena pemilihan eksipien akan mempengaruhi sifat sistem pengiriman. Beberapa parameter pemilihan lipid antara lain kelarutan bahan aktif dalam lipid, koefisien partisi bahan aktif dalam lipid cair dan air panas, struktur kristal lipid dan kemungkinan modifikasi. Pemilihan jenis dan konsentrasi surfaktan umumnya ditentukan oleh pertimbangan keamanan dan stabilitas maksimum.

Dalam pemilihan lipid, digunakan lipid Compritol 888 ATO. Aburahma & Badr-Eldin (2014) menyatakan diantara banyaknya kelas lipid, Gliserida mewakili kelas lipid yang berfungsi sebagai eksipien multiguna di bidang farmasi dan diantaranya Compritol 888 ATO telah menarik minat khusus karena telah berhasil digunakan dalam beragam bentuk sediaan farmasi. Dibandingkan dengan gliserida homogen, Compritol 888 ATO lebih unggul dalam hal kemampuan menjebak obat karena sifatnya yang kompleks dan orientasi yang kurang sempurna sehingga menyisakan lebih banyak ruang bagi obat untuk dimuat. Selain itu, panjang rantai panjang asam behenat di Compritol 888 ATO meningkatkan jebakan antarmolekul obat dengan interkalasi antarrantai.

Dalam pemilihan surfaktan digunakan poloxamer 188. Poloxamers adalah kopolimer polioksietilena-polioksiipropilena nonionik yang digunakan terutama dalam formulasi farmasi sebagai agen pengemulsi atau pelarut (Rowe, *et al.*, 2009). Salah satu jenis poloxamer adalah poloxamer 188 yang merupakan kopolimer blok dengan tulang punggung poli(etilen oksida)-poli(propilena oksida)-poli(etilen oksida) (PEO-PPO-PEO) yang memiliki rata-rata mol wt 8500 dan melting point 54°C (Shah & Serajuddin, 2012). Poloxamer 188 telah digunakan sebagai zat pengemulsi dalam pembuatan sistem dispersi padat (Rowe, *et al.*, 2009) untuk meningkatkan kelarutan dan laju disolusi obat dikarenakan sifat aktif permukaannya (Shah & Serajuddin, 2012).

Compritol 888 ATO dan poloxamer 188 telah digunakan pada beberapa penelitian terkait SLM dengan berbagai bahan aktif. Konsentrasi poloxamer 188 sebagai surfaktan yang berbeda akan memberikan perbedaan pada hasil SLM yang dibuat. Pada penelitian oleh Sanna, *et al* (2003), dilakukan penyiapan SLM tanpa bahan aktif dengan menggunakan lipid compritol 888 ATO dan surfaktan Poloxamer 188. Dari penelitian tersebut diketahui perbedaan konsentrasi poloxamer 188 akan menyebabkan perbedaan pada ukuran partikel SLM meskipun secara tidak beraturan. Kemudian penelitian yang dilakukan oleh Ignjatovića, *et al* (2021), yangmana mengkombinasikan compritol 888 ATO dan poloxamer 188 pada bahan aktif Salbutamol sulfat. Pada penelitian tersebut,

diketahui konsentrasi poloxamer 188 memiliki efek signifikan pada ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel. Ukuran partikel merupakan salah satu factor kritis pembatasan penggunaan SLM melalui paru-paru atau inhalasi (Sanna, *et al.*, 2003).

Terdapat beberapa metode pembuatan SLM yaitu *melt emulsification method*, *solvent emulsification-evaporation method*, *solvent emulsification-diffusion method*, *double emulsion (w/o/w) method*, *sonication method*, *spray congealing method*, *supercritical fluid-based method*, dan *spray drying method*. Metode yang digunakan pada pembuatan SLM Quercetin adalah metode *melt emulsification method* karena memiliki kelebihan kurangnya penggunaan pelarut organik serta dikombinasikan dengan *sonication method* yang dapat mengurangi ukuran partikel. Teknik ini dilakukan dengan cara melebur lipid dan obat dilarutkan atau didispersikan ke dalamnya. Fase leleh ini kemudian dicampur ke dalam fase polar yang dipanaskan (terutama air) yang mengandung surfaktan. Umumnya, fase air panas dituangkan ke dalam lipid cair untuk menghindari hilangnya eksipien dan obat selama persiapan. Campuran kemudian dihomogenisasi dengan high shear apparatus pada suhu di atas titik leleh lipid dan dilakukan sonifikasi menggunakan ultrasonic probe. Emulsi yang diperoleh didinginkan pada suhu kamar untuk membentuk suspensi mikropartikel (Scalia, *et al.*, 2014).

