

Profil Pelepasan Antikanker kombinasi Doksorubisin dan Analog Kurkumin dari Nanopartikel Kitosan

Anita Sukmawati*, Muhammad Da'i, Fardha Zulinar, Armetha Hanik
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Indonesia
Email: anita.sukmawati@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:
Kitosan,
nanopartikel,
antikanker,
doksorubisin, PGV-1

Sistem penghantaran obat menggunakan enkapsulasi obat dalam matrik polimer dapat digunakan untuk menghantarkan obat antikanker kombinasi doksorubisin dan PGV-1, suatu analog kurkumin yang memiliki aktivitas antikanker. Kitosan digunakan dalam penelitian ini sebagai matrik dalam pembuatan nanopartikel yang mengandung kombinasi doksorubisin dan PGV-1 (DOX-PGV-1). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil pelepasan obat dari nanopartikel dengan berbagai variasi konsentrasi kitosan. Nanopartikel kitosan dibuat dengan konsentrasi kitosan 0.025, 0.05 dan 0.1% b/v dalam formulasi menggunakan metode gelas ionic. Profil pelepasan DOX-PGV-1 dievaluasi dengan metode dialysis pada medium dapar fosfat+0.5% tween 80 dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV. . Profil pelepasan DOX-PGV-1 dari nanopartikel kitosan mengikuti model orde 0 dan Higuchi. Laju pelepasan obat yang paling lambat terdapat pada nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 0.05%.

1. PENDAHULUAN

Penghantaran obat antikanker dalam terapi kanker seringkali menjadikan masalah karena mayoritas obat-obat antikanker tidak dapat spesifik tertarget pada sel kanker. Salah satu strategi dalam penghantaran obat antikanker adalah menggunakan sistem nano dimana obat antikanker secara spesifik diselubungi oleh pembawa serupa polimer [1].

Penggabungan obat dalam sistem nanopolimer ini dapat melindungi obat dari degradasi enzimatik dalam tubuh dan dapat memperbaiki penetrasi obat melintasi barrier mukosa dengan mekanisme endositosis [2, 3]. Selain itu, mekanisme pelepasan obat yang terkontrol untuk waktu yang panjang juga dapat dicapai dengan menggunakan sistem polimer ini.

Salah satu upaya untuk menurunkan toksisitas obat antikanker adalah dengan menggunakan kombinasi obat antikanker yang poten sehingga dapat menurunkan dosis yang diperlukan untuk masing-masing obat. Pada penelitian ini digunakan kombinasi doxorubicin (DOX) dengan [2,5-bis-(4-hydroxi,3,5-dimethyl)-benzylidin-cyclopentanone)] atau pentagamavunon-1 (PGV-1), suatu senyawa analog kurkumin, yang telah terbukti dapat meningkatkan apoptosis pada sel kanker [4,5]. Untuk meningkatkan permeabilitas dan retensi obat terhadap sel kanker, kombinasi obat ini dihantarkan dengan menggunakan nanopartikel berbasis kitosan. Kitosan nanopartikel sendiri diketahui dapat menghantarkan obat ke dalam sel kanker dan

dan menunjukkan efek antikanker melalui mekanisme antiangiogenik dan apoptosis serta peningkatan aktivitas caspase [6, 7].

Efek kitosan pada sel sangat dipengaruhi oleh proses formulasi nanopartikel seperti yang dijelaskan pada penelitian Nasti, dkk dan Zhang, dkk [8, 9]. Pada penelitian ini, proses pembuatan nanopartikel dilakukan dengan metode gelas ionik dimana rasio polimer dan natrium tripolifosfat (Na TPP) sebagai bahan pengelasi dapat mempengaruhi karakteristik nanopartikel yang dihasilkan.

Penelitian yang dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi kitosan yang berbeda dalam proses formulasi nanopartikel kombinasi doksorubisin dan PGV-1 (DOX-PGV-1) dapat mempengaruhi ukuran partikel yang dihasilkan. Ukuran nanopartikel yang dihasilkan dalam formulasi nanopartikel menggunakan kitosan konsentrasi 0.025, 0.05 dan 0.1 % b/v adalah berturut-turut 1118,70 nm ± 50,25, 812 nm ± 11,94, dan 1150,25 nm ± 25,10 [10]. Selain ukuran partikel, profil pelepasan obat dari nanopartikel kitosan juga perlu untuk diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi kitosan dalam proses pembuatan nanopartikel terhadap profil pelepasan DOX-PGV-1 dari sistem nanopartikel kitosan.

