

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Penuaan (*skin aging*) merupakan suatu proses yang terjadi dimana kulit mengalami perubahan degeneratif seperti munculnya garis halus, kerutan, penipisan epidermis, pigmentasi tidak merata, hingga penurunan elastisitas (Bonté *et al.*, 2019). Penuaan dapat disebabkan oleh faktor intrinsik (oksidasi hasil metabolisme tubuh secara alami) maupun ekstrinsik (polusi, radiasi UV, pola hidup). Kedua faktor tersebut memicu terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS), senyawa yang meningkatkan produksi *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) dalam tubuh. Selanjutnya, peningkatan MAPK akan menginduksi peningkatan ekspresi *Matrix Metalloproteinase* (MMP), peningkatan produksi berbagai sitokin pemicu inflamasi, disertai penghambatan sinyal *Transforming Growth Factor-β* (TGF-β) oleh fibroblas dermis (Gu *et al.*, 2020; Shin *et al.*, 2019). Keseluruhan proses tersebut berimbas pada penuaan fibroblas dan degradasi struktur fungsional dermis seperti kolagen, elastin, proteoglikan, dan glikosaminoglikan (Shin *et al.*, 2019). Selain itu, efek negatif lain yang timbul adalah penurunan kemampuan proliferasi stratum basal epidermis (Zhang & Duan, 2018). Dampak dari penuaan umumnya tidak diharapkan sehingga dilakukan banyak penelitian untuk memperlambat hingga menghentikan proses penuaan. Mulai senyawa sintetis hingga senyawa alami diuji aktivitasnya sebagai *antiaging*, salah satunya senyawa bernama kuersetin.

Kuersetin adalah salah satu senyawa flavonol yang ditemukan pada banyak jenis buah dan sayur seperti bawang merah, apel, mangga, daun teh hijau, daun teh hitam, *blueberry*, *cranberry* dan kacang polong (Kandemir *et al.*, 2021). Sebagai anggota flavonoid, kuersetin memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti mengatasi kanker, diabetes, obesitas, alzheimer, tirosinase, inflamasi, gangguan kardiovaskular dan hati. Bioaktivitas kuersetin juga beragam meliputi antimikroba, antiparasit, dan antioksidan (Salehi *et al.*, 2020; Zou *et al.*, 2021). Kuersetin sebagai antioksidan bekerja menetralkan ROS dengan menjadi *direct scavenger*, meregulasi antioksidan dalam sel serta meregulasi jalur persinyalan yang diaktifkan oleh keberadaan ROS (Xu *et al.*, 2019). Kuersetin diteliti memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan vitamin C dan E karena keberadaan 3-OH pada cincin C dan 3',4'-katekol pada cincin B (Salehi *et al.*, 2020). Kemampuan penangkal ROS kuersetin diharapkan mampu menjadikannya suatu

agen *antiaging* yang poten (Chondrogianni *et al.*, 2010). Meski demikian, kuersetin masih memiliki kekurangan yang berpotensi menurunkan efektivitas kerja antioksidannya pada kulit. Secara teoritis, kuersetin memiliki permeabilitas yang baik dengan nilai $\log P$ $1,82 \pm 0,32$ (Hatahet *et al.*, 2016). Akan tetapi kuersetin memiliki kemampuan penetrasi kulit yang buruk disebabkan oleh banyaknya gugus hidroksil kuersetin yang menghalangi penetrasinya pada stratum korneum (Hatahet *et al.*, 2016). Banyaknya gugus hidroksil tidak menyebabkan kuersetin memiliki kelarutan yang baik sebab strukturnya yang dominan akan cincin karbon nonpolar membuat ia bersifat sukar larut pada air sehingga tergolong dalam senyawa BCS kelas II (Madaan, Lather dan Pandita, 2016). Kuersetin juga memiliki stabilitas kimiawi buruk terhadap berbagai faktor eksternal yang memicu oksidasi dan degradasi (Wang *et al.*, 2016). Oleh karena itu, sistem penghantaran yang memadai diperlukan agar aktivitas *antiaging* kuersetin lebih efektif hingga menembus area dermis.

