

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Berdasarkan *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) obat diklasifikasikan menjadi empat kategori utama berdasarkan sifat kelarutan dan permeabilitas (Savjani *et al.*, 2012). Obat BCS Kelas II dan Kelas IV merupakan obat yang memiliki kelarutan yang rendah di dalam air. Kelarutan bahan obat yang rendah menyebabkan rendahnya laju disolusi obat dalam cairan gastrointestinal sehingga menyebabkan rendahnya bioavailabilitas (Williams *et al.*, 2013a). Kelarutan bahan obat di dalam air merupakan parameter fisikokimia penting yang menentukan aspek formulasi dan pengantaran obat dalam suatu bentuk sediaan (Lipinski, 2000). Lebih dari 40% (Savjani *et al.*, 2012) bahkan sampai 70% (Pouton, 2006) bahan aktif farmasi yang dikembangkan di industri farmasi memiliki kelarutan yang rendah di dalam air (Savjani *et al.*, 2012; Takagi *et al.*, 2006).

Strategi peningkatan kelarutan bahan obat telah banyak dilakukan, seperti penyesuaian pH dan pembentukan garam, polimorf, *cosolvent*, penggunaan surfaktan, pembentukan kompleks inklusi dengan siklodekstrin, pengurangan ukuran partikel, dispersi padat, formulasi berbasis lipid, dan rekayasa kristal (Savjani *et al.*, 2012; Williams *et al.*, 2013). Multikomponen kristal merupakan rekayasa kristal yang saat ini berkembang dengan pesat dan mampu mengubah sifat fisikokimia kristal tanpa mengubah sifat kimia dari molekul bahan obat (Grothe *et al.*, 2016), serta dapat meningkatkan laju disolusi (Vishweshwar *et al.*, 2006).

Multikomponen kristal terbentuk antara molekul bahan obat dan senyawa pembentuk kokristal yang disebut koformer. Kristal multikomponen tersusun secara stoikiometri dalam keadaan padat untuk menciptakan bentuk kristal baru melalui ikatan non-kovalen, terutama melalui ikatan hidrogen yang terbentuk antara bahan aktif dan koformer sehingga menghasilkan sifat yang lebih unggul dari masing-masing bentuk aktifnya (Vishweshwar *et al.*, 2006)

Multikomponen kristal umumnya dibuat dengan metode berbasis pelarut dan padat. Metode berbasis pelarut diantaranya metode *slurry* (bubur), *solvent evaporation* (penguapan pelarut), kristalisasi pendinginan dan pengendapan. Metode berbasis padat melibatkan penggilingan, *solvent assist grinding* (penggilingan dengan bantuan pelarut) atau *solvent drop grinding* (Chaudhari *et al.*, 2018). Metode *solvent drop grinding* merupakan metode penggilingan dengan penambahan sedikit pelarut yang berfungsi sebagai katalis dalam pembentukan multikomponen kristal. Metode ini merupakan metode yang sederhana, ekonomis dan mampu menghasilkan pembentukan multikomponen kristal yang tinggi (Sekhon 2009; Guo *et al.*, 2021).

Koformer yang digunakan dalam pembentukan multikomponen kristal harus dipilih dari daftar yang diakui dan disetujui oleh *Generally Regarded as Safe* (GRAS), sehingga aman untuk digunakan (Steed, 2013). Koformer dapat berupa eksipien atau bahan aktif farmasi (Sekhon, 2009). Pemilihan koformer dapat dilakukan melalui beberapa pendekatan berdasarkan gugus fungsi yang terdapat dalam koformer, seperti kecenderungan pembentukan ikatan hidrogen, pembentukan sinton supramolekular atau nilai pKa antara koformer dengan bahan

aktif farmasi (Atipamula *et al.*, 2012; Duggirala *et al.*, 2016). Pada penelitian ini koformer yang dipilih adalah asam nikotinat.