2. METODE

2.1 Pembuatan DOX-PGV-1 nanopartikel

Kitosan 100 mg (94% terdeasetilasi, 150 kDa, dari CV ChiMultiguna) dilarutkan dalam 0.5% asam asetat (Bratachem) 400 ml, 200 ml dan 100 ml untuk menghasilkan larutan kitosan dengan konsentrasi berturut-turut 0.025, 0.05 dan 0.1 % b/v. Kedalam larutan tersebut ditambahkan 1 ml DOX 2 mg/ml (Sigma Aldrich) dan 1 ml PGV-1 10 mg/ml (Fakultas Farmasi UGM) dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 3 menit pada skala 7. Larutan yang terbentuk diatur

pH nya hingga 4 menggunakan natrium hidroksida (NaOH) (Bratachem). Pembentukan nanopartikel terjadi dengan penambahan Na TPP 0.1% (Bratachem) sebanyak 20 ml kedalam larutan kitosan dengan kecepatan 1 tetes tiap 10 detik dengan tetap diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Pengadukan pada larutan dilanjutkan hingga 4 jam. Larutan kemudian dibekukan dan di *freeze drying* untuk mendapatkan nanopartikel kitosan. Partikel yang dihasilkan disimpan pada suhu 4°C pada wadah kaca gelap.

2.2 Uji pelepasan obat dari nanopartikel

Evaluasi pelepasan obat dari nanopartikel kitosan dilakukan dengan metode dialysis menggunakan medium disolusi dapar fosfat yang mengandung 0.5% tween 80. Sejumlah 25 mg nanopartikel kitosan didispersikan dalam 5 ml medium disolusi dan dimasukkan kedalam *dialysis bag*. Proses dialysis dilakukan dalam beker glass yang berisi 50 ml medium disolusi pada suhu 37°C dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* pada skala 4. Sampel sebanyak 5 ml diambil pada titik tertentu dalam kurun waktu 24 jam. Dilakukan pergantian volume medium disolusi dengan medium yang baru setiap kali pengambilan sampel. Larutan sampel yang diambil pada tiap waktu dianalisis kadar bahan aktifnya pada λ 231 nm untuk DOX dan λ 210 nm untuk PGV-1 menggunakan spektrofotometer UV. Absorbansi sampel kemudian diplotting pada kurva kalibrasi DOX dan PGV-1 untuk menghitung jumlah obat yang terlepas tiap waktu. Jumlah obat yang terlepas tiap waktu kemudian digunakan untuk menentukan mekanisme pelepasan obat menggunakan persamaan orde 0 (nol) dan persamaan Higuchi seperti pada persamaan 1 dan 2.

$$C = K_0 \cdot t \dots\dots\dots \text{pers.1}$$

$$Q = K_H \cdot t^{1/2} \dots\dots\dots \text{pers.2}$$

Dimana C adalah kadar obat terlepas, K_0 =konstanta orde 0, Q =jumlah obat terlepas pada waktu t , K_H = konstanta Higuchi dan t adalah waktu dalam jam.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode gelasi ionik digunakan dalam pembuatan nanopartikel kitosan karena relatif mudah, tidak menggunakan pemanasan sehingga dapat menghindari rusaknya zat aktif. Perbedaan konsentrasi larutan kitosan yang digunakan dalam pembuatan nanopartikel menghasilkan rendemen nanopartikel yang berbeda. Rendemen nanopartikel yang dihasilkan adalah berturut-turut 97.3, 83.9 dan 64.0 % untuk konsentrasi kitosan 0.025, 0.05 dan 0.1%. Rendemen nanopartikel yang dihasilkan semakin menurun dengan meningkatnya konsentrasi kitosan yang digunakan dalam formulasi.

