

Karakteristik dan Aplikasi Partikel Nano dalam Manipulasi Hormon Reproduksi pada Ternak

Fitra Aji Pamungkas dan E Wina

Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002
fitrap@yahoo.com

(Diterima 10 Juli 2015 – Direvisi 13 Oktober 2015 – Disetujui 23 Oktober 2015)

ABSTRAK

Penelitian hormon yang dikemas dalam partikel nano mulai berkembang dalam beberapa tahun terakhir ini. Partikel nano sebagai partikel dispersi atau padat berukuran sangat kecil yang dilapisi dengan polimer dapat digunakan sebagai komponen pembawa hormon yang potensial karena kemampuannya dalam meningkatkan stabilitas hormon dan melepaskan hormon secara terkontrol dalam waktu lama di dalam tubuh ternak. Ulasan ini menjelaskan berbagai metode, karakteristik dan aplikasi partikel nano dalam pemanfaatan hormon pada hewan. Secara umum, beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa pembentukan hormon partikel nano menggunakan polimer dengan distribusi massa molekul yang baik dan stabil dapat digunakan sebagai komponen pembawa hormon, dengan tetap mempertimbangkan adanya efek negatif.

Kata kunci: Partikel nano, hormon, karakteristik

ABSTRACT

Characteristics and Applications of Nanoparticles in Manipulation of Livestock Reproductive Hormones

The research on hormone packaged in very small size particles began to develop in recent years. Nanoparticles are defined as particulate dispersions or solid particles with a polymer used as a component of potential hormone carrier as effective drug because of their ability to circulate and to release in a controlled period in the body. This review describes a variety of methods, characteristics and applications of nanoparticles hormones usages for animals. In general, several studies indicated that the formation of the hormone nanoparticles using polymer accompanied by distributing a good and stable of molecular mass, can be used as a carrier component of hormones as well as considering the negative effect.

Key words: Nanoparticles, hormones, characteristics

PENDAHULUAN

Kontrol biologis dalam budidaya di bidang peternakan dapat dilakukan melalui manipulasi lingkungan, hormonal dan genetik. Kontrol hormonal pada proses reproduksi, ekskresi hormon gonadotropin (GTH) seperti *follicle stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH), dikendalikan oleh *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) yang merupakan hormon peptida. Hormon tersebut memiliki daya kerja yang pendek dalam darah karena cepat terdegradasi oleh endopeptida dan eksopeptida yang terdapat pada hipofisis, ginjal dan hati. Salah satu cara mempertahankannya adalah dengan penyuntikan hormon berulang, walaupun dapat menyebabkan stres pada ternak (Zohar & Mylonas 2001). Metode aplikasi hormonal dalam bentuk partikel nano dapat digunakan sebagai kontrol biologis melalui perlindungan hormon dari degradasi cepat selama transportasi sebelum mencapai organ target dan pengendalian pelepasan agen bioaktif secara berkelanjutan (Rather et al. 2013).

Partikel nano merupakan suatu partikel dispersi atau padat dengan ukuran antara 10-1000 nm (Mohanraj & Chen 2006). Penyatuhan hormon pada matriks partikel nano tergantung pada metode pembuatannya. Polimer partikel nano yang dilapisi hidrofilik polimer, potensial digunakan sebagai komponen pembawa hormon karena mampu meningkatkan kinerja hormon melalui perlindungan stabilitas, serta *life time* pelepasan secara terkontrol di dalam tubuh ternak (Bhadra et al. 2002; Vila et al. 2002; Kommareddy et al. 2005).

Tujuan utama dalam merancang partikel nano sebagai pembawa hormon adalah untuk mengontrol ukuran partikel, mempertahankan sifat permukaan dan melepaskan agen bioaktif secara spesifik dengan dosis optimal. Keuntungan menggunakan partikel nano sebagai pembawa hormon adalah: (1) Ukuran dan permukaan karakteristik partikel nano dapat dimanipulasi sesuai keinginan; (2) Kontrol jumlah pelepasan hormon dapat diatur sesuai target; (3) Perlindungan degradasi partikel dapat diberikan; dan

(4) Penggunaan hormon dapat melalui mulut, hidung, parenteral, intraokular dan sebagainya. Disamping beberapa keunggulannya, partikel nano juga memiliki keterbatasan diantaranya dengan ukuran yang kecil dan luas permukaan yang besar dapat menyebabkan penggabungan partikel-partikel sehingga membuat penanganan fisik partikel nano menjadi sulit, baik dalam bentuk cair maupun kering (Mohanraj & Chen 2006).

METODE PEMBUATAN PARTIKEL NANO UNTUK HORMON

Partikel nano dapat dibuat dari berbagai bahan utama seperti protein, polisakarida dan polimer sintetis. Pemilihan komponen utama tergantung beberapa faktor diantaranya ukuran partikel nano, sifat hormon, karakteristik permukaan, tingkat biodegradasi, biokompatibilitas, toksisitas, kontrol pelepasan hormon dan antigenitas produk akhir (Kreuter 1994). Pembuatan partikel nano umumnya menggunakan empat metode yaitu: (1) Polimer terdispersi; (2) Polimerisasi monomer; (3) Gelasi ionik atau koaservasi polimer hidrofilik; dan (4) Fluida/pelarut super kritis (Mohanraj & Chen 2006).