Asam nikotinat, dikenal sebagai niasin atau vitamin B3, merupakan vitamin yang larut dalam air dan banyak digunakan sebagai bahan tambahan dalam makanan, dan kosmetik (Carlson, 2005). Asam nikotinat sering digunakan sebagai bahan padatan farmasi yang dapat mempengaruhi sifat fisikokimia bahan obat, seperti kristalinitas, ukuran partikel, morfologi partikel dan laju disolusi obat, yang pada akhirnya mempengaruhi efek terapeutik bahan obat (Brittain, 1999; Gonçalves *et al.*, 2010). Beberapa penelitian multikomponen kristal dengan asam nikotinat seperti pembentukan kokristal ciprofloksasin menunjukkan peningkatan kelarutan multikomponen kristal 1,5 kalinya (de Almeida *et al.*, 2020), pembentukan kokristal modafinil asam nikotinat 1:1 dengan metode *liquid assist grinding* menunjukkan terjadinya peningkatan kelarutan 5,96 kali, profil disolusi dengan peningkatan 1,88 kali dibandingkan modafinil murni (Ghosh *et al.*, 2021). Pembentukan norfloxacin dengan asam nikotinat 1:1 dengan *neat grinding* dan *liquid assist grinding* mempengaruhi karakteristik sifat fisikokimia serta menunjukkan peningkatan kelarutan sampai 2,2 kali dari norfloxacin murni (Ferreira *et al.*, 2020)

Piperin dikelompokkan ke dalam BCS Kelas II (Zaini *et al.*, 2020), dimana piperin memiliki kelarutan yang rendah di dalam air (Vasavirama and Upender, 2014), sehingga menyebabkan rendahnya bioavailabilitas piperin (Pachauri *et al.*, 2015). Salah satu teknik formulasi untuk meningkatkan kelarutan piperin adalah teknik rekayasa kristal dengan pembentukan multikomponen kristal. Penelitian Sari *et al.*, 2019 pembentukan multikomponen kristal piperin dengan asam nikotinat 1:1

dengan metode penguapan pelarut menunjukkan pada analisa difraksi sinar-X terbentuknya puncak difraksi baru. Analisa termal menunjukkan terbentuk puncak endotermik baru yang ditandai dengan penurunan titik lebur dan entalpi. Analisa FT-IR terdapatnya gugus fungsi yang menunjukkan ikatan hidrogen. Analisa SEM terbentuk habit kristal baru. Pada uji kelarutan menunjukkan peningkatan 1,5 kali lipat dibandingkan piperin murni dan pada profil disolusi multikomponen kristal menunjukkan peningkatan jumlah zat terdisolusi 2,5 kali lipat dibandingkan piperin murni (Sari *et al.*, 2019).

Penelitian Zaini *et al.*, 2020 pembentukan multikomponen kristal piperin dengan sakarin 1: 1 menunjukkan difraktogram multikomponen kristal memiliki puncak baru dan spesifik, pada termogram menyajikan titik leleh utuh pada masing-masing formula, pada spektrum infra merah menunjukkan tidak ada pergeseran gugus fungsi pada multikomponen kristal yang menandakan tidak ada interaksi kimia antara piperin dan sakarin. Pada studi disolusi multikomponen kristal menunjukkan peningkatan jumlah zat terdisolusi 1,8 kali dibanding jumlah piperin murni (Zaini *et al.*, 2020).

Penelitian Zaini *et al.*, 2020, pembentukan multikomponen kristal piperin dengan asam suksinat 2: 1 dengan metode *slurry* menunjukkan karakterisasi pada keadaan padat dari kristal multikomponen baru yang dianalisa difraksi sinar-X mengungkapkan bahwa kristal multikomponen baru ini adalah fase kokristalin, pada DSC menunjukkan puncak endotermik tunggal dan tajam, dan spektroskopi FT-IR memperlihatkan terbentuknya ikatan hidrogen. Pada uji kelarutan multikomponen kristal menunjukkan peningkatan kelarutan 3,99 kali lipat

dibanding piperin murni dan pada profil disolusi terjadi peningkatan 1,5 kali dibandingkan dari piperin murni (Zaini *et al.*, 2020).