Profil pelepasan obat dari nanopartikel menunjukkan bahwa pelepasan DOX hampir mendekati 100 % pada menit ke 10, pada nanopartikel kitosan yang dibuat dengan konsentrasi kitosan 0.025 dan 0.1%. Sedangkan pada nanopartikel kitosan 0.05% pelepasan DOX belum mencapai 100% hingga jam ke-24 (Gambar 1). Dari profil pelepasan obat tersebut, DOX mengalami pelepasan yang segera atau "*burst release*". Hal ini kemungkinan disebabkan karena penggunaan bahan aktif DOX dalam bentuk garam HCl, yang memiliki kelarutan tinggi dalam medium disolusi.

Pelepasan PGV-1 berlangsung lebih lambat pada ketiga formula nanopartikel. Hingga jam ke-24, kurang dari 20% PGV-1 dapat terlepas dari kitosan nanopartikel. Persentase kumulatif PGV-1 yang terlepas dari kitosan nanopartikel dengan konsentrasi kitosan 0.025, 0.05 dan 0.1% adalah berturut-turut $16,46\% \pm 0,03$, $7,82\% \pm 0,02$, dan $4,71\% \pm 0,03$. Profil pelepasan obat PGV-1 dari matriks nanopartikel kitosan ini menunjukkan adanya profil "*sustained release*" yang dapat melepaskan obatnya dalam jangka waktu yang lama. Tetapi, dalam penelitian ini, profil pelepasan obat hanya dievaluasi dalam jangka waktu 24 jam. Dari profil pelepasan obat terlihat

bahwa nanopartikel kitosan yang dibuat dengan konsentrasi kitosan 0.05% menghasilkan pelepasan obat yang paling rendah.

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa peningkatan konsentrasi kitosan dalam pembuatan nanopartikel dapat menurunkan jumlah obat yang terlepas. Penelitian yang dilakukan oleh Yeo dan Park (2004) menyebutkan bahwa konsentrasi polimer yang tinggi akan mempercepat proses pemadatan partikel dan viskositas polimer yang tinggi sehingga dapat menghambat proses pelepasan obat [11]. Tetapi hal ini tidak berlaku untuk nanopartikel kitosan 0.1%.

Proses pelepasan obat yang lambat pada PGV-1 ini disebabkan karena obat terlindung dalam matriks kitosan. Pelepasan obat yang lambat diharapkan dapat menjaga kadar obat dalam sel untuk waktu yang lama dan dapat menjaga stabilitas obat dalam sirkulasi sistemik.

Untuk mengetahui kinetika pelepasan obat dari sistem nanopartikel kitosan, dilakukan plotting dengan model persamaan orde nol (persamaan 1) dan persamaan Higuchi (persamaan 2).

Tabel 1. harga R^2 , Konstanta Orde Nol (K_0) dan Konstanta Higuchi (K_H) pada pelepasan DOX dan PGV-1 dari nanopartikel dengan berbagai konsentrasi kitosan

Model	Konsentrasi Khitosan	R^2	K_0 (mg/menit)
DOX			
Orde nol (0)	0.025%	0,8491	0,0158
	0.05%	0,9085	0,0132
	0.1%	0,9986	0,0271
PGV-1			
Orde nol (0)	0.025%	0,9855	0,7004
	0.05%	0,9979	0,5586
	0.1%	0,9762	0,7020
	Konsentrasi Khitosan	R^2	K_H (mg/menit ^{1/2})
DOX			
Higuchi	0.025%	0,9814	0,0651
	0.05%	0,9729	0,0525
	0.1%	0,9614	0,0817
PGV-1			
Higuchi	0.025%	0,9546	0,0030
	0.05%	0,9573	0,0024
	0.1%	0,9285	0,0019

(Diagram Terlampir Dibawah.)

Berdasarkan plotting pelepasan obat, diketahui bahwa pelepasan DOX dari nanopartikel kitosan lebih mengikuti model Higuchi, sedangkan PGV-1 mengikuti kinetika orde 0, yang terlihat dari harga R^2 yang mendekati 1 (Tabel 1). Pada model Higuchi, diasumsikan bahwa obat terlepas dengan mekanisme difusi terkontrol, sedangkan pada orde nol, pelepasan obat tidak tergantung pada konsentrasi awal. Oleh karena itu, sistem nanopartikel kitosan ini dapat digunakan sebagai sistem lepas lambat untuk pengobatan kanker.

