

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemberian obat secara oral masih merupakan pilihan utama dalam pengobatan, karena tingkat kenyamanannya, tingkat kepatuhan pasien yang baik dan biaya produksi obat yang rendah (Lipinski, 2009). Setelah pemberian oral, obat akan diabsorpsi dari saluran cerna masuk kedalam sirkulasi darah, kemudian didistribusikan ke jaringan tubuh (Liu *et al.*, 2012). Absorpsi obat di saluran cerna melibatkan proses disolusi yaitu lepasnya obat dari bentuk sediaannya masuk kedalam cairan lambung, yang kemudian diikuti oleh proses transportasi obat melewati sel epitel saluran cerna, masuk kedalam sirkulasi darah. Disolusi merupakan proses penentu dalam penghantaran obat secara oral (Wang & Thanou, 2010).

Tingkat kelarutan dan laju disolusi yang terbatas pada sebagian besar senyawa obat merupakan tantangan utama dalam proses farmasi. Setelah pemberian oral, obat-obat yang sukar larut umumnya menunjukkan berbagai masalah biofarmasetik, yaitu bioavailabilitas yang rendah, waktu *on set* lama, dosis tidak proporsional, dan untuk obat-obat yang bersifat mengiritasi dapat menyebabkan iritasi lokal pada saluran cerna (Gao *et al.*, 2013). Jika tidak ada upaya untuk meningkatkan kelarutan obat, maka obat-obat tidak akan mampu diserap dari saluran cerna menuju sistemik dan menuju ke tempat target aksinya (Junghanns & Mueller, 2008). Ada beberapa teknik untuk mengatasi masalah



kelarutan obat, diantaranya teknik solubilisasi, pelarut campur, teknik kompleks inklusi. Teknik-teknik diatas memiliki keterbatasan, yaitu hanya bisa digunakan untuk senyawa tertentu yang memiliki karakteristik khusus, seperti harus mudah larut dalam minyak atau pelarut hidrofobik, harus mempunyai bentuk dan ukuran molekul yang cocok untuk bisa masuk kedalam rongga siklodekstrin pada pembentukan kompleks inklusi (Keck & Müller, 2006). Untuk senyawa obat yang sukar larut dalam air dan pelarut organik lainnya, maka teknik diatas tidak efektif (Gao *et al.*, 2013). Salah satu teknologi formulasi terbaru yang memberikan strategi untuk peningkatan kelarutan senyawa obat adalah nanokristal. Senyawa obat dengan kelarutan yang rendah dalam air, yang mempunyai berat molekul yang besar dan yang mempunyai titik leleh yang tinggi dapat dipecah menjadi partikel berukuran nano (Lee *et al.*, 2008).

Nanokristal dapat meningkatkan efektifitas klinis suatu obat melalui berbagai cara seperti peningkatan bioavailabilitas obat, menurunkan kebutuhan dosis serta dapat memfasilitasi sistem penghantaran obat diperpanjang (Chogale *et al.*, 2016). Menurut teori Noyes-Whitney, semakin kecil ukuran partikel, semakin besar luas permukaannya, sehingga akan meningkatkan laju disolusi zat aktif karena terjadinya peningkatan kelarutan jenuh obat (Müller *et al.*, 2011a). Pada penelitian yang dilakukan oleh Lucida *et al.*, 2016 dapat diketahui bahwa formulasi nanokristal kuersetin dapat meningkatkan kelarutan dan laju disolusi kuersetin dibandingkan kuersetin murni secara signifikan. Kelarutan kuersetin meningkat 4 kali lipat dan 5 kali lipat berturut turut untuk formula dengan waktu penggilingan 15 menit dan 30 menit, dibandingkan dengan kuersetin murni (Lucida, *et al.*, 2016).



Poloksamer merupakan blok kopolimer amfifilik yang terdiri dari kombinasi gugus hidrofilik etilen oksida dan gugus hidrofobik propilen oksida. Dalam bidang farmasi, poloksamer telah banyak digunakan sebagai *emulsifying agent*, *solubilizing agent*, *wetting agent*, basis suppositoria dan gel, *tablet binders* dan *coating* (Rowe *et al.*, 2009; Pawar *et al.*, 2014). Poloksamer sebagai senyawa penstabil telah banyak digunakan dalam formulasi sediaan farmasi (Saindane *et al.*, 2013; Tang *et al.*, 2013). Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Ganta *et al.*, 2009 poloksamer 188 mampu memberikan stabilitas yang lebih baik terhadap nanokristal ascularine akibat terjadinya ikatan antara bagian hidrofobik poloksamer dengan permukaan partikel ascularine (Ganta *et al.*, 2009). Mishra *et al.*, 2009 melakukan penelitian formulasi nanokristal hesperitin untuk sediaan dermal dengan variasi stabilisator (poloksamer 188, polysorbat 80, inutec SP1 dan *decyl glucoside*), dan dari hasil penelitian dibuktikan bahwa poloksamer 188 merupakan stabilisator paling efisien dalam menghasilkan nanokristal dalam ukuran yang paling optimal (Mishra *et al.*, 2009). Lee *et al.*, 2008 dalam penelitiannya membuktikan bahwa pluronic F68, yang dikenal dengan poloksamer 188 merupakan stabilisator paling efisien dalam menghasilkan sediaan nanopartikel dibandingkan PVP (Poli Vinil Prolidon), PEG (Poli Etilen Glikol), HPC (*Hydroksi Propil Cellulosa*) dan SDS (*Sodium Duodecyl Sulfat*) (J. Lee *et al.*, 2008).