Piperin merupakan senyawa alkaloid dan komponen bioaktif utama dari lada hitam yang memberikan rasa pedas (Gorgani *et al.*, 2017; Parthasarathy *et al.*, 2008). Jumlah piperin bervariasi pada tanaman *Piperaceae*, berkisar antara 2% sampai 7,4% (Parthasarathy *et al.*, 2008), namun pada lada hitam kandungan piperin mencapai 9% (Raman and Gaikar, 2002). Kandungan ini dapat dipengaruhi oleh banyak faktor lingkungan seperti iklim, kondisi tumbuh, dan tempat asalnya (Peter., 2006). Piperin memiliki berbagai aktivitas farmakologi seperti antioksidan (Vijayakumar *et al.*, 2004), hepatoprotektif (Sabina *et al.*, 2010), anti kanker dan antitumor (Sunila and Kuttan 2004), antiinflamasi (Tasleem *et al* 2014), *bio-enhancer* (Patil *et al.*, 2011) dan aktivitas antiulkus (Bai and Xu, 2000), dan penelitian terbaru diketahui piperin berperan penting dalam penurunan kadar kolesterol darah, trigliserida, dan glukosa (Kim *et al.*, 2011).

Hiperlipidemia adalah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan meningkatnya kadar lipid di dalam aliran darah. Lipid tersebut antara lain kolesterol, kolesterol ester, fosfolipid, dan trigliserida atau lipoprotein plasma termasuk *low density lipoproteins* (LDL), dan *high density lipoproteins* (HDL) (Eaton, 2005; Karam *et al.*, 2017; Shattat, 2014) yang merupakan komponen yang mengatur keseimbangan jumlah kolesterol di dalam tubuh (Karr, 2017). Peningkatan kolesterol plasma dan LDLc plasma menyebabkan aterosklerosis dan beresiko terhadap penyakit jantung koroner (Karr, 2017), sehingga menyebabkan sebagian besar morbiditas dan mortalitas pada orang dewasa (Goodman and Gilman., 2008).

Penurunan kadar LDLc plasma merupakan salah satu target terapi hiperlipidemia (Latimer *et al.*, 2016). Obat yang sering digunakan dalam terapi ini adalah golongan statin, sebagai *inhibitor HMG-CoA reductase* (Sathiyakumar *et al.*, 2018; Watts *et al.*, 2014). Namun, pada beberapa pasien pemakaian statin dianggap tidak memadai (Fox *et al.*, 2018; Kuiper *et al.*, 2017), karena banyak pasien yang tidak toleran dan memiliki efek samping terhadap hati dan otot (Banach *et al.*, 2015).

Target terapi baru dalam penurunan LDLc yang berkembang saat ini adalah penghambatan *proprotein convertase subtilisin kexin 9* (PCSK9) (Barter and Rye, 2016). Penghambatan terhadap PCSK9 terbukti mengurangi lipoprotein serum dan kejadian kardiovaskuler akut, seperti infark miokard dan stroke (Sabatine *et al.*, 2015). *Proprotein convertase subtilisin kexin 9* (PCSK9) bekerja mendegradasi reseptor LDL di lisosom, sehingga menurunkan jumlah reseptor LDL pada permukaan sel hati dan meningkat konsentrasi plasma LDLc dan apo B. Penghambatan terhadap PCSK9 menghasilkan penurunan konsentrasi plasma LDLc dan apoB (Barter and Rye, 2016).

*Low density lipoprotein reseptor* (LDLr) berperan penting mengontrol homeostatis kolesterol darah dengan memediasi penghilangan partikel lipoprotein yang mengandung kolesterol dalam sirkulasi (Brown and Goldstein, 1986). Reseptor LDL dihasilkan dihati akan mengikat LDLc di dalam plasma. Kompleks ini akan masuk ke dalam endosom dan mengalami endositosis, kemudian LDLc di degradasi di lisosom, sementara reseptor LDL akan didaur ulang dan kembali ke plasma untuk dapat mengikat LDL (Latimer *et al.*, 2016). Pada keadaan hiperlipidemia PCSK9 akan mengikat reseptor LDL yang telah berikatan dengan

LDL. Kompleks ini akan diinternalisasikan ke lisosom dan dihancurkan, karena tidak ada daur ulang dari reseptor LDL maka terjadi peningkatan kadar LDL kolesterol plasma (Latimer *et al.*, 2016). Aktivasi PCSK9 dan reseptor LDL diatur oleh *sterol regulatory element binding protein-2* (SREBP-2). Ketika sel relatif kekurangan kolesterol, maka akan menghasilkan pelepasan SREBP-2 dari retikulum endoplasma. SREBP-2 ini secara khusus mengatur gen yang terlibat dalam metabolisme kolesterol (Bayly, 2014).