Harga konstanta Higuchi pada DOX menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi kitosan dari 0.025 ke 0.1% pada formulasi nanopartikel dapat meningkatkan laju pelepasan obat, sedangkan pada peningkatan konsentrasi kitosan dari 0.025 ke 0.05% justru menurunkan laju pelepasan obat. Pada PGV-1, penurunan laju pelepasan obat menurut orde 0 mengalami penurunan dari konsentrasi kitosan 0.025% ke 0.05%, tetapi antara 0.025% dan 0.01% tidak memiliki perbedaan yang bermakna ($p > 0.05$)

4. KESIMPULAN

Mekanisme pelepasan kombinasi DOX dan PGV-1 mengikuti model kinetika orde 0 dan Higuchi. Peningkatan konsentrasi kitosan pada pembuatan nanopartikel dari 0.025% ke 0.05% dapat menurunkan laju pelepasan obat

UCAPAN TERIMAKASIH

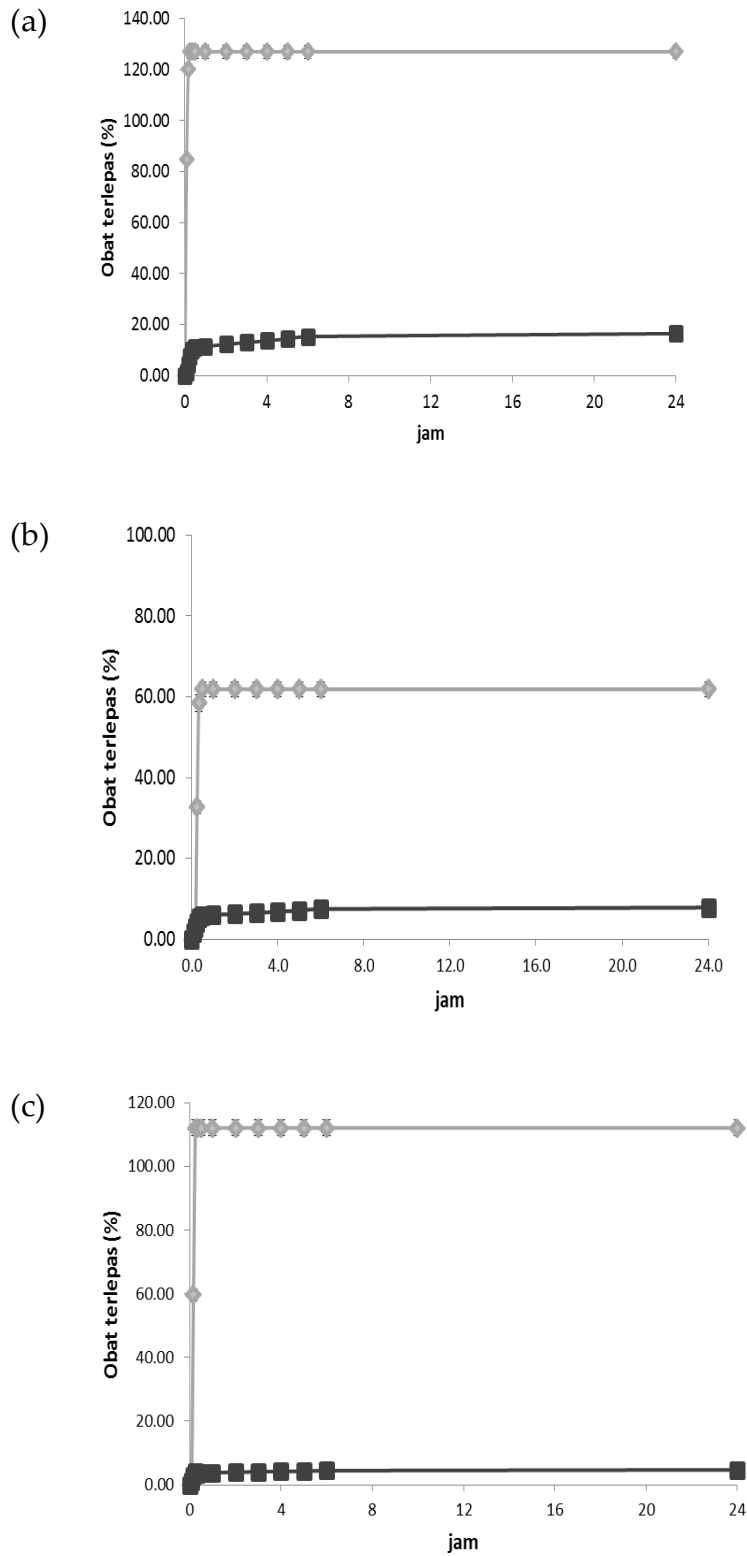
Terimakasih kepada Universitas Muhammadiyah Surakarta (UMS) c.q Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) yang telah mendanai penelitian ini melalui skema *Doctoral Research Grant*. Terimakasih juga disampaikan untuk Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta yang telah menyediakan bahan aktif analog kurkumin.