Asam usnat merupakan senyawa metabolit sekunder dari alam yang dihasilkan oleh tanaman lichen dari spesies *Usnea sp.* Asam usnat merupakan senyawa optis aktif, golongan senyawa fenol, yang termasuk kedalam derivat dibenzofuran. Asam usnat dihasilkan dari beberapa genus tanaman, yaitu *Usnea*,

Cladonia, *Ramalina* dan *Alectoria*. Senyawa ini memiliki kelemahan, yaitu kelarutannya yang rendah dalam air (Lukáč *et al.*, 2012). Berbagai upaya modifikasi teknik formulasi telah banyak dilakukan untuk meningkatkan kelarutan asam usnat. Lira *et al.*, 2009 membuat kompleks inklusi asam usnat dengan β -siklodekstrin, kemudian memformulasinya kedalam sistem liposom untuk menghasilkan suatu sistem penghantaran obat tertarget. Hasil penelitian menunjukkan terjadi peningkatan kelarutan asam usnat dalam air (Lira *et al.*, 2009). Penelitian lain yang bertujuan untuk meningkatkan kelarutan asam usnat dilakukan oleh Fitriani *et al.*, 2018, yaitu dengan menggunakan sistem dispersi padat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sistem dispersi padat dapat meningkatkan kelarutan asam usnat secara signifikan dibandingkan asam usnat murni dan campuran fisik, dimana metode *freeze drying* lebih maksimal meningkatkan kelarutan dibandingkan metode *spray drying* (Fitriani *et al.*, 2018). Sampai saat ini belum ada dilaporkan penelitian yang memformulasi asam usnat dalam bentuk nanokristal.

Asam usnat memiliki aktivitas farmakologis yang sangat menarik yaitu sebagai antibiotik, antivirus, anti proliferasi dan anti inflamasi. Aktivitas dan mekanisme kerja asam usnat sebagai anti inflamasi masih jarang diteliti (Ingolfsdottir, 2002). Huang *et.al* pada tahun 2014 melakukan penelitian tentang efek dan mekanisme antiinflamasi asam usnat terhadap sel line lipopolisakarida (LPS) RAW 264,7 yang terstimulasi. Aktivitas antiinflamasi asam usnat diketahui dari efeknya terhadap kadar sitokin pro inflamasi (TNF- α , IL-6 dan IL-1 β), mediator pro inflamasi (NO, iNOS, COX-2), sitokin anti inflamasi (IL-10), mediator anti inflamasi (HO-1). Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diketahui



bahwa aktifitas anti inflamasi asam usnat terjadi akibat mekanisme *down regulating* sitokin pro inflamasi dan mediator pro inflamasi melalui proses penekanan aktivasi NF- κ B, serta terjadinya mekanisme *up regulating* faktor faktor anti inflamasi IL-10 dan HO-1 (Huang *et al.*, 2014). Penelitian Vijayakumar *et.al* pada tahun 2000 menyatakan bahwa asam usnat pada dosis 100 mg/kg memberikan aktifitas antiinflamasi terhadap tikus udem (efek akut) dan terhadap *cotton pellet assay* (efek kronis), dan dibandingkan dengan ibuprofen pada dosis yang sama (Vijayakumar, *et al.*, 2000).