Metode polimer terdispersi

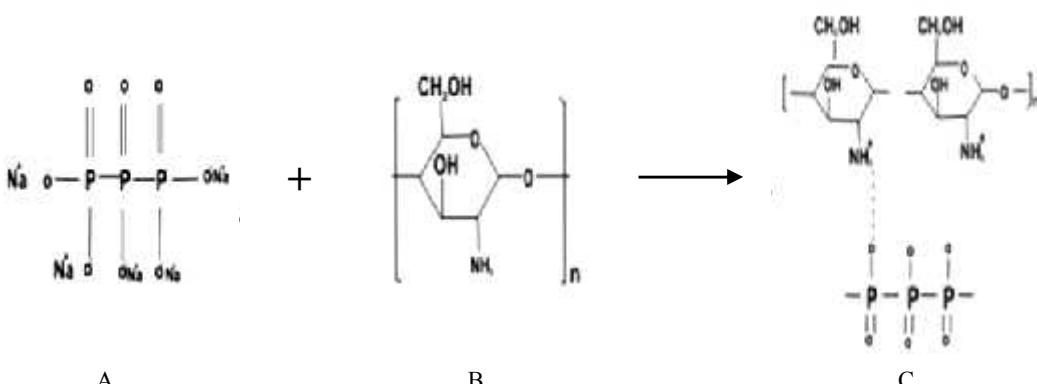
Metode umum yang digunakan untuk menyiapkan partikel nano yang ramah lingkungan antara lain dari *polylactic acid* (PLA), *polyD L-glycolide* (PLG), *polyD L-lactide-co-glycolide* (PLGA) dan *polyalcylyanoacrylate* (PACA) (Kompella et al. 2001; Li et al. 2001; Ravi et al. 2004). Metode ini dapat digunakan dalam berbagai cara yaitu: (1) Metode penguapan pelarut, dimana polimer dilarutkan dalam pelarut organik seperti *dichloromethane*, *chloroform* atau *ethyl acetate* yang juga digunakan sebagai pelarut hidrofobik. Campuran polimer dan larutan hormon kemudian diemulsi dalam larutan yang mengandung surfaktan untuk membentuk emulsi minyak dalam air. Setelah pembentukan emulsi stabil, pelarut organik diuapkan dengan mengurangi tekanan atau pengadukan secara terus menerus; dan (2) Metode emulsifikasi spontan, merupakan modifikasi dari metode sebelumnya, dimana pelarut bersama sejumlah kecil pelarut organik yang larut dalam air digunakan sebagai fase minyak. Difusi spontan dari pelarut menyebabkan turbulensi yang mengarah pada pembentukan partikel nano. Peningkatan konsentrasi air yang bercampur dengan pelarut akan menurunkan ukuran partikel (Mohanraj & Chen 2006).

Metode polimerisasi monomer

Metode ini menggunakan senyawa polialkilsianoakrilat (PACA). Metil atau etil sianoakrilat dimasukkan dalam media asam dengan penambahan surfaktan. Monomer sianoakrilat ditambahkan dalam campuran yang sedang diaduk dengan stirer magnetik. Hormon ditambahkan baik sebelum penambahan monomer maupun setelah reaksi polimerisasi. Suspensi partikel nano yang terbentuk dimurnikan dengan ultrasentrifugasi (Soppimath et al. 2001). Dalam metode ini, monomer yang dipolimerisasi untuk membentuk partikel nano berada dalam larutan berair. Hormon dilarutkan pada tahap pertengahan dari polimerisasi atau dengan absorpsi (penempelan) ke dalam partikel nano setelah polimerisasi selesai. Suspensi partikel nano kemudian dimurnikan untuk menghilangkan berbagai stabilisator dan surfaktan yang digunakan pada saat polimerisasi dengan cara ultra sentrifugasi dan menyimpannya dalam media surfaktan yang isotonik (Zhang et al. 2001). Pembentukan nanokapsul dan ukuran partikelnya tergantung dari konsentrasi surfaktan dan stabilisator yang digunakan (Puglisi et al. 1995).

Metode gelasi ionik atau koaservasi polimer hidrofilik

Metode ini tidak memerlukan surfaktan seperti metode polimerisasi monomer. Polimer yang digunakan dalam metode ini merupakan polimer larut air seperti chitosan, natrium alginat dan gelatin. Partikel nano umumnya terbentuk secara spontan ataupun dengan penambahan pengemulsi (Soppimath et al. 2001). Telah banyak penelitian yang memfokuskan pada penyusunan partikel nano menggunakan polimer hidrofilik seperti chitosan (Mao et al. 2001; Feng et al. 2009; Mallick et al. 2012), gelatin (Kommareddy & Amiji 2005; Ethirajan et al. 2008; Gaihre et al. 2009) dan alginat (Sarmiento et al. 2006; Finotelli et al. 2010; Martínez et al. 2011). Calvo et al. (1997) telah mengembangkan metode untuk mempersiapkan hidrofilik partikel nano chitosan dengan metode gelasi ionik. Metode ini melibatkan campuran dari dua fase yaitu chitosan polimer dan polianion natrium tripolifosfat. Dalam metode ini, gugus amino bermuatan positif dari chitosan berinteraksi dengan tripolifosfat bermuatan negatif untuk membentuk koaservasi berukuran nano (Gambar 1). Koaservasi terbentuk sebagai hasil interaksi elektrostatik antara dua fase, sedangkan gelasi ionik melibatkan bahan yang mengalami perubahan dari cair menjadi gel karena kondisi interaksi ionik pada suhu kamar.



A: Sodium tripolifosfat; B: Chitosan; C: Partikel nano chitosan

Gambar 1. Skema diagram struktur fungsional partikel nano chitosan yang terbentuk selama proses gelasi ionik

Sumber: Rather et al. (2013)

Metode fluida

Metode ini menggunakan senyawa yang memiliki suhu dan tekanan di atas titik kritis. Senyawa yang termasuk dalam golongan ini antara lain karbon dioksida, air dan gas metana. Senyawa ini digunakan sebagai pengganti pelarut organik yang berbahaya bagi lingkungan (Soppimath et al. 2001). Metode konvensional seperti ekstraksi-evaporasi pelarut, difusi pelarut dan metode pemisahan fase organik membutuhkan pelarut organik yang berbahaya bagi lingkungan tak terkecuali sistem fisiologis. Metode ini merupakan teknologi alternatif untuk membuat mikro dan partikel nano yang *biodegradable* dan ramah lingkungan. Metode ini secara umum dapat didefinisikan sebagai pelarut yang berada di atas suhu kritis, dimana cairan tetap pada satu fase dan terhindar dari tekanan. *Supercritical CO₂* (SC CO₂) merupakan fluida yang paling banyak digunakan karena tetap ringan dalam kondisi kritis ($T_c = 31,1^\circ\text{C}$, $P_c = 73,8$ bar), tidak beracun, tidak mudah terbakar dan harganya murah (Jung & Perrut 2001).