Penelitian Ochiai *et al.*, 2015 menunjukkan piperin merangsang proteolitik *sterol regulatory element binding protein* (SREBP) dan ekspresi gen LDLr dan penyerapan LDL secara *in vitro* (Ochiai *et al.*, 2015). Manesai *et al.*, 2012 menunjukkan bahwa pemberian piperin 40 mg/kgbb dan 80 mg/kgBB mampu menurunkan kadar total trigliserida, total kolesterol dan meningkatkan HDL pada tikus yang diinduksi dengan kolesterol selama 8 minggu (Maneesai *et al.*, 2012). Hou *et al.*, 2021 menunjukkan bahwa pemberian piperin (25 mg/kg/hari) selama 8 minggu secara signifikan menurunkan trigliserida plasma (TG), kolesterol total (TC), dan kolesterol lipoprotein densitas rendah (LDLc) (Hou *et al.*, 2021). Brahmanaidu *et al.*, 2014 menunjukkan bahwa pemberian piperin mampu menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida total, LDL kolesterol dan meningkatkan HDL serta menurunkan obesitas pada tikus hiperlipidemia dengan dosis 20 mg/kgBB, 30 mg/kgBB dan 40 mg/kgBB (Brahmanaidu *et al.*, 2014).

Berdasarkan laporan tersebut, meskipun piperin mampu menurunkan kadar LDL kolesterol plasma, namun mekanisme yang mendasari efek ini belum diketahui. Sampai saat ini belum dilaporkan aktivitas antihiperlipidemia multikomponen kristal piperin dengan asam nikotinat terhadap *proprotein*

*convertase subtilin kexin 9 (PCSK9)* dan *low density lipoprotein reseptor* pada tikus hiperlipidemia. Untuk itu dilakukan penelitian pengaruh multikomponen kristal piperin asam nikotinat terhadap profil disolusi, profil lipid dan ekspresi gen *proprotein convertase subtilin kexin-9 (PCSK9)* dan *low density lipoprotein reseptor (LDLr)*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian ini sebagai berikut:

- 1) Apakah pembentukan multikomponen kristal piperin asam nikotinat dapat mempengaruhi karakterisasi fisikokimia, meningkatkan kelarutan dan profil disolusi secara *in vitro*? Apakah tipe multikomponen kristal yang terbentuk?
- 2) Apakah terdapat pengaruh pembentukan multikomponen kristal piperin asam nikotinat terhadap kadar profil lipid plasma?
- 3) Apakah terdapat pengaruh pembentukan multikomponen kristal piperin asam nikotinat terhadap ekspresi gen *protein convertase subtilin kexin 9 (PCSK9)*?
- 4) Apakah terdapat pengaruh pembentukan multikomponen kristal piperin asam nikotinat terhadap ekspresi gen *low density lipoprotein reseptor (LDLr)*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan pengaruh pemberian multikomponen kristal piperin asam nikotinat terhadap karakterisasi fisikokimia, kelarutan, profil disolusi secara *in*



*vitro*, dan tipe multikomponen kristal yang terbentuk serta kadar profil lipid plasma, ekspresi gen PCSK9 dan ekspresi gen LDLr.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan pengaruh pembentukan multikomponen kristal piperin asam nikotinat terhadap karakterisasi fisikokimia, peningkatan kelarutan dan profil disolusi secara *in vitro* dan multikomponen kristal apakah yang terbentuk.
2. Membuktikan pengaruh pembentukan multikomponen kristal piperin asam nikotinat terhadap kadar profil lipid plasma.
3. Membuktikan pengaruh pembentukan multikomponen kristal piperin asam nikotinat terhadap ekspresi gen *protein convertase subtilin kexin 9* (PCSK9).
4. Membuktikan pengaruh pembentukan multikomponen kristal piperin asam nikotinat terhadap ekspresi gen *low density lipoprotein reseptor* (LDLr).

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Pengembangan Ilmu Pengetahuan

1. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai dasar dalam pengembangan sediaan yang mengandung piperin yang memiliki kelarutan yang tinggi sehingga meningkatkan bioavailabilitas obat dan dapat menghasilkan efek farmakologi yang optimal.
2. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan obat oleh klinisi dan industri farmasi untuk menghasilkan sediaan farmasi dengan bioavailabilitas yang tinggi.

### 1.4.2 Terapan

Piperin dapat digunakan sebagai bahan dasar pengembangan obat hiperlipidemia.