Untuk mendapatkan serbuk SLM, dilakukan pengeringan dengan metode *freeze drying*. *Freeze drying* mampu meningkatkan stabilitas dan memudahkan penanganan produk akhir. Selain itu, dikarenakan proses dilakukan pada suhu rendah, *freeze drying* memberikan risiko yang lebih rendah untuk produk labil daripada pada suhu tinggi yang digunakan dalam *spray-drying* (Moraisa, *et al.*, 2016). Quercetin merupakan senyawa yang terpengaruh secara signifikan oleh suhu. Pada tekanan atmosfer, suhu 100°C selama 50 menit atau tekanan mendidih 121°C selama 10 menit dapat menyebabkan hilangnya 70% quercetin dalam *Phaseolus vulgaris* dan pasteurisasi pada suhu 80°C selama 91 detik mengurangi rata-rata 17% quercetin dalam jus jeruk bali (Wang, *et al.*, 2016). Oleh karena itu, digunakan metode penyerangan *freeze drying* sehingga tidak membutuhkan suhu tinggi pada pengeringan dan tidak menyebabkan peruraian quercetin yang menyebabkan penurunan aktifitasnya.

Pengembangan sistem penghantaran obat secara keseluruhan bergantung pada efikasi, kualitas dan keamanannya. Untuk mencapai atribut tersebut diperlukan metode evaluasi yang andal untuk mengujinya. Metode evaluasi dapat dikalsifikasikan sebagai *in vitro*, *in vivo* dan *ex vivo* (Shaji & Shaikh, 2016).

Efektivitas antioksidan dipengaruhi oleh fitur struktural, konsentrasi, suhu, jenis substrat oksidasi, dan keadaan fisik sistem, serta keberadaan prooksidan dan sinergis. Evaluasi antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa macam metode dengan mekanisme tertentu. Mekanisme terdiri dari ROS *scavenging* dan *Redox Potential*. ROS *scavenging* merupakan metode yang aktivitas antioksidannya terkait dengan kapasitas antioksidan terhadap jenis spesies radikal tertentu. Sedangkan *redox potential* mekanismenya tidak hanya tidak hanya memungkinkan pemulungan radikal bebas dan ROS yang diturunkan dari oksigen lainnya, tetapi juga mengurangi elemen valensi yang lebih tinggi ke keadaan valensi yang lebih rendah (Zhong & Shahidi, 2015).

Metode uji antioksidan dengan mekanisme ROS *Scavenging* antara lain ORAC, *chemiluminescence*, DPPH *scavenging*, TEAC (ABTS). Sementara metode antioksidan dengan mekanisme *redox potential* antara lain FRAP, CUPRAC, Ag^+ *reducing*, CERAC, dan CHROMAC (Zhong & Shahidi, 2015). Pada penelitian ini digunakan metode uji antioksidan TEAC atau ABTS. Uji ABTS memungkinkan pengukuran aktivitas antioksidan campuran zat dan karenanya membantu membedakan antara efek aditif dan sinergis. Pengujian ABTS didasarkan pada interaksi antara antioksidan dan kation radikal ABTS ($ABTS^{+}$) yang memiliki karakteristik warna yang menunjukkan maksimum pada 645, 734 dan 815 nm. Metode ini memiliki kelebihan operasional sederhana, telah banyak digunakan pada laboratorium penelitian, bereaksi cepat dengan antioksidan, larut dalam pelarut air dan organik, dan tidak terpengaruh oleh kekuatan ion, sehingga dapat digunakan di berbagai media untuk menentukan kapasitas antioksidan hidrofilik dan lipofilik dari ekstrak dan cairan tubuh (Boligon, *et al.*, 2014).

Selain aktivitas antioksidan, penting untuk mengetahui stabilitas dari sediaan. Stabilitas merupakan persyaratan penting dalam pengembangan produk farmasi dan keberhasilan formulasi obat (Kakran, *et al.*, 2012). Produk farmasi yang tidak stabil dapat menyebabkan efek samping yang kurang menguntungkan baik pada efektivitas maupun keamanan sediaan akibat perubahan didalamnya. Perubahan tersebut dapat disebabkan pada perubahan fisika, kimia, maupun mikrobiologi (Bajaj, *et al.*, 2012) sehingga uji stabilitas umumnya ditinjau dari ketiga perubahan tersebut. Pada penelitian ini, fokus pengujian stabilitas mengarah pada stabilitas fisik dan stabilitas kimia dari sediaan.

Berdasarkan hal tersebut, dilakukan penelitian ini sehingga akan diketahui pengaruh konsentrasi surfaktan poloxamer 188 terhadap uji antioksidan yang

digambarkan dengan uji ABTS dan uji stabilitas *Solid Lipid Microparticle* (SLM) *quercetin*.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh konsentrasi surfaktan Poloxamer 188 terhadap karakteristik, aktivitas antioksidan, dan stabilitas *Quercetin Solid Lipid Microparticle* (SLM)?

1.3 Tujuan Penelitian

Menentukan pengaruh konsentrasi surfaktan Poloxamer 188 terhadap karakteristik, aktivitas antioksidan, dan stabilitas *Quercetin Solid Lipid Microparticle* (SLM)

1.4 Manfaat Penelitian

Mengetahui hasil uji pengaruh konsentrasi surfaktan terhadap aktivitas antioksidan, dan stabilitas *Solid Lipid Microparticle Quercetin* dengan menggunakan surfaktan Poloxamer 188, sebagai data yang bermanfaat di kemudian hari untuk menunjang sistem penghantaran obat yang efektif dan stabil serta dapat dikembangkan lebih lanjut pada skala industri.