KARAKTERISTIK PARTIKEL NANO

Ukuran partikel

Ukuran partikel dan distribusi ukuran merupakan karakteristik yang paling penting pada sistem partikel nano. Ukuran partikel dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi penstabil, kecepatan homogenisasi dan konsentrasi polimer. Sedangkan untuk menghasilkan ukuran partikel yang kecil dapat menggunakan homogenisasi ultrasonik (Kwon et al. 2001). Ukuran partikel menentukan distribusi secara *in vivo*, toksitas dan kemampuan pencapaian target secara tepat waktu dan tepat sasaran. Selain itu, ukuran partikel dapat

mempengaruhi kapasitas dan pelepasan hormon serta stabilitas partikel nano. Panyam & Labhsetwar (2003) menunjukkan bahwa partikel nano ukuran submikron memiliki keunggulan dibandingkan dengan mikropartikel dalam pemberian hormon. Partikel nano memiliki serapan intraselular yang lebih tinggi dibandingkan dengan mikropartikel dan mencapai target biologis yang lebih luas, dikarenakan ukuran yang kecil dan mobilitas yang stabil. Desai et al. (1997) melaporkan bahwa 100 nm partikel nano memiliki daya serap 2,5 kali lebih besar dari 1 μm mikropartikel dan enam kali lebih besar dari 10 μm mikropartikel dalam sel kanker kolon (*Caco-2*).

Pelepasan hormon dipengaruhi oleh ukuran partikel, dimana partikel yang lebih kecil memiliki luas permukaan yang lebih besar, sedangkan, partikel yang lebih besar memiliki inti yang besar sehingga lebih banyak hormon yang akan dikemas dan pelepasan keluar secara perlahan. Partikel yang lebih kecil memiliki resiko agregasi partikel yang lebih besar selama penyimpanan dan transportasi partikel nano (Redhead et al. 2001).

Sifat permukaan partikel nano hormon

Pemberian partikel nano secara intravena, biasanya mudah dikenali oleh sistem kekebalan tubuh dan kemudian dibersihkan oleh fagosit melalui sirkulasi darah. Selain ukuran partikel nano, permukaan partikel nano yang hidrofobik menentukan jumlah partikel yang diserap oleh komponen darah, terutama protein yang disebut *opsonins* (Brigger et al. 2002). Pengikatan *opsonins* ke permukaan partikel nano disebut opsonisasi, bertindak sebagai jembatan antara partikel nano dan fagosit. Salah satu cara untuk meningkatkan keberhasilan partikel nano mencapai target utama yaitu dengan meminimalkan opsonisasi

dan memperpanjang sirkulasi partikel nano secara *in vivo*. Hal ini dapat dicapai dengan membuat lapisan permukaan partikel nano dengan surfaktan yang hidrofilik dan formulasi partikel nano dengan *copolymers biodegradable* yang hidrofilik seperti *polyethylene glycol*, *polyethylene oxide*, *polyoxamer*, *polyoxamine* dan *polysorbate 80* (Olivier 2005).

Muatan ion (listrik) permukaan merupakan parameter penting berkaitan dengan stabilitas suspensi dan adhesi partikel dengan permukaan biologis. Dalam mekanisme pembentukan partikel nano chitosan, dimana chitosan sebagai kelompok amina yang bermuatan positif dinetralkan oleh muatan negatif dari molekul tripolifosfat (Urrusuno et al. 1999). Gugus amina residu akan bertanggung jawab atas potensi positif, dimana semakin tinggi potensi zeta dalam rentang waktu tertentu menunjukkan partikel nano chitosan yang lebih stabil. Kelompok rantai amina yang panjang menghambat adsorpsi anion dan menunjukkan pencegahan agregasi (Wang et al. 2008). Potensi zeta dari partikel nano digunakan untuk mengkarakterisasi muatan ion permukaan dari partikel nano. Partikel nano dengan potensi zeta di atas (+/-) 30 mV telah terbukti stabil dalam suspensi dan mampu mencegah agregasi partikel.

Kapasitas muatan ion (listrik)

Keberhasilan sistem partikel nano idealnya harus memiliki kapasitas muatan ion yang tinggi sehingga mengurangi jumlah bahan yang dibutuhkan. Kapasitas muatan ion dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu memasukkan hormon bersamaan dengan pembentukan partikel nano (metode penggabungan) dan memasukkan hormon setelah pembentukan partikel nano dengan menginkubasi bahan pembawa di dalam larutan terkonsentrasi (adsorpsi/teknik penyerapan). Kapasitas muatan ion sangat tergantung pada kelarutan hormon di dalam polimer, komposisi polimer, berat molekul, interaksi polimer-hormon dan gugus fungsional (ester atau karboksil) (Panyam et al. 2004). Makromolekul atau protein menunjukkan kapasitas muatan ion yang efisien ketika berada pada titik isoelektrik dengan kelarutan minimal dan adsorpsi maksimum, sedangkan untuk mikromolekul, penggunaan interaksi ionik antara hormon dengan bahan partikel nano menjadi cara yang sangat efektif dalam meningkatkan kapasitas muatan ion (Calvo et al. 1997; Chen et al. 2003).