Sistem penghantaran merupakan suatu metode yang dibuat untuk memfasilitasi senyawa obat mencapai target terapi (sel, jaringan, atau organ) agar tercapai efek terapeutik yang diinginkan. Umumnya, sistem penghantaran dirancang untuk memperbaiki sifat senyawa obat seperti meningkatkan kelarutan, meningkatkan efek farmakologi, dan menurunkan efek samping yang ditimbulkan (Li *et al.*, 2019). Salah satu jenis penghantaran obat yang populer saat ini adalah sistem pembawa berukuran nano (*nanocarrier*). *Nanocarrier* dapat tersusun dari atas lipid, polimer, atau vesikel. Sistem penghantaran berbasis *nanocarrier* menjadi salah satu sistem penghantaran obat unggulan untuk rute topikal sebab kemampuannya dalam meningkatkan stabilitas obat, memfasilitasi pelepasan terkontrol, serta meningkatkan kemampuan penetrasi kulit (Cui *et al.*, 2021).

Spanlastik adalah salah satu jenis penghantaran berbasis *nanocarrier* dengan komposisi utama berupa *vesicle builder* (VB) dan *edge activator* (EA) (Rathod *et al.*, 2021). Berdasarkan strukturnya, spanlastik menyerupai niosom yang tersusun atas surfaktan nonionik (Rathod *et al.*, 2021). VB yang digunakan dalam spanlastik adalah span (Sorbitan Ester) yang memiliki struktur amfoter dengan kepala bersifat hidrofilik dan ekor rantai tunggal bersifat hidrofobik. Ketika membentuk vesikel maka seluruh bagian hidrofilik dari span akan menghadap ke arah luar sehingga vesikel memiliki kelarutan yang baik di dalam air. Pada area transmembran, kumpulan rantai-rantai karbon tunggal dari span membentuk wilayah hidrofobik yang dapat disisipi senyawa obat sukar larut air dan memberikan kemampuan pelepasan lambat yang baik (Sharma *et al.*, 2020).

Pada penelitian Kakkar dan Kaur (2011), pembuatan vesikel spanlastik memberikan hasil vesikel struktur multilamellar sehingga mampu memberikan daya pengebakan dua kali lebih baik dari niosom unilamellar. Selain itu, spanlastik telah teruji dapat menjaga stabilitas bahan aktif dengan cara mencegah kerusakan yang diakibatkan oleh paparan kondisi eksternal (Sharma *et al.*, 2020). Spanlastik memiliki ciri khas membran vesikel yang elastis dan mudah terdeformasi dimana ia mampu menekan ukurannya sehingga mampu melewati celah interseluler pada stratum korneum (Alaaeldin *et al.*, 2021). Sifat ini membuat penghantaran spanlastik mampu memberikan total molekul obat yang berpenetrasi dan fluks yang dihasilkan lebih baik dari niosom biasa (Kakkar & Kaur, 2011). Adanya ciri khas tersebut pada spanlastik berasal dari penggunaan *edge activator* sebagai surfaktan tambahan pada membran vesikel (Rathod *et al.*, 2021).