REFERENSI

- [1] S. Bisht and A. Maitra, "Nanoparticles for Solid Tumor," *Cancer*, vol. 1, no. 4, pp. 415–425, 2009.
- [2] A. Rampino, M. Borgogna, P. Blasi, B. Bellich, and A. Cesàro, "Chitosan nanoparticles: Preparation, size evolution and stability," *Int. J. Pharm.*, vol. 455, no. 1–2, pp. 219–228, 2013.
- [3] K. A. Janes, M. P. Fresneau, A. Marazuela, A. Fabra, and M. J. Alonso, "Chitosan nanoparticles as delivery systems for doxorubicin," *J. Control. Release*, vol. 73, no. 2–3, pp. 255–267, Jun. 2001.
- [4] A. Hermawan, A. Fitriari, S. Junedi, M. Ikawati, S. Haryanti, B. Widaryanti, M. Da'i, and E. Meiyanto, "PGV-0 and PGV-1 Increased Apoptosis Induction of Doxorubicinon MCF-7 Breast Cancer Cells," *Pharmacon*, vol. 12, no. 2, pp. 55–59, 2011.
- [5] E. Meiyanto, D. D. P. Putri, R. A. Susidarti, R. Murwanti, S. Sardjiman, A. Fitriari, U. Husnaa, H. Purnomo, and M. Kawaichi, "Curcumin and its Analogues (PGV-0 and PGV-1) Enhance Sensitivity of Resistant MCF-7 Cells to Doxorubicin through Inhibition of HER2 and NF- κ B Activation," *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, vol. 15, no. 1, pp. 179–184, 2014.
- [6] Y. S. Wimardhani, D. F. Suniarti, H. J. Freisleben, S. I. Wanandi, N. C. Siregar, and M. Ikeda, "Chitosan exerts anticancer activity through induction of apoptosis and cell cycle arrest in oral cancer cells," vol. 56, no. 2, pp. 119–126, 2014.
- [7] Y. Xu, Z. Wen, and Z. Xu, "Chitosan Nanoparticles Inhibit the Growth of Human Hepatocellular Carcinoma Xenografts through an Antiangiogenic Mechanism," *Anticancer Res.*, vol. 30, pp. 5103–5110, 2010.
- [8] A. Nasti, N. M. Zaki, P. De Leonardis, S. Ungphaiboon, P. Sansongsak, M. G. Rimoli, and N. Tirelli, "Chitosan/TPP and chitosan/TPP-hyaluronic acid nanoparticles: Systematic optimisation of the preparative process and preliminary biological evaluation," *Pharm. Res.*, vol. 26, no. 8, pp. 1918–1930, 2009.

- [9] H. Zhang, M. Oh, C. Allen, and E. Kumacheva, "Monodisperse Chitosan Nanoparticles for Mucosal Drug Delivery Monodisperse Chitosan Nanoparticles for Mucosal Drug Delivery," *Biomacromol*, vol. 5, pp. 2461–2468, 2004.
- [10] Sukmawati, A, Da'i, M, Yuliani, R, Anggraeni, S.N, Wahyuningsih, "Characterization of Chitosan Nanoparticle containing Combination Doxorubicin and Curcumin Analogue," in *International Seminar on Knowledge Advancement, 2017*.
- [11] K. Park and Y. Yeo, "Microencapsulation Technology," in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Third., vol. 4, J. Swarbrick, Ed. New York: Informa Healthcare, 2007, pp. 2315–2327.

LAMPIRAN



Gambar 1. Profil pelepasan DOX dan PGV-1 dari kitosan nanopartikel dengan variasi konsentrasi kitosan 0.025% (a), 0.05% (b) dan 0.1% (c) (Terlampir)