Pelepasan hormon

Untuk mengembangkan sistem partikel nano yang baik, pelepasan hormon dan polimer yang dapat mengalami biodegradasi merupakan faktor utama yang

perlu dipertimbangkan. Secara umum, tingkat pelepasan hormon yang diberikan tergantung pada: (1) Kelarutan hormon; (2) Daya inplasi hormon; (3) Difusi hormon melalui matriks partikel nano; (4) Proses erosi/degradasi matriks partikel nano; dan (5) Kombinasi proses erosi dan difusi. Jika proses difusi hormon lebih cepat dari erosi, mekanisme pelepasan sebagian besar dikontrol oleh proses difusi. Kejadian pelepasan hormon yang cepat terutama disebabkan oleh kurangnya daya inplasi hormon pada permukaan partikel nano (Magenheim et al. 1993). Hormon yang dimuat melalui metode penggabungan, memiliki efek pelepasan sedikit-sedikit secara berkelanjutan. Jika partikel nano dilapisi oleh polimer, pelepasan hormon secara difusi dari inti membran polimer. Lapisan membran bertindak sebagai penghalang, sehingga kelarutan dan difusi dalam membran menjadi faktor penentu dalam pelepasan hormon (Fresta et al. 1995).

Berbagai metode yang dapat digunakan untuk mempelajari pelepasan hormon secara *in vitro* adalah: (1) Difusi sel dengan membran buatan atau biologis; (2) Dialisis kantong difusi; (3) Agitasi diikuti oleh ultrasentrifugasi; dan (4) Ultrafiltrasi atau sentrifugal ultrafiltrasi. Metode yang umum dilakukan adalah kontrol agitasi yang diikuti dengan sentrifugasi, namun karena prosesnya membutuhkan waktu yang relatif lama dan adanya faktor kesulitan dalam pemisahan partikel nano dari media pelepasan, maka teknik dialisis lebih disukai (Mohanraj & Chen 2006).

Beberapa hasil penelitian aplikasi penggunaan partikel nano dalam pemanfaatan berbagai hormon berkaitan dengan metode dan komponen utama yang digunakan serta karakteristik partikel nanonya dapat dilihat pada Tabel 1.

PERANAN CHITOSAN SEBAGAI KOMPONEN UTAMA PEMBUATAN PARTIKEL NANO

Chitosan merupakan polimer alami dari sumber daya terbarukan, yang diperoleh dari cangkang kerang, kulit udang dan limbah industri makanan laut dengan struktur molekul menyerupai serat pada sayuran dan buah-buahan (Kim et al. 2008). Chitosan merupakan polisakarida kationik yang diperoleh dari deasetilasi chitin yang memiliki sifat unik seperti biokompatibilitas, biodegradabilitas, imunogenisitas yang rendah dan nontoksis serta melibatkan hidrolisis basa (Thanou et al. 2001). Chitosan dapat digunakan dalam persiapan partikel nano untuk implan hormon melalui parenteral, hidung, mata dan transdermal (Wang et al. 2007) dengan keuntungan harga murah, umur simpan panjang dan kapasitas tampung hormon yang besar (Janes et al. 2001).

Chitosan telah digunakan sebagai eksipien farmasi dalam formulasi hormon yang sukar larut dan untuk mendapatkan pelepasan hormon yang terkontrol

(Krauland et al. 2006). Chitosan juga memiliki potensi besar untuk sistem pengiriman hormon melalui hidung, memfasilitasi lewatnya molekul hidrofilik yang besar (seperti salmon kalsitonin dan insulin) melalui mukosa hidung dengan sirkulasi yang sistemik (Illum et al. 1994). Beberapa keuntungan chitosan dalam pengembangan partikel nano diantaranya: (1) Kemampuan untuk mengontrol pelepasan zat aktif; (2) Menghindari penggunaan pelarut organik berbahaya ketika partikel terlarut dalam larutan asam; (3) Poliamina linear berisi sejumlah kelompok amina bebas; (4) Sifat kationik yang memungkinkan untuk silang ionik dengan anion *multivalent*; (5) Memiliki karakter mukoadhesif yang meningkatkan waktu penyerapan; dan (6) Stabilitas yang baik (Wang et al. 2008; Lee et al. 2011).

PEMBERIAN PARTIKEL NANO HORMON MELALUI PENCIUMAN

Dalam beberapa tahun terakhir, aplikasi pemberian material hormon melalui hidung telah menjadi perhatian dikarenakan metodenya yang mudah dan dapat diandalkan. Pemberian hormon melalui hidung merupakan cara alternatif untuk menargetkan hormon langsung ke otak melalui syaraf penciuman (Westin et al. 2005). Faktor pembatas pemberian material melalui hidung adalah cairan mukosa hidung dan permeabilitasnya yang rendah sehingga membatasi penyerapan material. Namun, polimer bioadhesif dapat digunakan untuk meningkatkan waktu keberadaan material di hidung yang memungkinkan penyerapan lebih lama (Critchley et al. 1994). Chitosan partikel nano dapat mengikat dengan kuat bahan yang bermuatan negatif seperti permukaan sel dan cairan mukosa. Cairan mukosa mengandung mucin yang memiliki konstitusi kimia yang berbeda, namun beberapa mengandung proporsi yang signifikan dari asam *sialic*. Pada kondisi pH fisiologis, asam *sialic* membawa muatan negatif yang mengakibatkan interaksi elektrostatik yang kuat antara mucin dan chitosan dalam larutan (Soane et al. 1999).

Penggunaan chitosan tidak hanya untuk meningkatkan adhesi antara formulasi dan jaringan hidung, tetapi juga pada proses transportasi *paracellular* (Dodane et al. 1999). Studi immuno histologis menunjukkan bahwa chitosan dapat membuka hubungan antara sel-sel yang terlalu ketat melalui efek filamen factin. Chitosan tidak mengandung racun, lebih toleran, serta efek kombinasi bioadhesi dan transportasi *paracellular* menjadi bahan pertimbangan pemberian estradiol melalui rongga hidung (Wang et al. 2008).