Edge activator (EA) berperan sebagai penyusun membran vesikel spanlastik yang spesifik dalam menentukan sifat unik mudah terdeformasi (Kakkar dan Kaur, 2011). EA adalah surfaktan berantai tunggal dengan hidrofilitas yang tinggi ditandai dengan nilai HLB senyawa yang besar (Sharma *et al.*, 2020). Nilai hidrofilisitas EA yang tinggi menyebabkan penurunan tegangan antarmuka yang diikuti destabilisasi membran vesikel. Destabilisasi vesikel akan mengubah fluiditas membran sehingga terjadi memberikan sifat deformabilitas vesikel (Kakkar dan Kaur, 2011). Dengan memanfaatkan deformabilitas vesikel dan sifat hidrofil EA, spanlastik dapat meningkatkan penetrasi kulit sebab vesikel spanlastik cenderung tertarik pada kondisi gradien air yang lebih tinggi pada area kulit yang lebih dalam sehingga penetrasi vesikel dapat didorong oleh gradien air melewati celah interseluler sempit pada kondisi nonoklusif (Alaaeldin *et al.*, 2021). Selain itu, EA bersama dengan VB yang merupakan surfaktan juga memiliki sifat alami yaitu mampu menambah ukuran pori biomembran secara reversibel sehingga vesikel yang lebih besar dapat masuk ke dalamnya (Kakkar dan Kaur, 2011).

Dua contoh EA yang umum digunakan untuk spanlastik adalah tween 60 dan brij 35. Tween 60 (polioksietilen 20 sorbitan monostearat) merupakan senyawa golongan polioksietilen sorbitan asam lemak ester dengan total 20 gugus oksietilen dan rantai karbon stearil (C18) pada strukturnya. Tween 60 memiliki struktur yang cukup besar dengan berat molekul 1312 g/mol. Nilai HLB 14,9 menjadikan tween 60 memiliki hidrofilisitas yang baik dan sesuai untuk fungsi deformabilitas vesikel. Brij 35 (polioksietilen 23 lauril eter) merupakan surfaktan golongan polioksietilen alkil eter dengan 23 gugus oksietilen dan rantai karbon lauril (C12) dengan berat molekul 1199,5 g/mol. Brij 35 memiliki hidrofilisitas lebih tinggi dibandingkan tween 60 dilihat dari nilai

HLB brij 35 sebesar 16,9. Perbedaan ciri pada kedua jenis tersebut dapat memberikan pengaruh pada sifat fisik vesikel yang disusunnya. Pada penelitian Abbas dan Kamel (2020) disebutkan bahwa peningkatan ukuran vesikel berbanding lurus dengan peningkatan berat molekul EA. Dalam penelitian lain ditemukan fakta bahwa peningkatan ukuran vesikel juga dipengaruhi oleh peningkatan panjang rantai alkil dari surfaktan (Abdelbary dan El-Gendy, 2008). Tak hanya itu, peningkatan ukuran dari vesikel juga disebabkan oleh penurunan nilai hidrofilisitas EA sebab ia memberikan total HLB vesikel spanlastik yang lebih kecil dimana nilai HLB total vesikel yang kecil akan memperbesar ukuran vesikel (Abbas dan Kamel, 2020). Pengaruh jenis EA terhadap ukuran vesikel secara tidak langsung mempengaruhi kemampuan penetrasi dari vesikel spanlastik.