Osteoarthritis merupakan penyakit sendi degeneratif yang ditandai oleh kerusakan tulang rawan (kartilago), terjadinya sklerosis tulang subchondral, gangguan pada kapsul sendi dan inflamasi pada membran sinovial (sinovitis). Sinovitis merupakan faktor utama yang menyebabkan terjadinya kerusakan kartilago, dan yang mencetuskan gejala pada penyakit osteoarthritis, seperti nyeri sendi, pembengkakan sendi dan kekakuan sendi (Goldring *et al.*, 2011; Kapoor *et al.*, 2011; Sellam & Berenbaum, 2010). Pada keadaan sinovitis, sel sel mononuklear akan mengalami infiltrasi kedalam membran sinovial, dan memproduksi sitokin pro inflamasi, seperti interleukin 1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α), dan kemokin (Sellam & Berenbaum, 2010). Sitokin ini akan merangsang sel kondrosit dan sel sel sinovial (makrofag dan fibroblast) untuk memproduksi matriks metaloproteinase (MMP), yang merupakan enzim penghancur komponen komponen yang ada dalam matriks ekstraseluler sehingga menyebabkan degradasi kartilago. MMP-13 atau kolagenase 3 merupakan target terapeutik utama dalam pengobatan osteoarthritis, karena secara spesifik enzim ini akan menyebabkan penguraian kolagen tipe 2 dan aggrecan (Henrotin *et al.*, 2002;



Burrage, *et al.*, 2006). Kolagen tipe 2 tersusun dari benang benang fibril, dan berfungsi memberi sifat lentur pada kartilago (Smith, 1999). Billinghamurst *et al.* pada tahun 1997 dalam hasil penelitiannya membuktikan bahwa enzim kolagenase yang dihasilkan oleh kondrosit terlibat dalam pemecahan dan proses denaturasi kolagen tipe 2 pada artikular kartilago, dan MMP-13 memainkan peranan penting dalam proses pemecahan ini (Billinghamurst *et al.*, 1997; Hollander *et al.*, 1995; Hollander *et al.*, 1994).

Monosodium iodo acetate (MIA) merupakan senyawa kimia yang dapat menginduksi terjadinya osteoarthritis. Senyawa ini dapat menginduksi osteoarthritis melalui mekanisme penurunan kandungan proteoglikan, serta penurunan metabolisme sel kondrosit melalui penghambatan sistem glikolitik yang akan mengakibatkan kematian sel kondrosit. Pada dosis 0,5 mg dan 1 mg pada tikus, induksi MIA menyebabkan destruksi tulang pada minggu ke-4 setelah induksi (Guingamp *et al.*, 1997).

Sampai saat ini belum pernah dilaporkan bagaimana aktifitas anti inflamasi asam usnat dan nanokristal asam usnat terhadap ekspresi MMP-13 dan ekspresi kolagen tipe 2 pada kelinci osteoarthritis yang diinduksi dengan MIA. Penelitian pendahuluan yang penulis lakukan terhadap aktifitas anti inflamasi asam usnat pada tikus putih jantan yang diinduksi karagen menunjukkan terjadinya penurunan volume radang yang berbeda secara signifikan antara tikus yang diberi asam usnat murni dengan tikus yang diberi sediaan nanokristal asam usnat.



1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah formulasi asam usnat dalam bentuk nanokristal dapat memperbaiki karakteristik fisiko kimia dan meningkatkan laju disolusi asam usnat?
2. Apakah terjadi penurunan ekspresi MMP-13 pada kelinci osteoarthritis setelah diterapi dengan nanokristal asam usnat?
3. Apakah terjadi peningkatan ekspresi kolagen tipe 2 pada kelinci osteoarthritis setelah diterapi dengan nanokristal asam usnat?
4. Bagaimana metode analisis yang valid terhadap asam usnat dalam plasma secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan pengaruh pemberian nanokristal asam usnat terhadap ekspresi MMP-13 dan kolagen tipe 2 pada kelinci osteoarthritis yang diinduksi dengan MIA.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk membuktikan formulasi asam usnat dalam bentuk nanokristal yang dapat memperbaiki karakteristik fisiko kimia dan meningkatkan laju disolusi asam usnat dibandingkan terhadap senyawa asam usnat murni.
2. Untuk membuktikan terjadi penurunan ekspresi MMP-13 pada kelinci osteoarthritis setelah diterapi dengan nanokristal asam usnat.
3. Untuk membuktikan terjadi peningkatan ekspresi kolagen tipe 2 pada kelinci osteoarthritis setelah diterapi dengan nanokristal asam usnat.



4. Mendapatkan metode analisis asam usnat dalam plasma secara KCKT.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai dasar dalam pengembangan sediaan asam usnat yang mempunyai kelarutan yang tinggi sehingga bisa menghasilkan efek farmakologis yang optimal.
2. Hasil penelitian ini dapat digunakan oleh klinisi dan industri farmasi untuk menghasilkan sediaan farmasi dengan bioavailabilitas yang tinggi.
3. Masyarakat akan mendapatkan bentuk sediaan asam usnat dengan efisiensi serta efektifitas yang tinggi sehingga tujuan pengobatan dapat tercapai.