APLIKASI PARTIKEL NANO DALAM PEMANFAATAN HORMON

Aplikasi nanoteknologi sudah berkembang sangat pesat dan digunakan dalam berbagai keperluan, namun aplikasinya dalam pemanfaatan hormon masih sangat terbatas, apalagi kaitannya dengan hormon reproduksi. Rather et al. (2013) menggunakan ukuran partikel chitosan dan chitosan *gold* partikel nano hormon LHRH sebesar $192,5 \pm 19,1$ dan $114 \pm 10,3$ nm. Kedua partikel memiliki struktur yang kompak berbentuk bola, tersebar merata dan stabil dengan *polydispersity index* 0,33-0,47 dan potensi zeta -33,14 hingga -34,95 mV (Tabel 1). Efisiensi penjetakan hormon LHRH dari chitosan partikel nano sebesar 69%, sedangkan chitosan *gold* partikel nano sebesar 60%. Selanjutnya mereka membandingkan antara ikan salmon betina yang di suntik secara intramuskular dengan chitosan hormon LHRH dosis 0,2 ml/kg bobot badan dan chitosan *gold* partikel nano hormon LHRH dosis 0,1 ml/kg bobot badan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa chitosan dan chitosan *gold* partikel nano hormon LHRH yang disuntikkan efektif melepaskan hormon secara berkelanjutan selama 24 jam. Lonjakan hormon LHRH mencapai puncaknya tujuh jam setelah penyuntikan dan menurun tajam setelahnya. Total telur yang dihasilkan 130 dan 67% lebih tinggi, telur yang dibuahi 17 dan 88% lebih tinggi dan tingkat fertilitasnya 13 dan 9% dibandingkan dengan kontrol pada masing-masing chitosan dan chitosan *gold* partikel nano hormon LHRH.

Wang et al. (2008) melakukan penelitian pada partikel nano chitosan hormon estradiol (E_2) yang bertujuan untuk meningkatkan bioavailabilitas E_2 dengan target sasaran pada otak dengan pemberian melalui mukosa hidung. Mereka membuat chitosan partikel nano E_2 dengan metode gelasi ionik chitosan menggunakan anion tripolifosfat (TPP) diperoleh ukuran partikel rata-rata $269,3 \pm 31,6$ nm, potensi zeta +25,4 mV, kapasitas muatan 1,9 mg/ml, rata-rata efisiensi pengikatan sebesar 64,7%. Selanjutnya, chitosan partikel nano E_2 diberikan kepada tikus jantan melalui intransal dan intravena dengan dosis 0,48 mg/kg. Kadar E_2 plasma darah dicapai setelah pemberian intransal ($32,7 \pm 10,1$ ng/ml) secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan pemberian intravena ($151,4 \pm 28,2$ ng/ml), sedangkan konsentrasi E_2 cairan pada cerebrospinal (cerebrospinal fluid/CSF) dicapai setelah pemberian intransal ($76,4 \pm 14$ ng/ml) secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian intravena ($29,5 \pm 7,4$ ng/ml). *Drug target index* (DTI) ketika

Tabel 1. Karakteristik partikel nano dan aplikasinya dalam pemanfaatan hormon

Hormon	Metode	Komponen utama	Ukuran partikel (nm)	Potensi zeta (mV)	PDI	Kapasitas muatan (mg/ml)	Efisiensi penjebakan (%)	Referensi
LHRH	Gelasi ionik	Chitosan	114,00±10,30	-33,14±6,67	0,335	-	69,00	Rather et al. (2013)
		Chitosan gold	192,50±19,10	-34,95±7,50	0,470	-	60,00	
Estradiol	Gelasi ionik	Chitosan	269,30±31,60	+25,40	-	1,90	64,70	Wang et al. (2008)
Estradiol	Penguapan pelarut	PLGA	186,00±10,00	-	0,127	-	55,20±1,00	Esmaeili et al. (2008)
Estradiol	Penguapan pelarut	EA/DMAB	116,00±2,60	-	-	-	-	Sahana et al. (2008)
		DCM: EA 70:30/DMAB	253,00±5,50	-	-	-	-	
		EA/PVA	279,30±2,50	-	-	-	-	
Insulin	Gelasi ionik	Chitosan	243,00±15,00	-	0,500	-	62,99±1,67	Ma et al. (2002)
Insulin	Penguapan pelarut	PNP	150,00±17,00	-	-	-	50,30±3,10	Cui et al. (2007)
		PHNP	169,00±16,00	-	-	-	65,41±2,30	

LHRH: *Luteinizing hormone releasing hormone*; PDI: *Polydispersity index*; DMAB: *Didodecyldimethyl ammonium bromide*; DCM: diklorometana; PVA: *Polivinil alcohol*; EA: Etil asetat; PNP: *Poly lactide-co-glycolide*; PHNP: *Poly lactide-co-glycolide-Hp55*; PLGA: *Poly lactide-co-glycolide*

berada di hidung sebesar 3,2 dengan persentase E₂ mencapai target sebesar 68,4%. Hasil ini menunjukkan bahwa E₂ dapat langsung diangkat dari rongga hidung ke dalam cairan CSF pada tikus. Partikel nano chitosan E₂ telah terbukti efektif dalam pengobatan berbagai penyakit seperti Hiperlipidemia (Mittal et al. 2007) dan Alzheimer (Wang et al. 2008).

Mittal et al. (2011) mengembangkan Tween 80 (T-80) yang dilapisi *poly(lactide-co-glycolide* (PLGA) dalam membentuk partikel nano E₂. Estradiol yang mengandung partikel nano dibuat dengan metode emulsifikasi spontan dan lapisan T-80 dicapai dengan menginkubasi ulang partikel nano pada konsentrasi T-80 yang berbeda. Partikel nano E₂ kemudian diuji coba pada tikus melalui pemberian secara oral. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi partikel nano E₂ yang dilapisi T-80 mengalami peningkatan dari 9,72±1,07 mg/ml menjadi 63,84±3,59 mg/ml pada peningkatan konsentrasi awal T-80 dari 1 menjadi 5% dengan kondisi yang stabil dalam cairan lambung dan usus. Pemberian partikel nano E₂ yang dilapisi T-80 secara oral mengakibatkan konsentrasi E₂ pada otak secara signifikan lebih tinggi setelah 24 jam dibandingkan dengan kontrol dan mencegah ekspresi amiloid beta-42 (Aβ42) pada otak.