Secara garis besar, penetrasi molekul obat yang dihantarkan secara topikal oleh spanlastik dapat dipengaruhi oleh dua faktor yaitu ukuran vesikel dan deformabilitas vesikel. Menurut Opatha, Titawiwatanakun dan Chutoprapat (2020), vesikel berukuran kurang dari sama dengan 300 nm mampu menembus kulit ke area yang lebih dalam dan berukuran kurang dari sama dengan 70 nm dapat memberikan kadar maksimum obat yang baik pada epidermis viabel dan dermis. Sehingga, semakin kecil vesikel akan memberikan kemampuan penetrasi yang lebih baik. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, pemilihan jenis EA berpengaruh pada ukuran vesikel. Selain itu, jumlah total surfaktan yang digunakan untuk membuat vesikel juga mempengaruhi ukuran vesikel dimana semakin besar jumlah surfaktan maka semakin besar ukuran vesikel yang dihasilkan (Rathod *et al.*, 2021). Proporsi EA yang semakin besar akan memperkecil ukuran vesikel (Elazreg *et al.*, 2015). Selain faktor komposisi vesikel, nilai zeta potensial juga memiliki pengaruh dimana semakin rendah nilai zeta potensial maka potensi terjadinya koalesens vesikel semakin besar dan menyebabkan ukuran vesikel terukur lebih besar (Shamma *et al.*, 2019). Kemampuan deformasi yang optimal dengan risiko kebocoran obat (*drug leakage*) rendah diperlukan untuk penghantaran obat secara maksimal dan mencapai kadar efektif minimal obat tersebut. Deformabilitas vesikel salah satunya ditentukan oleh rasio VB:EA dimana semakin besar proporsi VB maka semakin sulit vesikel untuk terdeformasi namun semakin besar proporsi EA maka risiko rusaknya vesikel akibat fluidisasi membran berlebih juga meningkat (Rathod *et al.*, 2021). Selain itu, peningkatan deformabilitas berbanding lurus dengan penurunan rantai alkil EA (Duangjit *et al.*, 2014). Jumlah obat lipofilik yang dijebak di antara membran vesikel dalam jumlah besar dapat menyebabkan disrupsi membran berlebih yang berakhir dengan

kebocoran obat dan penurunan permeabilitas (Opatha, Titawiwatanakun dan Chutoprapat, 2020).

Dalam penelitian ini akan dibuat formula spanlastik kuersetin dengan VB span 60 (sorbitan monostearat) serta penambahan EA tween 60 (polioksietilen 20 sorbitan monostearat) dan brij 35 (polioksietilen 23 lauril eter) menggunakan metode hidrasi film tipis. Baik tween 60 dan brij 35 memiliki HLB tinggi dengan rantai tunggal sehingga sesuai dengan kriteria EA. Spanlastik dimasukkan dalam sistem sediaan gel sebab ia merupakan salah satu jenis sediaan semisolid yang umum digunakan serta memiliki keunggulan dalam hal meningkatkan penetrasi topikal dengan sifat tidak lengket, mudah dibersihkan, serta memberi efek sejuk saat diaplikasikan (Purwanti *et al.*, 2013). Hidroksipropil Metilselulosa adalah salah satu jenis basis gel yang menjadi pilihan penggunaan sebab membutuhkan proses pembuatan yang sederhana dan hasil gel yang jernih (Purwanti *et al.*, 2013).

Sejalan dengan target aktivitas antioksidan kuersetin pada dermis, maka dilakukan uji penetrasi *in vivo* pada kulit punggung mencit (*Mus musculus*) strain balb/c. Pengamatan dilakukan terhadap kedalaman dan intensitas pendaran fluoresensi *marker* rhodamine B pada lapisan kulit dalam waktu 2 dan 4 jam.

1.2 Rumusan masalah

1. Apakah penggunaan spanlastik akan meningkatkan penetrasi kuersetin ke dalam kulit?
2. Apakah ada perbedaan antara tween 60 dan brij 35 sebagai *edge activator* dalam memengaruhi penetrasi spanlastik kuersetin ke dalam kulit?
3. Apakah penggunaan basis gel pada sediaan memengaruhi penetrasi spanlastik kuersetin ke dalam kulit?

1.3 Tujuan penelitian

1. Mengevaluasi pengaruh penggunaan spanlastik terhadap penetrasi kuersetin ke dalam kulit.
2. Mengevaluasi perbedaan pengaruh tween 60 dan brij 35 sebagai *edge activator* terhadap penetrasi spanlastik kuersetin ke dalam kulit.
3. Mengevaluasi pengaruh penggunaan basis gel pada sediaan terhadap penetrasi spanlastik kuersetin ke dalam kulit.

1.4 Manfaat penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan data ilmiah bagi pengembangan sistem penghantaran spanlastik untuk meningkatkan kemampuan penetrasi khususnya untuk bahan aktif kuersetin sebagai produk *antiaging* penggunaan topikal.