Sahana et al. (2008) melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengoptimalkan ukuran partikel dan efisiensi pengikatan dari partikel nano E₂ dengan pelarut yang berbeda. Pembentukan partikel nano dengan metode penguapan pelarut menggunakan *didodecyldimethylammonium bromide* (DMAB) atau polivinil alkohol (PVA) sebagai stabilisator. Etil asetat (EA), aseton (ACE), kloroform (CHL), dan diklorometana (DCM) digunakan sebagai pelarut organik baik secara individu atau dalam kombinasi. DMAB bila digunakan sebagai surfaktan menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan dengan PVA terlepas dari pelarut organik yang digunakan. Di sisi lain, PVA menghasilkan partikel dengan efisiensi penjebakan yang lebih tinggi ketika menggunakan kombinasi pelarut organik. Kombinasi DCM dengan EA menghasilkan efisiensi penjebakan tertinggi pada kedua stabilisator. Bioavailabilitas dari partikel nano E₂ yang diberikan pada tikus dengan dosis 1 mg/ekor diperoleh bahwa EA/DMAB (ukuran partikel 116,0±2,6 nm) dan DCM:EA = 70:30/DMAB (ukuran partikel 253,0±5,5 nm) menunjukkan rilis E₂ selama sembilan dan lima hari, sedangkan EA/PVA (ukuran partikel 279,3±2,5 nm) dengan rilis E₂ selama tiga hari.

Cui et al. (2007) melakukan penelitian penggunaan *poly lactide-co-glycolide* partikel nano (PNP) dan *poly lactide-co-glycolide-Hp55* partikel nano (PHNP) sebagai pembawa hormon insulin dalam rangka mengurangi kadar glukosa pada serum. Pembentukan partikel nano dilakukan menggunakan metode penguapan pelarut. Ukuran partikel dari PNP dan

PHNP berturut-turut sebesar 150±17 dan 169±16 nm dengan *drug recovery* masing-masing sebesar 50,30±3,1 dan 65,41±2,3%. Pelepasan hormon insulin dari partikel nano dalam cairan lambung setelah satu jam berturut-turut sebesar 50,46±6,31 dan 19,77±3,15%. Bioavailabilitas dari PNP dan PHNP insulin dengan pemberian secara subkutan (dosis 1 IU/kg) pada tikus sebesar 3,68±0,29 dan 6,27±0,42%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan PHNP insulin merupakan metode yang efektif untuk mengurangi kadar glukosa pada serum.

KEKURANGAN DAN EFEK NEGATIF PARTIKEL NANO HORMON

Aplikasi nanoteknologi pada beberapa dekade ini berkembang sangat pesat dan digunakan dalam berbagai keperluan. Ukuran partikel yang kecil dengan efisiensi yang lebih tinggi merupakan alasan utama teknologi ini dikembangkan. Namun, ternyata tidak hanya efek positif yang dihasilkan tetapi juga kekurangan dan efek negatifnya. Partikel nano memiliki kekurangan, diantaranya sulit dalam penanganan dan penyimpanan karena mudah teragregasi, tidak cocok digunakan untuk hormon dosis tinggi, ukurannya yang kecil menyebabkan partikel nano mudah menembus membran inti sel sehingga menyebabkan mutasi genetik yang tidak diinginkan (Rawat et al. 2006).

Partikel nano dapat memasuki tubuh manusia melalui berbagai macam mekanisme. Kontak langsung partikel nano dapat membahayakan kesehatan manusia, antara lain dapat mengganggu jalannya transportasi substansi vital masuk dan keluar sel, sehingga dikhawatirkan efek jangka panjangnya dapat berakibat pada gangguan fisiologis dan fungsi sel secara normal. Partikel nano terlebih dahulu disimpan di dalam vesikel yang berada pada permukaan sel. Vesikel-vesikel kecil kemudian bergabung membentuk vesikel besar seperti badan multivesikular. Badan multivesikular ini kemudian bergabung dengan lisosom, dimana protein dan makromolekul lainnya dipecah oleh protease dan enzim lainnya. Partikel nano hormon yang terkandung di dalamnya dapat menyebar di dalam sel dan dapat keluar melalui jalur endosom (Iversen et al. 2011).

Efek samping dari paparan partikel nano tidak dapat dihindari. Paparan partikel nano dapat mempengaruhi saluran pencernaan bagian atas sebelum partikel mencapai paru-paru, lambung dan usus, tergantung dari ukuran, konsentrasi dan jenis partikel, serta lamanya kontak. Contohnya pada introduksi partikel nano secara oral atau penciuman, efek dari eksposisi partikel nano pada sel-sel mukosa rongga mulut dan hidung, ditandai dengan adanya peradangan dan alergi pada sel selaput lendir hidung (Aust et al. 2009). Walaupun sudah diuraikan kekurangan dan efek

negatif dari partikel nano, studi-studi yang lebih mendalam diperlukan untuk membuktikan dan menghambat efek-efek negatif yang mungkin terjadi.

KESIMPULAN

Secara umum pembentukan partikel nano hormon menggunakan polimer berhasil baik dengan distribusi massa molekul yang baik dan stabil, sehingga dapat digunakan sebagai komponen pembawa hormon dengan tetap mempertimbangkan adanya efek negatif. Partikel nano memiliki potensi yang besar sebagai komponen pembawa hormon karena kemampuannya dalam mempertahankan kinerja hormon melalui perlindungan stabilitas hormon dalam perjalanan dari fagosit dan berguna dalam pelepasan secara terkontrol dalam waktu lama di dalam tubuh, sehingga dapat mencapai organ target dengan baik. Walaupun demikian, perlu diingat bahwa partikel nano dapat masuk ke dalam tubuh organisme hidup dengan berbagai jalan. Di dalam tubuh, partikel nano dapat menyebar melalui ruang dalam sel dan masuk ke dalam inti sel. Oleh karena itu, gunakanlah bahan partikel nano dengan efek minimal pada kesehatan manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Aust W, Daum N, Bloching M, Armbrüster V, Jung E, Sprau C, Müller M, Boehm A, Mozet C, Wichmann G, Dietz A. 2009. Risk of nanoparticles? *Laryngo Rhino Otol.* 88:162-166.
- Bhadra D, Bhadra S, Jain P, Jain NK. 2002. Pegnology: A review of PEG-ylated systems. *Pharmazie.* 57:5-29.
- Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. 2002. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Adv Drug Deliv Rev.* 54:631-651.
- Calvo P, Remunan-Lopez C, Vila-Jato JL, Alonso MJ. 1997. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *J Appl Polymer Sci.* 63:125-132.
- Chen Y, Mohanraj VJ, Parkin JE. 2003. Chitosan-dextran sulfate nanoparticles for delivery of an anti-angiogenesis peptide. *Lett Pept Sci.* 10:621-629.
- Critchley H, Davis SS, Farraj NF, Illum L. 1994. Nasal absorption of desmopressin in rats and sheep. Effect of a bioadhesive microsphere delivery system. *J Pharm Pharmacol.* 46:651-656.
- Cui FD, Tao AJ, Cun DM, Zhang LQ, Shi K. 2007. Preparation of insulin loaded PLGA-Hp55 nanoparticles for oral delivery. *J Pharm Sci.* 96:421-427.
- Desai MP, Labhasetwar V, Walter E, Levy RJ, Amidon GL. 1997. The mechanism of uptake of biodegradable microparticles in *Caco-2* cells is size dependent. *Pharm Res.* 14:1568-1573.
- Dodane V, Khan MA, Merwin JR. 1999. Effect of chitosan on epithelial permeability and structure. *Int J Pharm.* 182:21-32.
- Esmaeili F, Atyabi F, Dinarvand R. 2008. Preparation and characterization of estradiol-loaded PLGA nanoparticles using homogenization-solvent diffusion method. *DARU.* 16:196-202.
- Ethirajan A, Schoeller K, Musyanovych A, Ziener U, Landfester K. 2008. Synthesis and optimization of gelatin nanoparticles using the miniemulsion process. *Biomacromolecules.* 9:2383-2389.
- Feng D, Wang F, Chen Z. 2009. Electrochemical glucose sensor based on one-step construction of gold nanoparticle-chitosan composite film. *Sensors Actuators B: Chem.* 138:539-544.
- Finotelli PV, Da Silva D, Sola-Penna M, Rossi AM, Farina M, Andrade LR, Takeuchi AY, Rocha-Leão MH. 2010. Microcapsules of alginate/chitosan containing magnetic nanoparticles for controlled release of insulin. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 81:206-211.
- Fresta M, Puglisi G, Giannonna G, Cavallaro G, Micali N, Furneri PM. 1995. Pefloxacin mesilate and ofloxacin-loaded polyethylcyanoacrylate nanoparticles: Characterization of the colloidal drug carrier formulation. *J Pharm Sci.* 84:895-902.
- Gaihre B, Khil MS, Lee DR, Kim HY. 2009. Gelatin-coated magnetic iron oxide nanoparticles as carrier system: Drug loading and in vitro drug release study. *Int J Pharm.* 365:180-189.
- Illum L, Farraj NF, Davis S. 1994. Chitosan as a novel nasal delivery system for peptide drugs. *Pharm Res.* 11:1186-1189.
- Iversen TG, Skotland T, Sandvig K. 2011. Endocytosis and intracellular transport of nanoparticles: Present knowledge and need for future studies. *Nano Today.* 6:176-185.
- Janes KA, Calvo P, Alonso MJ. 2001. Polysaccharide colloidal particles as delivery systems for macromolecules. *Adv Drug Deliv Rev.* 47:83-97.
- Jung J, Perrut M. 2001. Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey. *J Supercrit Fluids.* 20:179-219.
- Kim IY, Seo SJ, Moon HS, Yoo MK, Park IY, Kim BC, Cho CS. 2008. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. *Biotechnol Adv.* 26:1-21.
- Kommareddy S, Amiji M. 2005. Preparation and evaluation of thiol-modified gelatin nanoparticles for intracellular DNA delivery in response to glutathione. *Bioconjug Chem.* 16:1423-1432.
- Kommareddy S, Tiwari SB, Amiji MM. 2005. Long-circulating polymeric nanovectors for tumor-selective gene delivery. *Technol Cancer Res Treat.* 4:615-625.
- Kompella UB, Bandi N, Ayala-Somayajula SP. 2001. Poly (lactic acid) nanoparticles for sustained release of budesonide. *Drug Dev Deliv.* 1:28-34.

- Krauland AH, Guggi D, Bernkop-Schnürch A. 2006. Thiolated chitosan microparticles: A vehicle for nasal peptide drug delivery. *Int J Pharm.* 307:270-277.
- Kreuter J. 1994. Nanoparticles. In: Kreuter J, editor. *Colloidal drug delivery systems.* New York (US): Marcel Dekker. p. 219-342.
- Kwon HY, Lee JY, Choi SW, Jang Y, Kim JH. 2001. Preparation of PLGA nanoparticles containing estrogen by emulsification-diffusion method. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp.* 182:123-130.
- Lee SJ, Koo H, Jeong H, Huh MS, Choi Y, Jeong SY, Byun Y, Choi K, Kim K, Kwon IC. 2011. Comparative study of photosensitizer loaded and conjugated glycol chitosan nanoparticles for cancer therapy. *J Control Release.* 152:21-29.
- Li YP, Pei YY, Zhou ZH, Zhang XY, Gu ZH, Ding J, Zhou JJ, Gao XJ. 2001. PEGylated polycyanoacrylate nanoparticles as tumor necrosis factor-alpha carriers. *J Control Release.* 71:287-96.
- Ma Z, Yeoh HH, Lim L-Y. 2002. Formulation pH modulates the interaction of insulin with chitosan nanoparticles. *J Pharm Sci.* 91:1396-1404.
- Magenheim B, Levy MY, Benita S. 1993. A new *in vitro* technique for the evaluation of drug release profile from colloidal carriers-ultrafiltration technique at low pressure. *Int J Pharm.* 94:115-123.
- Mallick S, Sharma S, Banerjee M, Ghosh SS, Chattopadhyay A, Paul A. 2012. Iodine-stabilized Cu nanoparticle chitosan composite for antibacterial applications. *ACS Appl Mater Interfaces.* 4:1313-1323.
- Mao HQ, Roy K, Troung-Le VL, Janes KA., Lin KY, Wang Y, August JT, Leong KW. 2001. Chitosan-DNA nanoparticles as gene carriers: Synthesis, characterization and transfection efficiency. *J Control Release.* 70:399-421.
- Martinez A, Iglesias I, Lozano R, Teijón JM, Blanco MD. 2011. Synthesis and characterization of thiolated alginate-albumin nanoparticles stabilized by disulfide bonds. Evaluation as drug delivery systems. *Carbohydrate Polymers.* 83:1311-1321.
- Mittal G, Carswell H, Brett R, Currie S, Kumar MNVR. 2011. Development and evaluation of polymer nanoparticles for oral delivery of estradiol to rat brain in a model of Alzheimer's pathology. *J Control Release.* 150:220-228.
- Mittal G, Sahana DK, Bhardwaj V. 2007. Estradiol loaded PLGA nanoparticles for oral administration: Effect of polymer molecular weight and copolymer composition on release behavior *in vitro* and *in vivo*. *J Control Release.* 11:977-985.
- Mohanraj V, Chen Y. 2006. Nanoparticles-A review. *Trop J Pharm Res.* 5:561-573.
- Olivier J-C. 2005. Drug transport to brain with targeted nanoparticles. *NeuroRx.* 2:108-119.
- Panyam J, Labhasetwar V. 2003. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Adv Drug Deliv Rev.* 55:329-347.
- Panyam J, Williams D, Dash A, Leslie-Pelecky D, Labhasetwar V. 2004. Solid-state solubility influences encapsulation and release of hydrophobic drugs from PLGA/PLA nanoparticles. *J Pharm Sci.* 93:1804-1814.
- Puglisi G, Fresta M, Giannonna G, Ventura CA. 1995. Influence of the preparation conditions on poly (ethylcyanoacrylate) nanocapsule formation. *Int J Pharm.* 125:283-287.
- Rather MA, Sharma R, Gupta S, Ferosekhan S, Ramya VL, Jadho SB. 2013. Chitosan-nanoconjugated hormone nanoparticles for sustained surge of gonadotropins and enhanced reproductive output in female fish. *PLoS One.* 8:1-10.
- Ravi MN, Bakowsky U, Lehr CM. 2004. Preparation and characterization of cationic PLGA nanospheres as DNA carriers. *Biomaterials.* 25:1771-1777.
- Rawat M, Singh D, Saraf S, Saraf S. 2006. Nanocarriers: promising vehicle for bioactive drugs. *Biol Pharm Bull.* 29:1790-1798.
- Redhead HM, Davis SS, Illum L. 2001. Drug delivery in poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles surface modified with poloxamer 407 and poloxamine 908: *In vitro* characterisation and *in vivo* evaluation. *J Control Release.* 70:353-363.
- Sahana DK, Mittal G, Bhardwaj V, Kumar MNVR. 2008. PLGA nanoparticles for oral delivery of hydrophobic drugs: Influence of organic solvent on nanoparticle formation and release behavior *in vitro* and *in vivo* using estradiol as a model drug. *J Pharm Sci.* 97:1530-1542.
- Sarmento B, Ferreira D, Veiga F, Ribeiro A. 2006. Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. *Carbohydr Polym.* 66:1-7.
- Soane R, Frier M, Perkins A, Jones N, Davis S, Illum L. 1999. Evaluation of the clearance characteristics of bioadhesive systems in humans. *Int J Pharm.* 178:55-65.
- Soppimath KS, Aminabhavi TM, Kulkarni AR, Rudzinski WE. 2001. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *J Control release.* 70:1-20.
- Thanou M, Verhoe JC, Junginger HE. 2001. Chitosan and its derivatives as intestinal absorption enhancers q. *Adv Drug Deliv Rev.* 50:91-101.
- Urrusuno RF, Romani D, Calvo P. 1999. Development of a freeze-dried formulation of insulin-loaded chitosan nanoparticles intended for nasal administration. *STP Pharma Sci.* 5:429-436.

- Vila A, Sánchez A, Tobío M, Calvo P, Alonso MJ. 2002. Design of biodegradable particles for protein delivery. *J Control Release.* 78:15-24.
- Wang C, Fu X, Yang LS. 2007. Water-soluble chitosan nanoparticles as a novel carrier system for protein delivery. *Chinese Sci Bull.* 52:883-889.
- Wang X, Chi N, Tang X. 2008. Preparation of estradiol chitosan nanoparticles for improving nasal absorption and brain targeting. *Eur J Pharm Biopharm.* 70:735-740.
- Westin U, Piras E, Jansson B, Bergström U, Dahlin M, Brittebo E, Björk E. 2005. Transfer of morphine along the olfactory pathway to the central nervous system after nasal administration to rodents. *Eur J Pharm Sci.* 24:565-573.
- Zhang Q, Shen Z, Nagai T. 2001. Prolonged hypoglycemic effect of insulin-loaded polybutylcyanoacrylate nanoparticles after pulmonary administration to normal rats. *Int J Pharm.* 218:75-80.
- Zohar Y, Mylonas CC. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture.* 197:99-136.